

# 浙贝母内生真菌菌株 FTJZZJ09 及其 抑菌活性成分

田峰 何仁发 李明月 王娟 叶波平\*

(中国药科大学生命科学与技术学院 江苏 南京 210009)

**摘要:** 根据菌株的形态学特征和 ITS 序列分析结果, 将一株来源于浙贝母新鲜鳞茎的内生真菌菌株 FTJZZJ09 鉴定为产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*), 其在优化后的改良查氏培养基(3 g/L 麦芽糖, 3 g/L 蛋白胨, 0.1 g/L  $K_2HPO_4$ , 0.05 g/L KCl, 0.3 g/L  $NaNO_3$ , 0.05 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.001 g/L  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , pH 6.5)中 28°C、160 r/min 振荡培养 7 d, 获得的发酵液具有抑菌活性。利用正相硅胶、Sephadex LH-20 柱层析以及重结晶等方法, 从发酵液乙酸乙酯提取物中分离到 3 个具有抑菌活性的化合物, 利用质谱和核磁共振等技术将其分别鉴定为环(脯氨酸-甘氨酸)、环(脯氨酸-缬氨酸)和 2-乙酰基-4 (3H)喹唑酮, 它们对枯草芽孢杆菌的生长均具有较为明显的抑制作用, MIC 分别为 0.8、0.8 和 0.4 g/L, 但对革兰氏阴性菌的生长无明显的影响。

**关键词:** 浙贝母, 内生真菌, 产黄青霉, 二酮哌嗪类, 喹唑酮类

## The Endophytic Fungus Strain FTJZZJ09 Isolated from the Bulbs of *Fritillaria thunbergii* and Its Antibacterial Metabolites

TIAN Feng HE Ren-Fa LI Ming-Yue WANG Juan YE Bo-Ping\*

(School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

**Abstract:** In the present study, an endophytic fungus isolate FTJZZJ09, which isolated from the fresh bulbs of *Fritillaria thunbergii* Miq., was identified as *Penicillium chrysogenum* based on its morphological characters and internal transcribed spacer (ITS) sequence. After being cultured in the modified Czapek-DoX medium (3 g/L maltose, 3 g/L peptone A, 0.1 g/L  $K_2HPO_4$ , 0.05 g/L KCl, 0.3 g/L  $NaNO_3$ , 0.05 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.001 g/L  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , pH 6.5), it can secrete antibacterial metabolites under the condition of 28°C in a rotary shaker at 160 r/min for 7 days. Three antibacterial compounds were isolated from the ethyl acetate extract of the fermentation broth by silica gel, they were elucidated as cyclo (Pro-Gly), cyclo (Pro-Val) and 2-acetyl-4 (3H) quinazolinone. All the three compounds could inhibit the growth of *Bacillus subtilis* with the minimal inhibitory concentration (MIC) value of 0.8, 0.8, and 0.4 g/L respectively, while they showed no apparent effects against the growth of

Gram-negative bacteria.

**Keywords:** *Fritillaria thunbergii*, Endophytic fungus, *Penicillium chrysogenum*, Diketopiperazines, Quinazolinones

早在 19 世纪中期, 人类就发现高等植物的组织中普遍存在着一些内生真菌, 但这些内生真菌及其活性代谢产物的研究工作直到近十余年来才受到广泛的重视<sup>[1]</sup>。自 1993 年 Stierle 等<sup>[2]</sup>从短叶紫杉 (*Pacific yew*) 茎的韧皮部中分离到 1 株可以分泌紫杉醇的内生真菌 *Taxomyces andreanae* 以来, 已从植物内生真菌中分离到很多结构新颖的化合物, 它们普遍具有抑菌<sup>[3]</sup>、细胞毒<sup>[4]</sup>或抑制蛋白激酶<sup>[5]</sup>等活性, 在新药研究领域内显示出良好的开发潜力。大量的研究显示: 植物内生真菌在与宿主的共生过程中, 其代谢途径可能会发生适应性改变, 从而在生长过程中分泌一些新结构类型的活性化合物<sup>[6]</sup>; 同时, 很多植物内生真菌还可以分泌一些来自植物的活性代谢产物或它们的结构类似物<sup>[2,4]</sup>, 为解决一些已在临床上使用药物的“药源”问题提供了新的途径。迄今为止, 已有一些药用植物内生真菌及其活性代谢产物的研究报道<sup>[2-6]</sup>, 但很少见有关于贝母属植物内生真菌的研究<sup>[7]</sup>。

浙贝母 (*Fritillaria thunbergii* Miq.) 是百合科的一种植物, 其干燥鳞茎因具有清热散结、止咳化痰的功效, 在中医药中常用于治疗虚劳、肺燥、咳嗽、肺炎和急性慢性支气管炎。有研究显示: 浙贝母鳞茎的提取物还具有明显的抗幽门螺杆菌的活性<sup>[8]</sup>。在前期研究中, 我们从浙贝母新鲜鳞茎中分离到的多株内生真菌的发酵液也普遍具有抑菌活性, 如: 内生真菌菌株 JZ6 在改良查氏培养基中发酵时获得的发酵液乙酸乙酯提取物具有广谱抑菌活性<sup>[7]</sup>, 从该浸膏中已分离到 2 种化合物, 它们具有显著的抑菌和细胞毒活性(数据待发表)。因此, 进一步开展并完成对这些内生真菌菌株及其活性代谢产物的分离纯化工作, 将不仅有助于了解贝母属植物抑菌活性的本质, 同时, 也将为药物的筛选提供更多的先导化合物。

菌株 FTJZZJ09 是从浙贝母新鲜鳞茎中分离到的一株真菌, 在形态上与菌株 JZ6 明显不同, 其发酵液对革兰氏阳性细菌的生长具有明显的抑制作用, 但对革兰氏阴性菌的生长无明显的抑制活性。在本研究中, 根据该菌株的形态学特征及 ITS 序列

分析结果, 将菌株 FTJZZJ09 鉴定为产黄青霉 (*Penicillium chrysogenum*), 并从其发酵液乙酸乙酯提取物中分离到 3 种代谢产物, 探讨了它们的体外抑菌活性。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株

菌株 FTJZZJ09 分离自浙江鄞州的浙贝母新鲜鳞茎, 经纯培养后, 以 PDA 固体斜面培养基 4°C 保存于本实验室。抑菌活性指示菌枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 由本实验室保存。

### 1.2 培养基及试剂

优化后的改良查氏发酵培养基组成如下: 3 g/L 麦芽糖, 3 g/L 蛋白胨, 0.1 g/L  $K_2HPO_4$ , 0.05 g/L KCl, 0.3 g/L  $NaNO_3$ , 0.05 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.001 g/L  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , pH 6.5。文中除特殊注明的试剂外, 其它均为国产分析纯试剂。

### 1.3 菌种鉴定

**1.3.1 菌落形态:** 将菌种以三点法点种于查氏酵母 (CYA) 培养基平板 (90 mm) 上, 28°C 培养 3-7 d, 观察并描述菌落形状、质地和颜色等形态特征。

**1.3.2 菌体形态:** 将菌种划线接种于 CYA 培养基平板, 斜插入无菌盖玻片, 28°C 静置培养 5 d 后, 将盖玻片用 2.5% 戊二醛溶液固定, 用日立 S-3000N 可变压扫描电子显微镜 (HITACH 公司, 日本) 观察孢子的着生情况及形态特征。

**1.3.3 ITS 序列分析:** ITS 序列扩增引物为: 5'-TCC GTAGGTGAACCTGCGG-3' (上游引物), 5'-TCCTC CGCTTATTGATATGC-3' (下游引物), 由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。建立 25  $\mu$ L PCR 反应体系: 2.5  $\mu$ mol/L dNTPs、10  $\mu$ mol/L 上游引物 (ITS1) 或下游引物 (ITS4)、3 U *Taq plus* DNA 聚合酶 (上海生工)、1  $\times$  PCR 反应缓冲液 (含 2.5 mmol/L 的  $MgCl_2$ , 上海生工) 以及 50-100 ng 模板 DNA。将 PCR 反应液混匀, 反应条件为: 94°C 5 min; 94°C 1 min, 57°C 45 s, 72°C 45 s, 35 个循环; 72°C 10 min。

PCR 产物经回收和测序后, 序列提交到 GenBank 中, 利用 BLAST 软件(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)进行相似序列搜索, 进一步采用 ClustalX (Ver.1.83)对高同源序列进行多序列联配分析, 然后利用 Phylip 3.65 软件中的 N-J 法 (Neighbor-joining)构建系统发育树, 设置自展次数为 1000 次。

#### 1.4 代谢产物的分离纯化及结构鉴定

制备菌株 FTJZZJ09 的种子液, 以 1%的接种量接种到装有 200 mL 发酵培养基的 500 mL 锥形瓶中, 置于恒温摇床中振荡培养, 28°C、160 r/min 培养 7 d。累积发酵液 130 L, 减压蒸馏浓缩至 5 L, 用等体积的乙酸乙酯充分萃取, 提取液经减压浓缩后获得乙酸乙酯提取物 50.1 g。利用大孔树脂 D-101、正相硅胶和 Sephadex LH-20 等柱色谱依次分离提取物, 得到化合物 1 (30.5 mg)、化合物 2 (15.0 mg)和化合物 3 (13.0 mg)。利用 MDS-QSTAR 型质谱仪分析各个化合物的质谱, 化合物的 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 用 Bruker Avance 500 型核磁共振仪测定(TMS 为内标)。

#### 1.5 代谢产物的抑菌活性分析

取适量待测化合物, 配成终浓度为 1 g/L 的溶液, 用 0.22 μm 孔径的滤膜过滤除菌后 4°C 保存备用。将 1 g/L 的样品母液稀释成 8 个浓度梯度, 分别为: 1、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 和 0.0125 g/L。将上述样品按 50 μL/孔加入至 96 孔板中, 再向各孔中加入 50 μL 指示菌悬液, 使检测菌的终浓度为  $1 \times 10^8$ – $2 \times 10^8$  CFU/L。以 0.1 g/L 的万古霉素作为阳性对照, 同时设不加样品(等体积培养液)的阴性对照和不加菌液的空白对照。每组样品设置 3 个重复。将加样后的 96 孔板置于 37°C 培养箱中培养 20 h, 观测检测菌的生长状况, 以没有指示菌生长的目标产物浓度为最低抑菌浓度 (MIC)。

## 2 结果

### 2.1 菌株 FTJZZJ09 的形态学特征

菌株 FTJZZJ09 在 CYA 培养基上 28°C 生长 5 d 后的菌落直径为 27 mm, 7 d 后达 30 mm; 菌落表面有 6–8 个放射状皱纹, 中心絮状, 有脐状凸起; 气生菌丝白色, 细绒毛状, 表面可产生大量亮黄色渗

出液(图 1A)。菌落背面黄褐色(图 1B)。扫描电镜下, 菌株 FTJZZJ09 的分子孢子梗壁平滑, 帚状枝三轮生, 偶有二轮生, 彼此稍叉开, 副枝 2 个,  $15 \mu\text{m} \times 2.5 \mu\text{m}$ ; 梗基每轮 3 个,  $7 \mu\text{m} \times (2.5\text{--}3.0) \mu\text{m}$ ; 顶端膨大, 瓶梗每轮 3–6 个, 圆柱形(图 1C)。分生孢子近球形或椭圆形, 大小介于  $1.5 \mu\text{m}$ – $2.0 \mu\text{m}$ , 壁近于平滑(图 1D)。

上述菌落、分生孢子梗和分生孢子的形态与青霉属中青霉亚属(*Subgen. Penicillium*)青霉组(*Sect. Penicillium*)扩展青霉系(*Ser. Expansa*)的产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)<sup>[9]</sup>相似。

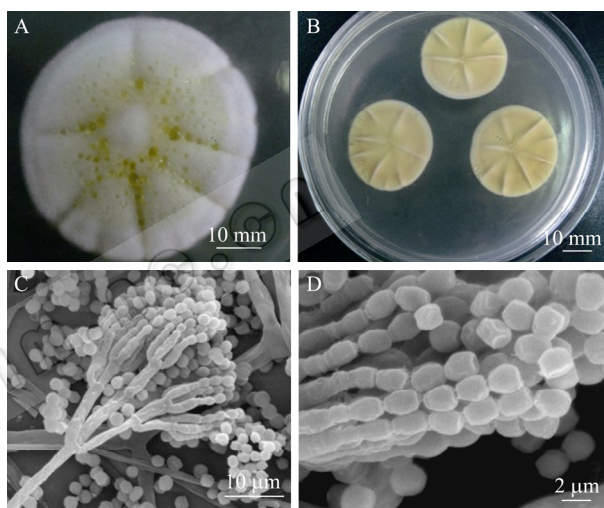


图 1 菌株 FTJZZJ09 的形态特征

#### Fig. 1 Morphological characters of the strain FTJZZJ09

注: A: CYA 上 28°C 培养 7 d 的菌落形态; B: CYA 上 28°C 培养 7 d 的菌落背面形态; C: 分生孢子梗形态; D: 分生孢子形态。

Note: A: Morphological characters of the colony cultured on CYA medium at 28°C for 7 days (Front view); B: Morphological characters of the colony cultured on CYA medium at 28°C for 7 days (Back view); C: Morphological characters of the conidiophore; D: Morphological characters of the conidia.

经 PCR 扩增后获得的菌株 FTJZZJ09 的 ITS 序列全长 514 bp (GenBank 中的序列号为 HM150998b)。BLASTn 分析结果显示该序列与青霉属真菌(*Penicillium* sp.)的 ITS 序列具有很高的同源性, 其中与一株产黄青霉(*Penicillium chrysogenum* complex DAOM 216700)的 ITS 序列(GenBank 中的序列号为 AY371628)同源性为 99%, 两者在以 N-J 法构建的系统发育树上聚为同一簇群(图 2)。

因此, 结合形态学分析结果, 将来自于浙贝母的内生真菌菌株 FTJZZJ09 鉴定为一株产黄青霉。

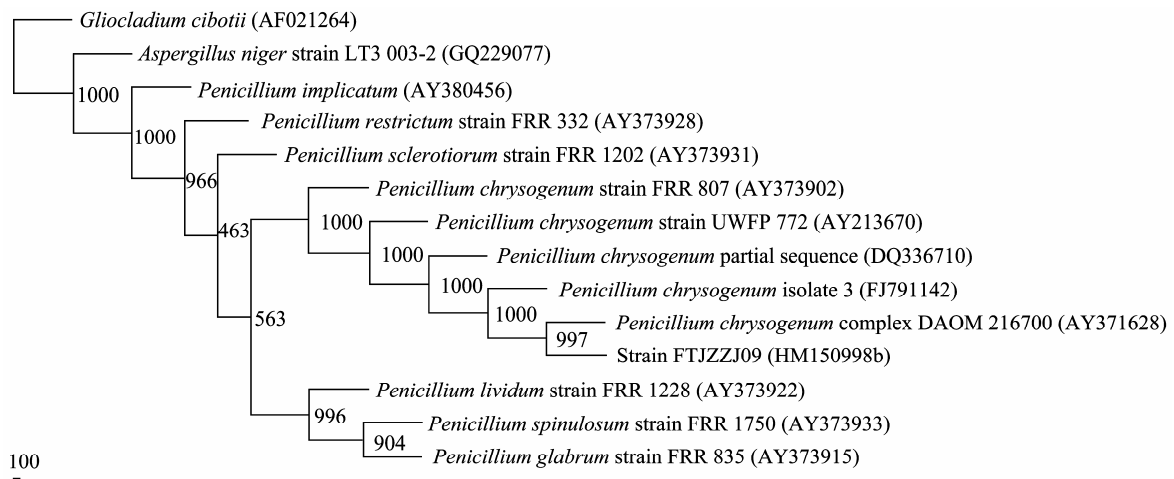


图 2 青霉属真菌 ITS 序列的聚类分析

Fig. 2 Clustering analysis of ITS sequences from various *Penicillium* species

注: 分支上的数值为 Bootstrap 检验的支持百分率(%); 种属名后的编号是该菌株的 ITS 序列在 GenBank 中的序列号。

Note: Numbers on the branches were the bootstrap value generated from 1000 pseudoreplicates. Accession numbers of the ITS from these fungi in GenBank were listed after species names.

## 2.2 化合物的结构鉴定

从菌株 FTJZZJ09 的发酵液乙酸乙酯浸膏中分离到 3 个化合物:

化合物 1: 白色粉末(甲醇), 碘蒸气显黄色, mp 162°C–164°C。ESI-MS  $m/z$ : 155[M+H]<sup>+</sup>, 结合 <sup>13</sup>C-NMR 数据, 推测分子式为 C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz), δH: 4.23 (1H, t,  $J$  = 6.9 Hz, 9-H), 4.10 (1H, d,  $J$  = 16.8 Hz, 3a-H), 3.74 (1H, d,  $J$  = 16.8 Hz, 3b-H), 3.49–3.60 (2H, m, 6-H), 2.30–2.34 (1H, m, 8a-H), 2.00–2.05 (1H, m, 8b-H), 1.90–1.98 (2H, m, 7-H); <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz), δC: 172.0 (1-C), 166.4 (4-C), 59.8 (9-C), 47.0 (6-C), 46.3 (3-C), 29.3 (8-C), 23.3 (7-C)。以上数据与文献[10]报道的环(甘氨酸-脯氨酸)基本一致, 故鉴定化合物 1 为环(甘氨酸-脯氨酸) [cyclo-(Gly-Pro)]。

化合物 2: 淡黄色针状结晶(氯仿), 碘蒸气显黄色, mp 187°C–189°C。TOF-MS  $m/z$ : 195[M-H]<sup>-</sup>, 结合 <sup>13</sup>C-NMR 数据, 推测分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz), δH: 6.4 (1H, s, 8-NH), 4.07 (1H, m, 6-H), 3.94 (1H, s, 9-H), 3.65 (1H, m, 3a-H), 3.55 (1H, m, 3b-H), 2.63 (1H, m, 5a-H), 2.38 (1H, m, 5b-H), 2.05 (2H, m, 4-H), 1.90 (1H, m, 10-H), 1.08 (3H, d,  $J$  = 7.3 Hz), 0.92 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz); <sup>13</sup>C-NMR

(CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz), δC: 170.0 (1-C), 165.0 (7-C), 60.4 (6-C), 58.8 (9-C), 45.1 (3-C), 28.5 (5-C), 35.4 (10-C), 22.4 (4-C), 19.2 (11-C), 16.0 (12-C)。以上数据与文献[11]报道的环(缬氨酸-脯氨酸)基本一致, 故鉴定化合物 2 为环(缬氨酸-脯氨酸) [cyclo-(Val-Pro)]。

化合物 3: 白色粉末(氯仿), 碘蒸气显黄色, mp 188.0°C–188.5°C。TOF-MS  $m/z$ : 187[M-H]<sup>-</sup>, 结合 <sup>13</sup>C-NMR 数据, 推测分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz), δH: 9.9 (1H, s, 3-NH), 8.36 (1H, m, 10-H), 7.82 (1H, m, 7-H), 7.82 (1H, m, 8-H), 7.58 (1H, m, 9-H), 2.76 (3H, s, 2'); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz), δC: 194.1 (1'-C), 160.5 (4-C), 147.7 (2-C), 145.3 (6-C), 134.8 (8-C), 129.4 (7-C), 129.2 (10-C), 127.0 (9-C), 123.5 (5-C), 24.0 (2'-C)。以上数据与文献[12]报道的 2-乙酰基-4(3H)喹唑酮基本一致, 故鉴定化合物 3 为 2-乙酰基-4(3H)喹唑酮 [2-acetyl-4(3H)quinazolinone]。

## 2.3 抑菌活性

体外抑菌活性分析结果表明: 3 种化合物对枯草芽孢杆菌的生长均具有一定的抑制作用, MIC 分别为 0.8、0.8 和 0.4 g/L, 但对绿脓杆菌的生长无明显抑制活性(表 1)。

表 1 化合物 1–3 对枯草芽孢杆菌及绿脓杆菌的抑制作用

Table 1 Minimal inhibitory concentration of compounds

测试菌 Test organism	化合物 1 Compound 1 (MIC, g/L)	化合物 2 Compound 2 (MIC, g/L)	化合物 3 Compound 3 (MIC, g/L)
<i>Bacillus subtilis</i>	0.8	0.8	0.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 0.8	> 0.8	> 0.8

### 3 讨论

在本研究中, 根据菌株的形态特征和 ITS 序列分析结果, 将分离自浙贝母新鲜鳞茎的内生真菌菌株 FTJZZJ09 鉴定为产黄青霉 (*Penicillium chrysogenum*), 与我们早先报道的另一株来自于浙贝母的内生真菌<sup>[7]</sup>属于不同的类群。

产黄青霉是一种重要丝状真菌, 在工业上主要用于青霉素的生产。除了分泌抗菌代谢产物(如青霉素等)外, 产黄青霉还可分泌具有溶血<sup>[13]</sup>和抗白血病<sup>[14]</sup>等活性的代谢产物, 并可产生一些如阿拉伯呋喃糖酶<sup>[15]</sup>和蛋白酶<sup>[16]</sup>等。在本研究中, 我们从产黄青霉菌株 FTJZZJ09 的发酵液中分离到 3 种代谢产物, 它们对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌的生长表现出一定的抑菌活性。

2-乙酰基-4(3H)喹唑酮在结构上属于喹唑酮类衍生物<sup>[17]</sup>, 这类化合物可从一些植物<sup>[18]</sup>和微生物<sup>[19]</sup>中分离得到, 目前主要是通过化学合成或半合成的方法获得<sup>[19-20]</sup>。喹唑酮类化合物普遍具有抑制 HIV 病毒复制<sup>[12]</sup>、抗菌<sup>[19]</sup>、抗肿瘤<sup>[21]</sup>、抗炎<sup>[19]</sup>、抗痉挛<sup>[22]</sup>、降血糖<sup>[23]</sup>和降血脂<sup>[24]</sup>以及杀虫<sup>[25]</sup>等多种生理和药理活性; 同时, 它们也是 5-羟色胺的拮抗剂<sup>[26]</sup>, 在近年来受到广泛的关注<sup>[17,20]</sup>。在本研究中鉴定的 2-乙酰基-4(3H)喹唑酮最早是一株砖红镰孢菌(*Fusarium lateritium* Nees)中分离到的, 具有抑制 HIV 病毒复制的能力<sup>[12]</sup>, 但在青霉菌属真菌中尚属首次发现, 其在产黄青霉菌株 FTJZZJ09 中的发酵产量约为 100 μg/L。

本研究中分离到的另外 2 种化合物属于二酮哌嗪类化合物, 普遍存在于自然界中<sup>[27]</sup>, 具有多种生物活性, 如: 抗菌、抗感染、抗肿瘤、作为群体感应信号分子或促进植物生长等, 在一些先导化合物的合成中具有重要的参考价值<sup>[28]</sup>。尽管这类化合物在微生物次生代谢产物中比较常见, 但从产黄青霉的发酵产物中分离得到这类化合物尚属首次。此外, 在本研究中分离到的环(甘氨酸-脯氨酸)具有抗肿瘤活性<sup>[10]</sup>和抗健忘和促进记忆<sup>[29]</sup>的作用, 我们发现该化合物还具有较弱的抑制革兰氏阳性菌生长的活性; 另一种环二肽类化合物环(缬氨酸-脯氨酸)也具有较弱的抑菌活性, 这与漆淑华等<sup>[11]</sup>报道的结果类似。

总之, 鉴于上述化合物在药物研究中的重要作用, 在本研究中分离到的浙贝母的内生产黄青霉菌株 FTJZZJ09 将为这些化合物的生产提供新的菌株来源, 具有一定的开发利用潜力。

### 参考文献

- [1] Strobel G, Daisy B, Castillo U, *et al.* Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*, 2004, **67**(2): 257-268.
- [2] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of *Paific yew*. *Science*, 1993, **260**(5105): 214-216.
- [3] Aly AH, Edrada-Ebel RA, Wray V, *et al.* Bioactive metabolites from the endophytic fungus *Ampelomyces* sp. isolated from the medicinal plant *Urospermum picroides*. *Phytochemistry*, 2008, **69**(8): 1716-1725.
- [4] Kour A, Shawl AS, Rehman S, *et al.* Isolation and identification of an endophytic strain of *Fusarium oxysporum* producing podophyllotoxin from *Juniperus recurva*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2008, **24**(7): 1115-1121.
- [5] Debbab A, Aly AH, Edrada-Ebel RA, *et al.* Bioactive metabolites from the endophytic fungus *Stemphylium globuliferum* isolated from *Mentha pulegium*. *Journal of Natural Products*, 2009, **72**(4): 626-631.
- [6] Tan RX, Zou WX. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports*, 2001, **18**(4): 448-459.
- [7] 叶波平, 张少华, 刘冰, 等. 浙贝母内生真菌 *Nectria* sp. JZ6 分泌抑菌活性代谢产物的初步研究. *菌物学报*, 2009, **28**(4): 603-609.
- [8] Li Y, Xu C, Zhang Q. *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* action of 30 Chinese herbal medicines used to treat ulcer diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, **98**(3): 329-333.
- [9] 孔华忠. 中国真菌志(第 35 卷·青霉菌属及其相关有性型属). 北京: 科学出版社, 2007: 139-142.
- [10] 刘睿, 朱天骄, 朱伟明, 等. 海洋放线菌 S1001 中抗肿瘤活性成分的研究. *中国抗生素杂志*, 2006, **31**(1): 36-38.
- [11] 漆淑华, 钱培元, 张偲. 海洋细菌 *Pseudomonas* sp. 抗菌代谢产物的研究. *天然产物研究与开发*, 2009, **21**(3): 420-423.
- [12] Youla ST, Xiao JX. Novel quinazolinones and enniatins from *Fusarium lateritium* Nees. *Canadian Journal of Chemistry*, 1993, **71**(9): 1362-1367.
- [13] Maura D, Yongjoo C, Matthew LM, *et al.* Hemolysin chrysolysin from *Penicillium chrysogenum* promotes inflammatory response. *International Journal of Hygiene*

- and Environmental Health*, 2005, **208**(4): 279–285.
- [14] Bringmann G, Lang G, Gulder TAM, *et al.* The first sorbicillinoid alkaloids, the antileukemic sorbicillactones A and B, from a sponge-derived *Penicillium chrysogenum* strain. *Tetrahedron*, 2005, **61**(30): 7252–7265.
- [15] Sakamoto T, Kawasaki H. Purification and properties of two type-B  $\alpha$ -L-arabinofuranosidases produced by *Penicillium chrysogenum*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, **1621**(2): 204–210.
- [16] Benito MJ, Nunez F, Cordoba MG, *et al.* Generation of non-protein nitrogen and volatile compounds by *Penicillium chrysogenum* Pg222 activity on pork myofibrillar proteins. *Food Microbiology*, 2005, **22**(6): 513–519.
- [17] Mohamed MS, Kamel MM, Kassem EMM, *et al.* Novel 6,8-dibromo-4 (3H) quinazolinone derivatives of antibacterial and antifungal activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, **45**(8): 3311–3319.
- [18] Shim SH, Kim JS, Son KH, *et al.* Alkaloids from the roots of *Aconitum pseudolaeva* var. *erectum*. *Journal of Natural Products*, 2006, **69**(3): 400–402.
- [19] Belofsky GN, Anguera M, Jensen PR, *et al.* Oxepinamides A-C and Fumiquinazolines H-I: bioactive metabolites from a marine isolate of a fungus of the genus *Acremonium*. *Chemistry-A European Journal*, 2000, **6**(8): 1355–1360.
- [20] Majid MH, Samaheh S, Sodeh S, *et al.* Rapid and efficient synthesis of 4(3H)-quinazolinones under ultra sonic irradiation using silica-supported Preyssler nano particles. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2009, **16**(6): 708–710.
- [21] Liu JF, Wilson CJ, Ye P, *et al.* Privileged structure-based quinazolinone natural product-templated libraries: identification of novel tubulin polymerization inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2006, **16**(3): 686–690.
- [22] Welch WM, Ewing FE, Huang J, *et al.* Atropisomeric quinazolin-4-one derivatives are potent noncompetitive  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptor antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2001, **11**(2): 177–181.
- [23] Ram VJ, Farhanullah, Tripathi BK, *et al.* Synthesis and antihyperglycemic activity of suitably functionalized 3H-quinazolin-4-ones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2003, **11**(11): 2439–2444.
- [24] Refaie F, Esmat A, Gawad S, *et al.* The antihyperlipidemic activities of 4(3H) quinazolinone and two halogenated derivatives in rats. *Lipids in Health and Disease*, 2005(4): 22–32.
- [25] Shao CL, Wang CY, Gu YC, *et al.* Penicoline, a new pyrrolyl 4-quinolinone alkaloid with an unprecedented ring system from an endophytic fungus *Penicillium* sp.. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010, **20**(11): 3284–3286.
- [26] Tamaoki S, Yamauchi Y, Nakano Y, *et al.* Pharmacological properties of 3-Amino-5,6,7,8-tetrahydro-2-[4-[4-(quinolin-2-yl)piperazin-1-yl]butyl]quinazolin-4(3H)-one (TZB-30878), a novel therapeutic agent for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS) and its effects on an experimental IBS model. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2007, **322**(3): 1315–1323.
- [27] Arunrattiyakorn P, Nitoda T, Kanzaki H. Enzymatic conversion-based method for screening cyclic dipeptide-producing microbes. *Peptides*, 2006, **27**(4): 633–639.
- [28] Martins MB, Carvalho I. Diketopiperazines: biological activity and synthesis. *Tetrahedron*, 2007, **63**(40): 9923–9932.
- [29] Gudasheva TA, Boyko SS, Akparov VKH, *et al.* Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Letters*, 1996, **391**(1/2): 149–152.

## 稿件书写规范

### 论文中有关正、斜体的约定

物种的学名：菌株的属名、种名(包括亚种、变种)用拉丁文斜体。属的首字母大写，其余小写，属以上用拉丁文正体。病毒一律用正体，首字母大写。

限制性内切酶：前3个字母用斜体，后面的字母和编码正体平排，例如：*Bam*HI、*Msp*I、*Sau*3AI等。

氨基酸和碱基的缩写：氨基酸缩写用3个字母表示时，仅第一个字母大写，其余小写，正体。碱基缩写为大写正体。

基因符号用小写斜体，蛋白质符号首字母大写，用正体。