

烟曲霉素及其衍生物生物活性研究进展

常白杨^{1,2}, 汪建明², 王 敏^{1*}, 王彤彤^{1*}

1. 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 农业部农产品质量安全重点实验室, 北京 100081;

2. 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457

摘 要: 烟曲霉素是一种从烟曲霉菌(*Aspergillus fumigatus*)提取液中分离出来的具有多种生物活性的抗生素。因其具有多种生物活性, 已有多种衍生物被合成, 并被应用于多种领域。主要介绍了烟曲霉素及其 3 种衍生物 Fumagillin B、TNP-470 和 CKD-732 的分子结构及生物活性, 并总结了烟曲霉素及其衍生物在治疗蜜蜂和鱼类的微孢子虫病以及人类癌症和肥胖症等方面的作用。

关键词: 烟曲霉素; 衍生物; 生物活性

DOI:10.19586/j.2095-2341.2017.0028

Progress on the Bioactivity of Fumagillin and its Derivatives

CHANG Baiyang^{1,2}, WANG Jianming², WANG Min^{1*}, WANG Tongtong^{1*}

1. Key Laboratory of Agro-food Safety and Quality, Ministry of Agriculture, Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, China Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100081, China;

2. College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China

Abstract: Fumagillin is a kind of antibiotic isolated from the extracting solution of *Aspergillus fumigatus* with a variety of biological activities. As it exhibits many bioactivities, many derivatives have been synthesized and used in multiple areas. This paper introduced fumagillin and its three derivatives, such as Fumagillin B, TNP-470 and CKD-732, including their molecular structures and bioactivities. We also summarized the effects of fumagillin and its derivatives in the treatment of bee and fish microsporidiosis, as well as in the treatment of cancer, obesity, and so on.

Key words: fumagillin; derivatives; bioactivity

烟曲霉素(fumagillin)又名抗阿米巴药,是一种由 C、H、O 3 种元素组成的白色晶状固体,属于有机酸性物质。它是从烟曲霉菌(*Aspergillus fumigatus*)中分离出来的一种有效的真菌代谢物^[1],可作为天然的不溶于水的抗生素^[2],用于控制由蜜蜂微孢子虫(*Nosema apis*)引起的真菌病害^[3,4]。Hanson 和 Eble^[5]于 1949 年第一次从一种特定的 H-3 曲霉菌株中将其分离出来,后来该菌株被命名为烟曲霉菌。由于其在防治微孢子虫病方面取得了显著的效果而被用作治疗此病的

抗生素类药物。1990 年,经研究发现,烟曲霉素还可有效地抑制血管生成^[6]。血管生成抑制剂具有巨大的潜在医用价值,由此,烟曲霉素及其合成衍生物的生物活性成为探讨的热点。本文将介绍衍生于烟曲霉素骨架的几种衍生物,其能够在体内和体外对内皮细胞发挥抑制生长和细胞毒性作用,用于治疗多种癌症。然而,我国尚未授权烟曲霉素类药物的使用,相关药物合成的研究也相对较少,因此,对于烟曲霉素类相关的研究进展加以总结是十分必要的。

收稿日期:2017-04-24; 接受日期:2017-05-23

基金项目:中国农业科学院创新工程项目资助。

作者简介:常白杨,硕士研究生,研究方向为食品工程。E-mail: changbaiyang15@163.com。* 通信作者:王 敏,研究员,主要从事农产品质量安全科研及管理工作。E-mail: wangmincaas@126.com; 王彤彤,助理研究员,博士,研究方向为有机合成。E-mail: wangtong123@126.com

1 烟曲霉素及其衍生物的分子结构及生物活性

1.1 烟曲霉素

烟曲霉素(图1)是从烟曲霉菌(*Aspergillus fumigatus*)中分离的天然产物^[7],是一种2型甲硫氨酸胺基肽酶(methionine aminopeptidase-2, MetAP-2)抑制剂的原型。MetAP-2是一种位于细胞质基质中的酶^[8],它的作用是移除新合成的蛋白质N端的甲硫氨酸,从而让蛋白质可以进行后续修饰,这是蛋白质保持稳定性、活性和进行正确的细胞定位所需的。起初,烟曲霉素应用于临床医学、人体和兽医中抗微生物活性的研究中^[4]。1990年,研究发现了其具有抑制血管生成的特性^[6]。烟曲霉素可共价结合和修饰 MetAP-2 的活性位点,而不抑制 MetAP-1^[9],主要用于治疗蜜蜂和鱼类的微孢子虫病,同时在治疗癌症、减肥等方面具有一定的作用^[9,10]。

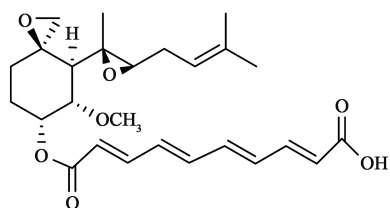


图1 烟曲霉素的结构

Fig.1 Structure of fumagillin.

1.2 烟曲霉素衍生物

1.2.1 Fumagillin B Fumagillin B是由烟曲霉素与二环己基胺(DCH)以1:1合成的胺盐(图2)。在兽医学中,它主要用于治疗蜜蜂和鱼的微孢子虫病等,在临床医学中用于治疗由艾滋病(AIDS)和其他免疫缺陷引发的肠内阿米巴病、微孢子虫角膜结炎和肠道微孢子虫病^[11]。

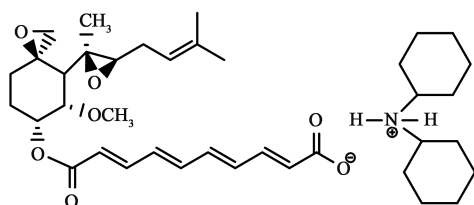


图2 Fumagillin B 的结构

Fig.2 Structure of Fumagillin B.

1.2.2 TNP-470 TNP-470(或AGM-1470)是Ingber等^[6]将烟曲霉素碱性水解后得到的一种烟曲霉素醇类(图3)。TNP-470的不稳定性和毒性可能是由于化学结构上存在3个不稳定的官能团而导致的代谢不稳定^[12]。这种化合物的半抑制浓度为10 pg/mL,可以对内皮细胞增殖产生抑制作用,其活性比母体烟曲霉素高出50倍。TNP-470仅在相当高浓度下(1 μg/mL)才可观察到细胞毒性。尽管TNP-470具有强效的抑制血管生成作用,且在体内仅有较少的毒副作用,但其对内皮细胞的作用机制尚不明确。

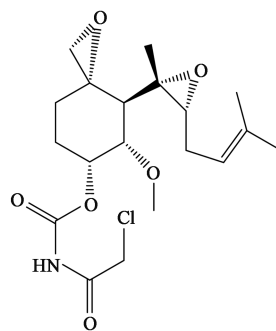


图3 TNP-470 的结构

Fig.3 Structure of TNP-470.

1.2.3 CKD-732 CKD-732(图4)是烟曲霉素的一种新的衍生物,该化合物在肿瘤治疗中具有抗血管生成的活性^[13]。与TNP-470相比,它对MetAP-2具有更高的亲和力,并且具有更好的抑制肿瘤生长的功效^[14],同时,对减肥以及心血管、中枢神经和呼吸系统等方面的疾病也有一定的作用^[13]。

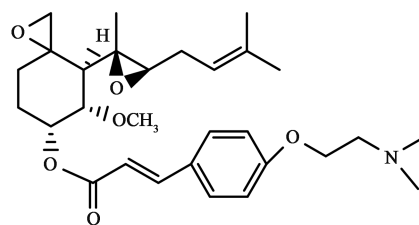


图4 CKD-732 的结构式

Fig.4 Structure of CKD-732.

2 烟曲霉素及其衍生物在治疗微孢子虫病中的作用

2.1 烟曲霉素在治疗微孢子虫病中的作用

Woyke^[15]和Webster^[16]在防治由蜜蜂孢子虫

引起的蜜蜂孢子虫病的过程中,发现烟曲霉素在 10~50 mg/群的使用浓度范围内表现出有效的治疗效果。该剂量范围内的烟曲霉素不仅不会对蜂群造成负面影响,还可增强越冬蜂的群势、提高蜂蜜产量。当烟曲霉素的浓度过低时,其对 *N. apis* 的感染仅起到短暂的抑制作用^[17];而当浓度过高时,又易导致蜜蜂的死亡^[18]。Higes 等^[19]以 120 mg/群的剂量对感染东方蜜蜂微孢子虫 (*Nosema ceranae*) 的蜂群进行为期 4 周的治疗,发现烟曲霉素不仅能够在长达 1 年的时间内有效控制 *N. ceranae* 的感染水平,同时能明显改善患病蜂群的群势。

2.2 Fumagillin B 在治疗微孢子虫病中的作用

微孢子虫是引发海水养殖鲑鱼严重鳃病的病原体。Kent 等^[20]对 Fumagillin B 控制微孢子虫 (*Loma salmonae*) 感染的功效进行了研究。鲑鱼在海水池中感染了 *L. salmonae*,初次感染 1 周后,给两缸鱼(12 条/缸)饲喂药物 Fumagillin B, 10 mg/(kg·d),共 30 d;其他 2 缸感染 *L. salmonae* 的鱼缸作为未处理对照。处理 44 d 后,检测显示,22 条存活的烟曲霉素喂养的鱼均无感染迹象,而未用烟曲霉素喂养的 21 条存活的鱼中有 13 条被感染。研究初步表明,Fumagillin B 可能是控制 *L. salmonae* 感染的有效治疗剂。

3 烟曲霉素及其衍生物抗肥胖作用

3.1 烟曲霉素抗肥胖作用

Lijnen 等^[7]用饮食诱导的肥胖小鼠模型研究了烟曲霉素抗肥胖的效果。给高脂肪饮食 (HFD) 的 11 周龄雄性 C57BL/6 小鼠(组 1)以 1 mg/kg·d 的烟曲霉素剂量喂食 4 周,和自由进食的 11 周龄雄性 C57BL/6 小鼠(组 2)进行比较。试验结束后,研究发现饲喂烟曲霉素(组 1)的小鼠与对照组(组 2)的小鼠相比,体重以及皮下和性腺脂肪质量均显著降低,且脂肪组织中的脂肪细胞较小,而脂肪细胞密度较高,并且脂肪细胞周围的血管密度较低。在和对照组相同的体重和脂肪量的小鼠中,短期给予烟曲霉素也出现了脂肪细胞肥大的现象,但不影响血管大小或密度。因此,用烟曲霉素饲喂可以降低肥胖小鼠体重,可能与脂肪细胞中血糖水平的降低相关,但对脂肪组织的血管生成没有影响。

3.2 TNP-470 抗肥胖作用

TNP-470 可选择性地抑制内皮细胞生长和血管生成^[21]。TNP-470 的血管抑制机制涉及内皮细胞中 MetAP-2 的抑制,从而防止细胞增殖^[9,22]。Bråkenhielm 等^[23]评估了 TNP-470 对饮食诱导的肥胖小鼠的抗肥胖功效。TNP-470 可能是通过减少小鼠脂肪组织中血管的生成来抑制肥胖的。服用 TNP-470 导致血清中低密度脂蛋白胆固醇的水平降低,此外,胰岛素水平降低和胰岛素敏感性增加表明 TNP-470 可以控制 II 型糖尿病的发展^[23]。

3.3 CKD-732 抗肥胖作用

Kim 等^[24]在不同剂量下利用各种动物模型对 CKD-732 的抗肥胖功效进行了评价研究。在皮下连续 7 d 注射 CKD-732 后,所有动物的食物摄入量和体重都下降了,在更大程度上减少了肥胖模型。用 CKD-732 处理的小鼠核心体温高于对照组小鼠,这表明小鼠经 CKD-732 处理后能量消耗增加。用 CKD-732 处理的 II 型糖尿病 (otsuka long-evans tokushima fatty, OLETF) 和同种系非糖尿病 (long-evans tokushima otsuka, LETO) 大鼠中,区域脂肪重量(特别是附睾和肠系膜脂肪垫和脂肪细胞的重量)显著减少。为了评价其中枢性厌食作用,在下丘脑弓状核 (hypothalamic arcuate nucleus, ARC) 损伤的小鼠和 ob/ob 小鼠的脑室内注射 CKD-732。虽然在正常同窝幼仔中没有发现食欲减退的现象,但是 24 h 后的体重以及 4 h、24 h 的食物摄入量显著降低。

4 烟曲霉素及其衍生物抗肿瘤作用

4.1 烟曲霉素的抗肿瘤作用

Sheen 等^[25]研究发现了烟曲霉素对治疗大鼠肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 具有一定的作用及其可能机制。将成年雄性 LEW/SsN 大鼠分为 3 组,每组 25 只。A 组为对照组,B 组和 C 组分别给予二乙基亚硝胺 5 mg/(kg·d)。此外,向 C 组大鼠腹膜内注射烟曲霉素 30 mg/(kg·d)。每组在第 6 周、第 12 周、第 18 周、第 20 周和第 24 周分别处死 5 只,以评价 HCC 的发展和转移。在第 24 周时,比较 A 组、B 组和 C 组大鼠肝组织中的 MetAP-2 mRNA、凋亡抑制蛋白 Bcl-2 mRNA、端粒酶 mRNA 和端粒酶的活性。结果表明 A 组

无 HCC 存在,但第 18 周时,B 组和 C 组大鼠中存在肿瘤。在第 20 周和第 24 周时,B 组肝脏平均重量为 0.64 g 和 0.79 g,C 组为 0.37 g 和 0.39 g,C 组大鼠肝脏平均重量明显低于 B 组。此外,MetAP-2 mRNA 水平为 C 组>B 组>A 组;Bcl-2 mRNA 水平为 C 组>B 组>A 组;端粒酶 mRNA 水平为 C 组和 A 组都低于 B 组。烟曲霉素在大鼠体内可有效抑制肝肿瘤的生长和转移,可能是由于烟曲霉素抑制了 MetAP-2,而 MetAP-2 在内皮细胞增殖中起重要作用。MetAP-2 的抑制也导致了 Bcl-2 和端粒酶活性的抑制。

4.2 Fumagillin B 抗肿瘤作用

Stevanvić 等^[26]用有丝分裂指数 (mitotic index, MI) 和微核 (micronucleus, MN) 试验评价了 Fumagillin B 对小鼠骨髓细胞的基因毒性。将 Fumagillin B 通过管饲法给 BALB/c 小鼠分别以 50 mg/kg、75 mg/kg 的剂量饲喂 7 d,用水-糖浆作为阴性对照,并用环磷酸胺 (40 mg/kg) 作为阳性对照。与阴性、阳性对照组相比,所有实验组 MI 指数显著降低;与阴性对照组相比,Fumagillin B 诱导 MN 的频率显著增加。上述实验结果表明,Fumagillin B 在哺乳动物体内试验中表现出抗增殖和遗传毒性潜力。

4.3 TNP-470 (或 AGM-1470) 抗肿瘤作用

TNP-470 是常规抗癌治疗中抑制血管生成分子,且可非常有效的抑制内皮细胞增殖。Yanase 等^[27]和 Yamaoka 等^[28]报道了 TNP-470 对啮齿类动物肿瘤的生长和转移具有抑制作用。TNP-470 对腺癌具有较强的诱导活性,但在临床表现上,由于其具有神经毒性,在 II 期试验时停止发展^[29]。目前使用 TNP-470 的临床试验对象包括宫颈癌、儿科实体瘤、淋巴瘤、急性白血病和艾滋病相关的卡波西氏肉瘤 (Kaposi's sarcoma) 的患者^[29]。使用 TNP-470、内皮抑制素和其他血管生成抑制剂可能是一种避免癌症治疗中的耐药性的可行方法。

研究发现,当全身给药时,TNP-470 抑制小鼠体内实体瘤的生长,这些肿瘤包括 Lewis 肺癌、B16 黑素瘤细胞、M5076 网织细胞肉瘤、MethA 纤维肉瘤、结肠-26 癌瘤及 Engelbreth-Holm Swarm 肉瘤等^[6]。AGM-1470 可特异性地抑制内皮细胞和人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endo-

thelial cell, HUVEC) 的增殖^[30]。并且,AGM-1470 与靶向肿瘤细胞顺式二氨二氯合铂 (CDDP) 试剂具有联合作用效果,当在 AGM-1470 治疗期结束时给予 CDDP,可增加抗转移作用;当停止使用 AGM-1470 后, HUVEC 立即恢复活性^[31,32]。研究表明,TNP-470 和丝裂霉素 C (Mitomycin C, MMC, 代表性抗肿瘤剂) 对异种移植的人结肠癌 TK-4 的抗肿瘤和抗转移作用^[33]。Wang 等^[34]研究了 TNP-470 对肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 的抑制作用,其可能用作抗纤维化药。在大鼠体内研究四氯化碳 (CCl₄) 和二甲基亚硝胺诱导肝纤维化的大鼠模型,在两种模型中,按每千克体重注射了 30 mg TNP-470 之后,纤维化面积显著降低。

4.4 CKD-732 抗肿瘤作用

Chun 等^[14]报道了 4 种高效的甲硫氨酸氨肽酶 2 (MetAP-2) 抑制剂: IDR-803、IDR-804、IDR-805 和 CKD-732 对血管生成和肿瘤生长的抑制作用。这些抑制剂在 2.5 nmol/L 的浓度时能够抑制 HUVEC 的生长,使其生长率降低 50% 以上,并阻止有丝分裂 G1 期的生长,还可观察到 p21^{WAF1/Cip1} 蛋白在细胞内积累。此外,4 种 MetAP-2 抑制剂在较高浓度 (25 nmol/L) 时,可明显诱导相同的 HUVEC 培养物凋亡。使用 SNU-398 肝癌细胞系检测这些抑制剂可能的抗癌作用,结果发现,与未处理的对照组相比,用这些抑制剂进行预处理能够使凋亡细胞的数目增加 60% 以上。此外,利用体内异种移植的鼠模型,这些抑制剂可抑制肿瘤的生长。总之,这 4 种抑制性化合物可有效地发挥抗血管生成作用来抑制体内癌症细胞的生长,并且可以用于治疗多种癌症。

Shin 等^[35]利用伊立替康 (irinotecan) 作为化疗药物在 9 名转移性结直肠癌患者中进行了 I 期临床试验,以评估 CKD-732 与卡培他滨 (capecitabine) 和奥沙利铂 (oxaliplatin, XELOX) 的安全性、耐受性和药代动力学。使用剂量递增方案,每周施 CKD-732 两次,以 2 mg/m²·d、5 mg/m²·d、10 mg/m²·d 剂量持续 2 周,其后 1 周暂停施用。用药疗程共 3 周,第 1 天给药奥沙利铂 (Oxaliplatin) 130 mg/m²,然后口服卡培他滨 (capecitabine, 用量 1 000 mg/m², 2 次/d) 14 d。在给予 10 mg/m²·d 剂量的组中,2 名患者经历剂量限制毒性 (一名患有 3 级恶心、失眠和疲劳;另一名患者具有 3 级失

眠)。最大耐受剂量为 $10 \text{ mg/m}^2 \cdot \text{d}$, 并且 CKD-732 与 XELOX 组合的临床推荐剂量为 $5 \text{ mg/m}^2 \cdot \text{d}$ 。CKD-732 对卡培他滨和奥沙利铂衍生铂的药代动力学没有显著影响。CKD-732 II 期推荐剂量测定为 $5 \text{ mg/m}^2 \cdot \text{d}$, 并且该剂量与常规剂量的卡培他滨和奥沙利铂在患者群体可以安全地组合。而在更大的人群中, 可进一步研究 CKD-732 与 XELOX 和其他化疗结合的效果。

5 烟曲霉素及衍生物其他作用

5.1 烟曲霉素诱导红细胞死亡的作用

Zbidah 等^[36]研究了烟曲霉素对红细胞死亡的刺激作用, 发现烟曲霉素诱导细胞死亡或凋亡至少部分是有效的。类似于有核细胞的凋亡, 红细胞也会有自我凋亡过程, 特点是细胞收缩、细胞膜紊乱、膜上的磷脂层外露。诱导红细胞凋亡的途径包括胞内 Ca^{2+} 的活性增强和神经酰胺增加。研究探索了烟曲霉素 ($5 \sim 100 \text{ } \mu\text{mol/L}$) 是否可以诱导红细胞凋亡。为此, 使用 Fluo3 荧光来估测 Ca^{2+} 的活性, 用特异性抗体来估测神经酰胺量, 用电子前向散射来估测细胞容量, 用膜联蛋白 V 的结合来估测磷脂层的 β 外露, 用血红蛋白释放量来估测红血球溶解程度。结果发现, 烟曲霉素处理 48 h 后, Ca^{2+} 的活性增强 (药物浓度 $10 \text{ } \mu\text{mol/L}$), 神经酰胺量增加 (药物浓度 $100 \text{ } \mu\text{mol/L}$), 诱发了膜联蛋白 V 结合 (药物浓度 $10 \text{ } \mu\text{mol/L}$), 电子前向散射程度减弱 (药物浓度 $10 \text{ } \mu\text{mol/L}$)。烟曲霉素处理后, 红血球的溶解现象显著增强。移除细胞外的 Ca^{2+} 能够显著地抑制烟曲霉素 ($100 \text{ } \mu\text{mol/L}$) 引发的膜联蛋白 V 的结合效应, 但不能完全消除这一影响。研究结果揭示了烟曲霉素的一种独特效应, 即诱导红细胞凋亡, 伴随着 Ca^{2+} 的进入、神经酰胺的形成、磷脂层的暴露和细胞体积的减小。

5.2 TNP-470 抗寄生虫的作用

Didier 等^[32]的研究表明了 TNP-470 可在体外抑制肠球菌 (*Encephalitozoon intestinalis*) 和角膜炎菌 (*Vittaforma corneae*) 的繁殖, 显示出其抑制微孢子虫的广谱功效。而 Coyle 等^[2]已经证明, TNP-470 在体外和体内都具有高度的活性, 具有抑制脑炎虫 (*E. cuniculi* 和 *E. hellem*) 繁殖的作用。另外, TNP-470 被发现可抑制鲑鱼中 *N. sal-*

monis 和 *L. salmonae* 的繁殖^[37]。Chen 等^[38]报道过烟曲霉素与 TNP-470 能够抑制恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*) 和杜氏利什曼虫 (*Leishmania donavani*) 在体外的生长, 并观察到它们的功效是源于对 MetAP-2 酶的抑制。烟曲霉素以及 TNP-470 能够选择性地抑制 MetAP-2 酶的活性, 这是通过与酶活性位点上的组氨酸 231 (His^{231}) 不可逆地、共价地结合而实现的。它们具有广谱的抗虫性, 能够抗疟原虫、锥虫。更重要的是, 烟曲霉素及 TNP-470 在体内显示了对小鼠疟原虫 (*P. berghei*) 的抗性, 这也证实了烟曲霉素和 TNP-470 的抗寄生虫功效。

5.3 CKD-732 对心血管、中枢神经和呼吸系统的影响

Kim 等^[13]研究 CKD-732 对心血管、中枢神经、呼吸系统和其他器官系统的影响。以 10 mg/kg 、 30 mg/kg 、 40 mg/kg 和 50 mg/kg 的剂量静脉注射, 最高剂量 (50 mg/kg) 延长了己糖胺诱导的休眠时间。CKD-732 (50 mg/kg) 也可使体温在 $15 \sim 120 \text{ min}$ 内降低, 240 min 后恢复。在研究 CKD-732 对胃酸分泌的作用中发现, CKD-732 可诱导 pH 的增加和总酸度的降低。然而, CKD-732 除了大鼠心脏、呼吸、平滑肌、肠道运输和肾脏功能外, CKD-732 对一般行为、自发性运动、运动协调、镇痛、抽搐、平均动脉压和心脏功能没有影响。基于以上结果, CKD-732 在临床剂量 1.75 mg/kg 下具有药理学安全性。

6 展望

烟曲霉素主要是通过从烟曲霉菌中分离提纯得到天然产物, 可以优化分离提纯的过程, 缩短生产周期, 从而解决我国在烟曲霉素合成及应用方面的欠缺, 使烟曲霉素国产化。

烟曲霉素及其衍生物的活性部分的主要是三元氧环部分, 对其的开发可以保留烟曲霉素的活性部位, 从而合成多种烟曲霉素衍生物, 防止生物体产生抗药性, 以及减少对生物体产生的毒副作用。应该注意烟曲霉素及其衍生物的使用剂量, 低剂量条件下达不到治疗效果, 而高剂量情况下又可能产生副作用。

烟曲霉素以及衍生物能够选择性地抑制 MetAP-2 酶的活性, 这是通过与酶活性位点上的

组氨酸 231(His²³¹)不可逆地、共价地结合而实现的,可以抑制新细胞的生成,达到控制微孢子虫病、治疗癌症和减肥等功效。但是其研究大多处于实验阶段,尚未应用到临床实践中,因此需要加快其研究进程,解决长期困扰的癌症难题,以及微孢子虫病的蔓延情况。

参 考 文 献

- [1] 曹葳蕤,薛晓峰,吴黎明.烟曲霉素及其防治蜜蜂微孢子虫病的研究进展[J].中国农业科技导报,2016,18(2):52-58.
- [2] Coyle C, Kent M, Tanowitz H B, *et al.* TNP-470 is an effective antimicrosporidial agent [J]. J. Infect. Dis., 1998, 177(2):515-518.
- [3] Katznelson H, Jamieson C A. Control of nosema disease of honeybees with fumagillin[J]. Science, 1952, 115(2977):70-71.
- [4] Bailey L L. Effect of fumagillin upon *Nosema apis* (Zander) [J]. Nature, 1953, 171(4344):212-213.
- [5] Hanson F R, Eble T E. An antiphage agent isolated from *Aspergillus* sp.[J]. J. Bacteriol., 1949, 58(4):527-529.
- [6] Ingber D E, Fujita T, Kishimoto S, *et al.* Synthetic analogues of fumagillin that inhibit angiogenesis and suppress tumour growth[J]. Nature, 1990, 348(6301):555-557.
- [7] Lijnen H R, Frederix L, van Hoef B. Fumagillin reduces adipose tissue formation in murine models of nutritionally induced obesity[J]. Obesity, 2010, 18(12):2241-2246.
- [8] Arico-Muendel C, Centrella P A, Contonio B D, *et al.* Antiparasitic activities of novel, orally available fumagillin analogs [J]. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2009, 19(17):5128-5131.
- [9] Sin N, Meng L, Wang M Q W, *et al.* The anti-angiogenic agent fumagillin covalently binds and inhibits the methionine aminopeptidase, MetAP-2[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997, 94(12):6099-6103.
- [10] Killough J H, Magill G B. A comparative study of fumagillin and oxytetracycline in amebiasis[J]. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1954, 3(6):999-1007.
- [11] van den Heever J P, Thompson T S, Curtis J M, *et al.* Fumagillin: An overview of recent scientific advances and their significance for apiculture[J]. J. Agric. Food Chem., 2014, 62(13):2728-2737.
- [12] Blanchet E, Vansteelandt M, Le Bot R, *et al.* Synthesis and antiproliferative activity of ligerin and new fumagillin analogs against osteosarcoma[J]. Eur. J. Med. Chem., 2014, 79:244-250.
- [13] Kim E J, Shin W H. General pharmacology of CKD-732, a new anticancer agent: Effects on central nervous, cardiovascular, and respiratory system[J]. Biol. Pharm. Bull., 2005, 28(2):217-223.
- [14] Chun E, Han C K, Yoon J H, *et al.* Novel inhibitors targeted to methionine aminopeptidase 2 (MetAP2) strongly inhibit the growth of cancers in xenografted nude model [J]. Int. J. Cancer, 2005, 114(1):124-130.
- [15] Woyke J. Increase in life-span, unit honey productivity and honey surplus with fumagillin treatment of honeybees [J]. J. Apicult. Res., 1984, 23(5):209-212.
- [16] Webster T C. Fumagillin affects *Nosema apis* and honey bees (Hymenoptera: Apidae) [J]. J. Econ. Entomol., 1994, 87(3):601-604.
- [17] Argauer R J. Antibiotics in beekeeping[J]. Am. Chem. Soc., 1986(320):35-48.
- [18] Rada V, Machova M, Huk J, *et al.* Microflora in the honeybee digestive tract: Counts, characteristics and sensitivity to veterinary drugs[J]. Apidologie, 1997, 28(6):357-365.
- [19] Higes M, Martín-Hernández R, Botías C, *et al.* How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse [J]. Environ. Microbiol., 2008, 10(10):2659-2669.
- [20] Kent M L, Dawe S C. Efficacy of Fumagillin DCH against experimentally induced *Loma salmonae* (Microsporea) infections in chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* [J]. Dis. Aquat. Organ., 1994, 20(3):231-233.
- [21] Kusaka M, Sudo K, Fujita T, *et al.* Potent anti-angiogenic action of AGM-1470: Comparison to the fumagillin parent [J]. Biochem. Bioph. Res. Commun., 1991, 174(3):1070-1076.
- [22] Garrabrant T, Tuman R, Ludovici D, *et al.* Small molecule inhibitors of methionine aminopeptidase type 2 (MetAP-2) fail to inhibit endothelial cell proliferation or formation of microvessels from rat aortic rings *in vitro* [J]. Angiogenesis, 2004, 7(2):91-96.
- [23] Bräkenhielm E, Cao R, Gao B, *et al.* Angiogenesis inhibitor, TNP-470, prevents diet-induced and genetic obesity in mice [J]. Circ. Res., 2004, 94(12):1579-1588.
- [24] Kim Y M, An J J, Jin Y J, *et al.* Assessment of the anti-obesity effects of the TNP-470 analog, CKD-732 [J]. J. Mol. Endocrinol., 2007, 38(4):455-465.
- [25] Sheen I S, Jeng K S, Jeng W J, *et al.* Fumagillin treatment of hepatocellular carcinoma in rats: An *in vivo* study of antiangiogenesis [J]. World J. Gastroentero., 2011, 11(6):771-777.
- [26] Stevanović J, Stanimirović Z, Pejin I I, *et al.* Monitoring of mitotic index and frequency of micronuclei in evaluation of genotoxic potential of fumagillin (dicyclohexylamine) *in vivo* [J]. Acta Vet., 2006, 56(5-6):437-448.
- [27] Yanase T, Tamura M, Fujita K, *et al.* Inhibitory effect of angiogenesis inhibitor TNP-470 on tumor growth and metastasis of human cell lines *in vitro* and *in vivo* [J]. Cancer Res., 1993, 53(11):2566-2570.
- [28] Yamaoka M, Yamamoto T, Ikeyama S, *et al.* Angiogenesis inhibitor TNP-470 (AGM-1470) potently inhibits the tumor growth of hormone-independent human breast and prostate carcinoma cell lines [J]. Cancer Res., 1993, 53(21):5233-5236.
- [29] Herbst R S, Madden T L, Tran H T, *et al.* Safety and pharmacokinetic effects of TNP-470, an angiogenesis inhibitor, combined with paclitaxel in patients with solid tumors: Evidence for activity in non-small-cell lung cancer [J]. J. Clin. Oncol., 2002, 20(22):4440-4447.
- [30] Antoine N, Greimers R, De Roanne C, *et al.* AGM-1470, a potent angiogenesis inhibitor, prevents the entry of normal but

- not transformed endothelial cells into the G1 phase of the cell cycle[J]. *Cancer Res.*, 1994, 54(8):2073–2076.
- [31] Morishita T, Miyauchi Y, Mii Y, *et al.*. Delay in administration of CDDP until completion of AGM-1470 treatment enhances antimetastatic and antitumor effects[J]. *Clin. Exp. Metastas.*, 1999, 17(1):19–23.
- [32] Didier E S. Effects of albendazole, fumagillin, and TNP-470 on microsporidial replication *in vitro* [J]. *Antimicrob. Agents Chem.*, 1997, 41(7):1541–1546.
- [33] Konno H, Tanaka T, Matsuda I, *et al.*. Comparison of the inhibitory effect of the angiogenesis inhibitor, TNP-470, and mitomycin C on the growth and liver metastasis of human colon cancer[J]. *Int. J. Cancer*, 1995, 61(2):268–271.
- [34] Wang Y Q, Ikeda K, Ikebe T, *et al.*. Inhibition of hepatic stellate cell proliferation and activation by the semisynthetic analogue of fumagillin TNP-470 in rats[J]. *Hepatology*, 2000, 32(5):980–989.
- [35] Shin S J, Ahn J B, Park K S, *et al.*. A phase Ib pharmacokinetic study of the anti-angiogenic agent CKD-732 used in combination with capecitabine and oxaliplatin (XELOX) in metastatic colorectal cancer patients who progressed on irinotecan-based chemotherapy[J]. *Invest. New Drug.*, 2012, 30(2):672–680.
- [36] Zbidah M, Lupescu A, Jilani K, *et al.*. Stimulation of suicidal erythrocyte death by fumagillin[J]. *Basic Clin. Pharmacol.*, 2013, 112(5):346–351.
- [37] Higgins M J, Kent M L, Moran J D, *et al.*. Efficacy of the fumagillin analog TNP-470 for *Nucleospora salmonis* and *Loma salmonae* infections in chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* [J]. *Dis. Aquat. Organ.*, 1998, 34(1):45–49.
- [38] Chen X, Xie S, Bhat S, *et al.*. Fumagillin and fumarranol interact with *P. falciparum* methionine aminopeptidase 2 and inhibit malaria parasite growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Chem. Biol.*, 2009, 16(2):193–202.