

Identificação de cluster gênicos biossintéticos nas linhagens de *Streptomyces* MPUR-28.3 e MPUR-51.7

Souza, Rafael Pinto¹; Costa, Denise Xavier¹; Lopes, Eraldo Ferreira²; Queiroz, Claudia Afras³; Yamagishi, Michel Eduardo Beleza³; Silva, Gilvan Ferreira³

¹Universidade Federal do Amazonas; ²Instituto de Saúde e Biotecnologia; ³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Amazonas
E-mails: rsouzabiotec@gmail.com; gilvan.silva@embrapa.br

Resumo

Em virtude da resistência dos patógenos aos fármacos e as inúmeras doenças sem tratamentos, têm-se buscado novas moléculas, sendo os microrganismos uma importante fonte. Os *Streptomyces* spp. são responsáveis por cerca de 70% das moléculas com atividade biológica diversa, tais como, antitumorais, antiparasitários, antifúngicos e antimicrobianos. As análises *in silico* de genomas completos por ferramentas de bioinformática tem facilitado a prospecção de produtos naturais pela descoberta de novas vias para produção de moléculas conhecidas como "*biosynthetic gene clusters*" (BGC's). O objetivo deste trabalho foi identificar BGC's em dois isolados de *Streptomyces* sp. obtidos de sedimentos do rio Purus. Foram selecionadas as linhagens MPUR-28.3 e MPUR-51.7 e a identificação dos BGC's foi realizada com auxílio da ferramenta *antiSMASH*. Desta forma, foram identificados para MPUR-28.3 39 BGC's, sendo majoritariamente 14 "*clusters*" para "*non-ribosomal peptide synthase*" (NRPS), 6 "*polyketide synthases*" (PKS). Para MPUR-51.7 foram identificados 45 BGC's, destes, 13 "*clusters*" para NRPS, 9 PKS. Foram identificados *clusters* que apresentaram 100% de similaridade com vias de biossíntese já caracterizadas e funções conhecidas, estes são responsáveis pela biosíntese de *antimicin*, *albaflavone*, *desferrioxamin B*, *ectoine*, *geosmin*, *SGR polycyclic tetramate macrolactams (PTMs)* e *naringenin*. Ademais, os dados indicam que mais de 80% dos BGC's estão relacionados a vias de biossíntese ainda não reportadas na literatura, indicando que estas linhagens podem produzir novas moléculas. Portanto, por meio da mineração genômica foi possível identificar em ambos os isolados biomoléculas com ampla atividade biológica, destacando-se as anticancerígenas, antifúngicas, antibacterianas, antioxidantes, as quais são de importância industrial, agrícola, ambiental, médica, veterinária e de alimentos.

Palavras-Chave: Bioinformática; Biomoléculas; Biotecnologia

Introdução

A Amazônia é conhecida mundialmente por sua floresta, rios e lagos (Val

et al. 2021). A biodiversidade da Amazônia é um dos patrimônios mais importantes no Brasil, pois possui ao menos 15% da biota mundial e maior sistema fluvial do mundo. Ademais, abriga milhares de espécies produtoras de moléculas ainda desconhecidas (Valli et al. 2018).

Atualmente a humanidade sofre com o desenvolvimento da resistência dos microrganismos aos fármacos, principalmente de ação antibacteriana, além da existência de inúmeras doenças sem tratamentos, sendo necessário a identificação de novas biomoléculas com capacidade de tratá-las. Embora muitos patógenos multirresistentes sejam bactérias, a solução para o problema também pode ser encontrada nos microrganismos, dada a grande diversidade destes, eles são também uma das principais fontes para a descobertas de novas biomoléculas (Abadi et al. 2019).

Entre os microrganismos, bactérias do gênero *Streptomyces* (Filo Actinobacteria) são consideradas o grupo mais importante em termos da produção de metabólitos secundários. Muitas espécies de *Streptomyces* embora tenham genomas 3 ou 4 vezes menor que os fungos são capazes de realizar a síntese de maior número de moléculas. Estima-se que cerca de 35 mil antibióticos produzidos por actinobactérias, 70% são oriundos de *Streptomyces* spp. (Gohain et al. 2020). Além de antibióticos os metabólitos produzidos apresentam ampla atividade biológica, como: antitumorais, antiparasitários, antifúngicos e inseticidas, podendo ser aplicados na agricultura, indústria farmacêutica e cosmética entre outras (Rodrigues et al. 2006; Procópio et al. 2012; Terra et al. 2021).

A partir do sequenciamento do genoma completo dos microrganismos, as análises *in silico*, utilizando ferramentas de bioinformática, possibilitam a identificação de diversas vias metabólicas conhecidas na literatura internacional como "*biosynthetic gene clusters*" (BGC's). A identificação do potencial para produção de metabólitos secundários com bioatividade a partir do genoma tem revolucionado a prospecção de produtos naturais de origem microbiana (Zhao et al. 2020).

Os metabólitos secundários são produzidos por uma lógica biossintética, onde as enzimas envolvidas no processo são codificadas em genes espacialmente próximos aos genomas. Esses genes responsáveis pela formação do esqueleto principal da molécula conhecidos como gene "*core*" e

estão distribuídos em diferentes classes químicas, como as *polyketide synthases* (PKS), *nonribosomal peptide-synthetase* (NRPS) e *ribosomally synthesised and post-translationally modified peptides* (RiPPs). Além dos genes relacionados à biossíntese os BGC's também podem conter genes relacionados ao transporte e fatores de transcrição, bem como genes adicionais, que codificam enzimas que atuam na incorporação de grupos funcionais no esqueleto principal da molécula, tais como: metiltransferases, redutases, halogenases e mono-oxigenases (Rutledge e Challis 2015; Herbst et al. 2018).

O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial biotecnológico através da identificação dos *biosynthetic gene clusters* em duas linhagens *Streptomyces* MPUR-28.3 e MPUR-51.7 isolados sedimentos do rio Purus, Amazonas.

Material e Métodos

As duas amostras de *Streptomyces* sp. MPUR-28.3 e MPUR-51.7, utilizadas neste estudo foram isoladas de sedimentos do rio Purus, Amazonas. As amostras pertencem a coleção de microrganismos da Embrapa Amazônia Ocidental. O acesso ao patrimônio genético foi autorizado pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) nº AB6B14F.

As análises *in silico* foram realizadas com base no genoma completo. Para tanto, o sequenciamento foi realizado na plataforma *Illumina - HiSeqX - PE 150 cycle*, com *read length* (comprimento de leitura) de 2 x 150 (*Paired End*), com cobertura estimada 100x.

A identificação dos BGC's, assim como a determinação das classes das moléculas e as suas funções foram realizadas com auxílio de ferramentas *online* de mineração genômica: <<https://antismash.secondarymetabolites.org>>, em inglês, *Antibiotics and Secondary Metabolites Analysis Shell (antiSMASH bacterial version 7.0)*. A ferramenta possibilita identificar o potencial biotecnológico dos “*clusters*” com base em 70 classes de moléculas disponíveis no banco de dados. Cada BGC's foi classificado conforme o tipo de produto natural codificado dentro do grupo de gene (Medema et al. 2011; Blin et al. 2021).

Resultados e Discussão

Por meio da análise do genoma completo pela plataforma *antiSMASH* foram identificados 39 BGC's para o isolado MPUR-28.3 e 45 BGC's para o isolado MPUR- 51.7. No isolado MPUR-28.3 foram identificados 14 “clusters” relacionados com vias de síntese de NRPS (36%), 6 PKS, sendo 4 T1PKS (10%), 1 T2PKS (3%) e 1 T3PKS (3%), 5 *Terpene* (13%), 4 *Hybrid* (10%), 4 RiPP (10%), 2 *Siderophore* (5%), 1 *Ectoine* (3%), 2 *Lanthipeptide* (5%), 1 *Lap* (3%), como apresentado na figura 1a.

A linhagem MPUR-51.7 apresentou maior número de BGC's, destes 13 “clusters” estão relacionados com vias de síntese de NRPS (29%), 9 PKS, sendo 7 T1PKS (10%), 1 T2PKS (2%) e 1 T3PKS (2%), 5 *Terpene* (11%), 5 *Hybrid* (11%), 4 RiPP (9%), 3 *Siderophore* (7%), 1 *Ectoine* (2%), 1 *Lanthipeptide* (2%), 1 *Lap* (2%), 1 *Lasso peptide* (2%), 1 RRE (2%), como apresentado na figura 1b.

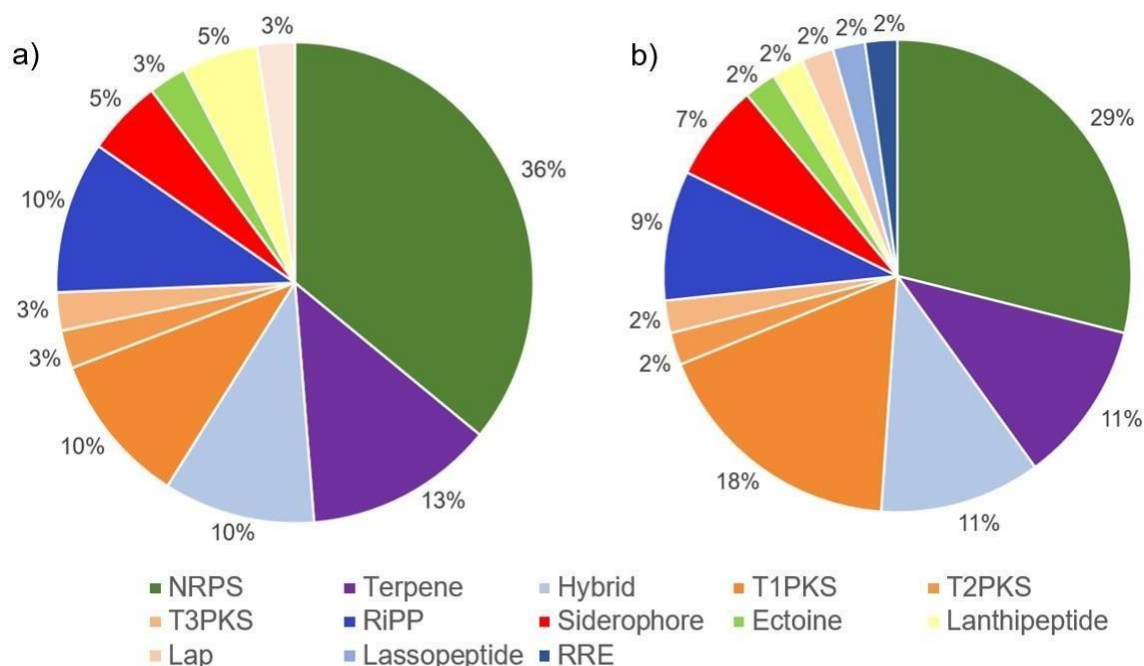


Figura 1. Distribuição das classes de BGC's preditos por *antiSMASH* nos genomas dos isolados MPUR-28.3 (a) e MPUR-51.7 (b). A similaridade baseia-se na correspondência das vias de biossíntese já caracterizadas e disponíveis em bancos de dados. Os BGC's *hybrids* são compostos por genes pertencentes a mais de uma classe, nestas linhagens, são majoritariamente constituídos por NRPS e PKS. *Non-ribosomal peptide synthase* (NRPS); *polyketide synthases* (PKS) tipo 1, 2 e 3; *post- translationally modified peptide product* (Ripp); *linear azol(in)e-containing peptides* (Lap); RRE-*element containing cluster* (RRE).

Importante destacar que dos 39 BGC's preditos para o isolado MPUR-28.3 e dos 45 BGC's preditos para o isolado MPUR-51.7, respectivamente 15 (38%) e 19 (42%) “clusters” não possuem similaridades com os disponíveis em bancos de dados. Logo, 24 (62%) e 26 (58%) possuem similaridades com os

disponíveis em bancos de dados, sendo que, destes últimos apenas 7 (29%) e 6 (13%) apresentam 100% de similaridade com “clusters” biossintéticos com funções já determinadas (tabela 1) e os demais “clusters” possuem similaridade variando de 5 a 80%.

Segundo Álvarez-Álvarez (2015), “clusters” gênicos biossintéticos que codificam novos produtos bioativos são de grande importância industrial, ambiental e agrícola. Com base na alta similaridade de alguns “clusters” com ortólogos disponíveis em bancos de dados podemos prever diversas biomoléculas, que em sua maioria podem estar silenciadas em condições de laboratório ou não são expressas devido à ausência das condições mínimas necessárias, seja nutricional, fisiológicos ou em resposta a elicitores.

Tabela 1. Produtos preditos pelo *antiSMASH* nos genomas dos isolados de *Streptomyces* MPUR-28.3 e MPUR-51.7.

BGC's	MPUR-28.3	MPUR-51.7
<i>Antimycin</i>	+	+
<i>Albaflavenone</i>	+	+
<i>Desferrioxamin B</i>	+	-
<i>Ectoine</i>	+	+
<i>Geosmin</i>	+	+
<i>SGR PTMs</i>	+	+
<i>Naringenin</i>	+	+

Obs.: (+) 100% de similaridade; (-) similaridade menor que 100%.

Os primeiros estudos com o antibiótico *antimycin* (ANT) datam 1960, este é sintetizado por microrganismos do gênero de *Streptomyces* sp. (Tappel 1960), porém a descoberta do agrupamento de genes que codifica a biossíntese da antimicina foi em 2011, é um notável metabólito secundário híbrido, composto pelas classes NRPS e PKS, constituindo uma ampla família de produtos naturais com 44 compostos distintos (Yan et al. 2012; Wenhao et al. 2022).

Segundo Tzung et al. (2001), Seipke e Hutchings (2013), Wenhao et al. (2022) a antimicina A tem como modo de ação a inibição do citocromo C redutase na cadeia de transporte de elétrons. Ela interrompe a respiração mitocondrial e esgota os níveis celulares de ATP, logo, é amplamente utilizada como piscicida na indústria de criação de bagres. Também possui potente atividade contra insetos, ácaros, nematóides, fungo, fitopatógenos. Mais recentemente tem

atraído a atenção como um inibidor potente e seletivo das proteínas antiapoptóticas mitocondriais Bcl-2 e Bcl-xL as quais são super produzida em células cancerígenas que são resistentes a agentes quimioterápicos indutores de apoptose, de modo que as antimicinas têm grande potencial como drogas anticancerígenas usadas em combinação com quimioterápicos existentes.

A *albaflavone*, pertence à classe dos terpenos, é um antibiótico sesquiterpênico tricíclico, é biossintetizada por diversas espécies de bactérias do gênero *Streptomyces* (Moody et al. 2012).

De acordo Zheng et al. (2016) foi possível avaliar a atividade citotóxica de dois compostos contra quatro linhagens de células tumorais humanas, BGC-823, HCT116, HeLa e HepG2. Ambos os compostos, mesmo que em baixas concentrações, mostraram citotoxicidade contra quatro linhagens de células tumorais humanas.

A *desferrioxamin B*, é um importante produto natural pertencente a uma ampla família de desferrioxaminas. É um sideróforos hidroxamato não peptídico, sua expressão é regulada pelo ferro, as quais também atuam no transporte de ferro. As principais espécies responsáveis pela síntese desses compostos pertencem aos gêneros *Streptomyces*, *Nocardia* e *Micromonospora* (Keberle 1964; Schupp et al. 1987; Arulprakasam e Dharumadurai 2021).

Segundo Barona-Gómez et al. (2004), Chiani et al. (2010) a *desferrioxamin B* tem sido usada clinicamente para o tratamento da sobrecarga de ferro em humanos. Devido a várias condições, tais como sobrecarga de ferro transfusional em pacientes com talassemia ou anemias sideroblásticas. Essa molécula é comercializada como Desferal. Além dessa função, considerável atenção tem sido dedicada devido à importância nutricional, regulação genética, fator de virulência e função de absorção dessas moléculas. Compreender esses processos, pode facilitar o desenvolvimento de potenciais novas biomoléculas, tais como agentes antibacterianos.

Moléculas da classe das *ectoine*, são capazes de proteger enzimas, membranas e células inteiras contra estresses hiperosmótico causados por exposição ao sal, aquecimento, congelamento e dessecação. Atualmente, também é usada como hidratante em cosméticos e produtos para cuidados com a pele (Lippert e Galinski 1992; Motitschke et al. 2000), o que a torna um importante e crescente produto para diversas aplicações biotecnológicas.

Segundo Cánovas et al. (1989), Prabhu et al. (2004) o derivado hidroxila da ectoína, o hidroxiectoína, tem atuado como um agente protetor de proteínas que, em várias aplicações, possui propriedades superiores às da ectoína. Complementarmente Sheikhpour et al. (2019) realizou um estudo *in vitro* apoptótico em células de câncer de pulmão que obtiveram pela primeira vez que tanto a ectoína e hidroxiectoína inibiram o rápido e irregular crescimento das células cancerígenas.

O terpeno *geosmin* é um metabólito volátil responsável pelo cheiro característico do solo úmido, da terra recém-arada, bem como, pelos sabores desagradáveis na água potável e nos alimentos (Jiang et al. 2007). Ela é produzida por vários microrganismos, incluindo a maioria de espécies de *Streptomyces* e algumas espécies de cianobactérias e fungos. A detecção e eliminação deste metabólito é de considerável importância econômica devido à sua associação com mofo ou sabores indesejados na água potável, vinho, peixe entre outros alimentos (Gerberh e Lechevalier 1965; La Guerche et al. 2005).

Os SGR *Polycyclic Tetramate Macrolactams* (PTMs) são uma classe amplamente distribuída de produtos naturais com importantes atividades biológicas, como propriedades antifúngicas, antibióticas e antioxidantes (Luo et al. 2013).

A *naringenin*, intermediário precursor de diferentes tipos de flavonoides, logo é um importante antioxidante por atuar como agente anti-inflamatório, quimioprotetor e antitumoral. Além dessa grande importância nas indústrias farmacêutica, também é empregado na indústria alimentícia e cosmética, sendo sintetizado naturalmente em fungos, plantas, mas são raros em actinomicetos, (Álvarez-Álvarez et al. 2015; Shrestha et al. 2021).

De acordo com Dung e Thuan (2021) a naringenina pode ser um medicamento promissor para reduzir os níveis plasmáticos de lipídios, lipoproteínas, colesterol total e LDL-colesterol, contribuindo positivamente para saúde de pacientes com hipertensão, dislipidemia e infarto do miocárdio.

Conclusões

As análises *in silico* dos isolados MPUR-28.3 e MPUR-51.7, por meio da plataforma *antiSMASH* identificou biomoléculas com amplas atividades. Destacando-se as atividades anticancerígenas, antifúngicas, antibacterianas,

antioxidantes, as quais são de importância industrial, agrícola, ambiental, médica, veterinária e de alimentos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPEAM pelo suporte financeiro, CNPq, CAPES- Procad, CAPES-Amazônia Legal.

Referências

Abadi, A.T.B; Rizvanov, A.; Haertlé, T.; Blatt, N.L. 2019. World Health Organization Report: Current crisis of antibiotic resistance. *BioNanoScience* 9: 778-788.

Álvarez-Álvarez, R.; Botas, A.; Albillos, S.M.; Rumbero, A.; Martín, J.F.; Liras, P. 2015. Molecular genetics of naringenin biosynthesis, a typical plant secondary metabolite produced by *Streptomyces clavuligerus*. *Microbial Cell Factories* 9: 178.

Arulprakasam, K.R.; Dharumadurai, D. 2021. Genome mining of biosynthetic gene clusters intended for secondary metabolites conservation in actinobacteria. *Microbial Pathogenesis* 161: 105252.

Barona-Gómez, F.; Wong, U.; Giannakopoulos, A.E.; Derrick, P.J.; Challis, G.L. 2004. Identification of a cluster of genes that directs desferrioxamine biosynthesis in *Streptomyces coelicolor* M145. *Journal of the American Chemical Society* 126: 16282-16283.

Blin, K.; Shaw, S.; Kloosterman, A.M.; Charlop-Powers, Z.; Van-Wezel, G.P.; Medema, M.H.; et al. 2021. antiSMASH 6.0: improving cluster detection and comparison capabilities. *Nucleic Acids Research* 2: 29-35.

Cánovas, D.; Borges, N.; Vargas, C.; Ventosa, A.; Nieto, J.J.; Santos, H. 1989. Role of γ - acetyldiaminobutyrate as an enzyme stabilizer and an intermediate in the biosynthesis of hydroxyectoine. *ASM Journals: Applied and Environmental Microbiology* 65: 3774-3779.

Chiani, M.; Akbarzadeh, A.; Farhangi, A.; Mehrabi, M.R. 2010. Production of desferrioxamine B (Desferal) using corn steep liquor in *Streptomyces pilosus*. *Pakistan Journal of Biological Science* 13: 1151-1155.

Ding, W.; Tu, J.; Zhang, H.; Wei, X.; Ju, J.; Li, Q. 2021. Genome mining and metabolic profiling uncover polycyclic tetramate macrolactams from *Streptomyces koyangensis* SCSIO 5802. *Marine Drugs* 19: 440.

Dung, N.A.; Thuan, N.T. 2021. Naringenin: a potential bioactive compound and pathways of biosynthesis - a review. *Thu Dau Mot University: Journal of Science* 3: 13-20.

Gerber, N.N.; Lechevalier, H.A. 1965. Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from actinomycetes. *ASM Journals: Applied Microbiology* 13: 935-938.

Gohain, A.; Manpoong, C.; Saikia, R.; Mandal, S. 2020. Actinobacteria: diversity and biotechnological applications. *Recent Advancements in Microbial Diversity*. Academic Press, United Kingdom. 217-231.

Herbst, D.A.; Townsend, C.A.; Maier, T. 2018. The architectures of iterative type I PKS and FAS. *Natural Product Reports* 35: 1046-1069.

Jiang, J.; He, X.; Cane, D.E. 2007. Biosynthesis of the earthy odorant geosmin by a bifunctional *Streptomyces coelicolor* enzyme. *Nature Chemical Biology* 3: 711-715.

Keberle, H. 1964. The Biochemistry of desferrioxamine and its relation to iron metabolism. *Annals of the New York Academy of Sciences* 119: 758-768.

La-Guerche, S.; Chamont, S.; Blancard, D.; Dubourdieu, D.; Darriet, P. 2005. Origin of (-)-Geosmin on Grapes: on the complementary action of two fungi, *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 88: 131-139.

Lippert, K.; Galinski, E. 1992. Enzyme stabilization by ectoine-type compatible solutes: protection against heating, freezing and drying. *Applied Microbiology and Biotechnology* 37: 61-65.

Luo, Y.; Huang, H.; Liang, J.; Wang, M.; Lu, L.; Shao, Z.; et al. 2013. Activation and characterization of a cryptic polycyclic tetramate macrolactam biosynthetic gene cluster. *Nature Communications* 4: 2894.

Medema, M.H.; Blin, K.; Cimermancic, P.; Jager, V.; Zakrzewski, P.; Fischbach, M.A.; et al. 2011. antiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. *Nucleic Acids Research* 39: 339-346.

Moody, S.C.; Zhao, B.; Lei, L.; Nelson, D.R.; Mullins, J.G.; Waterman, M.R.; et al. 2012. Investigating conservation of the albaflavenone biosynthetic pathway and CYP170 bifunctionality in streptomycetes. *The FEBS Journal* 279: 1640-1649.

Motitschke, L.; Driller, H.; Galinski, E.A. 2000. *Ectoin and ectoin derivatives as moisturizer in cosmetics*. Patent US6060071. United States. 6p.

Rutledge, P.; Challis, G. 2015. Discovery of microbial natural products by activation of silent biosynthetic gene clusters. *Nature Reviews Microbiology* 13: 509-523.

Schupp, T.; Waldmeier, U.; Divers, M. 1987. Biosynthesis of desferrioxamine B in *Streptomyces pilosus*: evidence for the involvement of lysine decarboxylase. *FEMS Microbiology Letters* 42: 135-139.

Seipke, R.F.; Hutchings, M.I. 2013. The regulation and biosynthesis of antimycins. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 19: 2556-2563.

Sheikhpour, M.; Sadeghi, A.; Yazdian, F.; Movafagh, A.; Mansoori, A. 2019. Anticancer and apoptotic effects of ectoine and hydroxyectoine on non-small cell lung cancer cells: an in-vitro investigation. *Multidisciplinary Cancer Investigation* 3: 14-19.

Shrestha, L.; Marasini, B.P.; Pradhan, S.P.; Shrestha, R.K.; Shrestha, S.; Regmi, K.P.; et al. 2021. biotransformation of daidzein, genistein, and naringenin by *streptomyces* species isolated from high-altitude soil of nepal. *International Journal of Microbiology* 19: 9948738.

Tappel, A.L. 1960. Inhibition of electron transport by antimycin A, alkyl hydroxy naphthoquinones and metal coordination compounds. *Biochemical Pharmacology* 3: 289-296.

Terra, L.; Ratcliffe, N.; Castro, C.H.; Vicente, C.P.A.; Dyson, P. 2021. Biotechnological potential of *Streptomyces* siderophores as new antibiotics. *Current Medicinal Chemistry* 28: 1407-1421.

Tzung, S.P.; Kim, K.M.; Basañez, G.; Giedt, C.D.; Simon, J.; Zimmerberg, J.; et al. 2001. Antimycin a mimics a cell-death-inducing bcl-2 homology domain 3. *Nature Cell Biology* 3: 183-91.

Val, P.; Figueiredo, J.; Melo, G.; Flantua, S.G.A.; Quesada, C.A.; Fan, Y.; et al. 2021. *Geology and geodiversity of the Amazon: three billion years of history*. Amazon Assessment Report, New York. 481p.

Valli, M.; Russo, H.M.; Bolzani, V.S. 2018. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. *Brazilian Academy of Science* 90: 763-778.

Wenhao, L.; Lijian, D.; Juan, L.; Huimin, W.; Yang, L.; Shuangling, T.; et al. 2022. Novel antimycin analogues with agricultural antifungal activities from the sponge-associated actinomycete *Streptomyces* sp. NBU3104. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 70: 8309-8316.

Yan, Y.; Zhang, L.; Ito, T.; Qu, X.; Asakawa, Y.; Awakawa, T.; et al. 2012. Biosynthetic pathway for high structural diversity of a common dilactone core in antimycin production. *Organic Letters* 17: 4142-4145.

Zhao, Y.; Li, G.; Chen, Y.; Lu, Y. 2020. Challenges and advances in genome editing technologies in *Streptomyces*. *Biomolecules* 10: 734.

Zheng, D.; Ding, N.; Jiang, Y.; Zhang, J.; Ma, J.; Chen, X. 2016. Alabaflavenoid, a new tricyclic sesquiterpenoid from *Streptomyces violascens*. *The Journal of Antibiotics* 69: 773-775.