

一株紫罗兰蓝色素产生菌的分离、鉴定及其 活性产物的特性分析

安超 马赛箭 常帆 甄丽莎 刘晨 薛文娇*

(陕西省微生物研究所 微生物代谢产物研究中心 陕西 西安 710043)

摘要:【目的】调查秦巴山地区微生物物种的多样性,建立用于活性产物筛选的微生物代谢产物库和菌种资源库,通过数据库平台进行资源共享。【方法】采用不同的分离方法,分离存在于不同生境的微生物类群,通过形态、生理生化及分子生物手段鉴定菌种,发酵并通过甲醇提取代谢产物。【结果】从本地区土壤样本中分离获得一株产水溶性紫罗兰蓝色素的放线菌 Str-4331,在高氏培养基上其气生菌丝为白色,产生水溶性紫罗兰色素,镜检观察孢子丝螺旋形,孢子椭圆形至长圆形,通过形态、生理生化特征初步确定为链霉菌。利用 ClustalX 对其 16S rRNA 进行序列比对,用 Neighbor-Joining (NJ)构建系统发育树,并用 Bootstrapping 法对其评价。实验结果表明,该菌基因序列与砖红链霉菌 (*Streptomyces lateritius*) LMG 19372 基因序列有 99% 的最高相似性。抑菌试验表明,活性产物具有较强的抗革兰氏阳性细菌活性。色素在水溶液中颜色随着 pH 的变化而变化。质谱分析显示 3 个主要化合物,分子量分别为 557.68、588.43、485.18 kD,其中分子量为 557.68 kD 化合物与榴菌素 B 分子量一致。【结论】根据菌株的 16S rRNA 序列分析结果,结合菌株的培养特性和生理生化特性,将菌株 Str-4331 归属为砖红链霉菌 (*S. lateritius*)。该菌种首次在本地区分离到,具有进一步研究开发的價值。

关键词: 秦巴山区, 微生物代谢产物库, 砖红链霉菌, 榴菌素 B, 质谱分析

基金项目: 陕西省科学院科技计划重点项目(No. 2009K-01, 2010K-02); 西安市科技计划项目(No. CXY1131(2)); 陕西省自然科学基金项目(No. 2011JQ4026)

*通讯作者: Tel: 86-29-85350847; 信箱: X-wenjiao@163.com

收稿日期: 2012-05-11; 接受日期: 2012-10-18

Isolation, identification and bioactive metabolites property of the strain secreting violet-blue pigment

AN Chao MA Sai-Jian CHANG Fan ZHEN Li-Sha LIU Chen XUE Wen-Jiao*

(Microbial Metabolic Research Center, Microbiology Institute of Shaanxi, Xi'an, Shaanxi 710043, China)

Abstract: [Objective] In order to investigate microbial diversity of the Qinling-Daba region, collect microbial culture and metabolites aimed to screen for active compounds, and establish the collection database as a platform for sharing inform. **[Methods]** The microbial strains from different habitats were isolated by the different methods and identified by physiological, biochemical and morphological characteristics and 16S rRNA gene sequence analysis, while the microbial metabolites were prepared for screening for active compound by fermentation in shaker flasks, extraction with methanol. **[Results]** An actinomycete, named strain Str-4331, was isolated from a soil sample in the Qinling-Daba region. It produced grayish-white aerial mycelium and solvable-violet-blue pigment on Gause's synthetic agar, microscopic observation revealed that it produced helically spore hypha, the spores were elliptic to oblong. It was primarily identified as genus *Streptomyces* according to its morphological, physiological and biochemical characteristics. The 16S rRNA sequence of strain Str-4331 was analyzed by ClustalX, the phylogenetic tree was derived with NJ and analyzed with bootstrapping. The results showed that the 16S rRNA gene sequence of the strain Str-4331 shared the highest identity (99%) with that of *S. lateritius* strain: LMG 19372. The antibacterial activity of the extracted metabolites was determined and the results showed that the metabolites had the activity against the Gram-positive bacteria. The aqueous solution containing the metabolites showed different colors under different pH conditions. Liquid chromatography-mass spectroscopy analysis showed that the metabolites produced by the strain Str-4331 composed of three main compounds with the molecular weight separately 557.68 kD, 588.43 kD, 485.18 kD, while the molecular weight of granaticin B was 558 kD according to the documents. **[Conclusion]** The strain Str-4331 was identified as *S. lateritius* from its morphological and cultural characteristics and the 16S rRNA gene sequence. This is the first report that *S. lateritius* strain was isolated in the Qinling-Daba region, and this study provided basis for the further exploration of the strain.

Keywords: The Qinling-Daba region, Microorganisms metabolites library, *S. lateritius*, Granaticin B, Mass spectrometry analysis

微生物资源是丰富的自然资源, 微生物代谢产物是药物、农药、保健品、化妆品、精细化工

领域新产品开发的重要来源。据统计, 临床上应用的抗生素, 包括抗癌药、免疫抑制剂、杀虫剂

等在内的药物约有 2/3 直接或者间接来源于微生物^[1]。链霉菌是微生物中最重要的生物活性物质的产生者,随着已知活性物质的不断增加,发现新的活性物质变得越来越困难^[2-3]。在实际研究中,微生物的不同种甚至是同种不同株所产生的天然产物都有很大不同。“新菌株→新天然产物→商业上的成功”的模式已被越来越多的研究者接受^[4]。

主体位于陕西的秦巴山区山脉是我国中部最重要的生态屏障,是我国南北地质、气候、生物、水系、土壤等五大自然地理要素的天然分界线,作为长江、黄河两大水系的分水岭和我国暖温带与北亚热带的过渡地带,秦巴山区被公认为世界范围内物种多样性最为丰富的地区之一,被称为“国家中央森林公园”、“天然基因宝库”。本课题组系统调查和收集,建立了秦巴山区特有生境的微生物菌种及其代谢产物库,探索秦巴山地区微生物丰富的物种多样性和化学多样性,为各种用途代谢产物的快速筛选提供平台,同时建立获取、分析和纯化微生物代谢产物的技术平台,获取一批有应用价值的微生物代谢产物。本文报道一株紫罗兰蓝色素产生菌的分离、鉴定及其活性产物的特性分析。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样品采集: 93 份分离样品来源于 2009 年采集的秦巴山地区不同海拔、不同生境(腐殖土、灌木丛、草地、药用植物根际等)土壤。

1.1.2 主要培养基和仪器: 分离及鉴定培养基: 高氏 1 号培养基及链霉菌标准培养基,显微照片通过插片法观察^[5]。发酵培养基: 高氏 1 号液体培养基,薄层板 GF254 (10 μm -20 μm); 主要设备: 美国热电公司液质联用仪 TSQ Quantum LC-MS, 美国 SSI 高效液相分析仪 Series III, Discovery 18 色谱柱(5 μm , 250 mm \times 4.6 mm)。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株分离及保藏: 将采集的土壤样本室温风干,采用梯度稀释平板法,用添加了 50 mg/L 重铬酸钾的高氏 1 号培养基进行放线菌分离,培养温度 28 $^{\circ}\text{C}$,纯化菌株保藏在-80 $^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱。

1.2.2 培养特性及生理生化实验: 参照国际链霉菌规划中有关放线菌的培养特征描述所采用的标准培养基进行培养特性测定^[6-7],所用培养基有: ISP2、ISP3、ISP4、ISP5、察氏培养基、高氏培养基、营养琼脂、PDA 平板接种,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 7、14、21、28 d 后分别观察并记录基内菌丝、气生菌丝的生长情况及可溶性色素。生理生化测定参照文献[8]方法进行。

1.2.3 16S rRNA 基因序列测定及系统发育树分析: DNA 提取采用试剂盒(TaKaRa MiniBEST Bacterial Genomic DNA Extracion Kit ver. 2.0)。PCR 选用引物: 27f: 5'-AGAGTTTGATCCTGG CTCAG-3'; 1504r: 5'-AAGGAGGTGATCCAGCC GCA-3'。50 μL PCR 扩增反应体系: 5.0 μL 10 \times Taq 酶缓冲液, 0.4 $\mu\text{mol/L}$ 引物, 4 μL 200 mmol/L dNTPs, 40 ng DNA 模板, 1 U Taq 酶(TaKaRa), 34 μL ddH₂O。PCR 反应程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 56 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 共 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min。回收目的片段,测序工作由华大基因(北京)有限公司完成。将所测的 16S rRNA 序列采用 ClustalX 1.83 软件进行系统发育分析^[9],采用邻接法(Neighbor-Joining)进行聚类分析^[10-12],用 MEGA 5.05 构建实验菌株系统进化树。

1.2.4 紫色素提取工艺: 发酵液经过 6 000 $\times g$ 离心 10 min,使菌液分离。发酵液上清用乙酸乙酯浸提萃取 3 次,浸提液在旋转真空干燥仪上 50 $^{\circ}\text{C}$ 旋转浓缩成粗提物,通过甲醇重新溶解,溶液置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 过夜以去除腊质,重新蒸干,对粗提物进行薄层层析 TLC (Thin layer chromatography)分析,样品用甲醇溶解,薄层展开条件为氯仿:甲

醇=8:1 (V/V)。

1.2.5 紫色素溶解性及紫色素稳定性分析: 将色素粗提取物溶解在不同 pH 的水溶液中, 观察其色泽变化, 紫色素能溶解在常见的有机溶剂中, 观察其溶解性及颜色变化。

1.2.6 紫色素抑菌活性实验: 放线菌培养方法: 种子培养液 30 °C、180 r/min 振荡培养 48 h, 转入发酵液摇瓶中, 同样的条件下发酵 120 h。拮抗活性分析采用琼脂块移除法测定抑菌圈的大小, 实验选用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、白色链球菌(*Streptococcus albus*)、黑曲霉作为测试菌株, 供试菌株由本单位菌种资源中心提供。

1.2.7 紫色素的 HPLC 及 HPLC-MS 分析: 将色素粗提物用甲醇溶解, HPLC 分析检测条件为: $\lambda=520$ nm, 流动相为 65% 甲醇, 柱温 25 °C。HPLC-MS 的条件同 HPLC 检测。

2 结果与分析

2.1 菌株 Str-4331 的分类鉴定

2.1.1 形态特性: 形态观察结果见图 1, 在高氏 1

号固体培养基中, 于 28 °C 培养 120 h 可以观察到 Str-4331 菌株的气生菌丝灰白色到砖红色, 薄, 粉状, 初白色, 无孢子, 带蓝色渗出物, 后生孢子, 砖红色。基内菌丝呈现紫罗兰色(酸性环境中呈现红色, 碱性环境呈现蓝色)。

2.1.2 生理生化指标测定及培养特征观察: 生理生化指标测定及培养特征实验结果见表 1 和表 2。由表 1 可知: 菌株在察氏培养基上, 气生菌丝紫色, 基生菌丝紫色, 可溶色素紫蓝色; 甘油天门冬素琼脂(ISP3)、无机盐淀粉琼脂(ISP2)、酵母精麦芽精琼脂(ISP4)、燕麦粉琼脂(ISP5)培养基上, 气生菌丝灰白色、粉白, 基生菌丝紫红色, ISP2、ISP3 培养基中产生可溶色素紫蓝色。由表 2 结果可知: 该菌株能产生 H₂S, 能水解淀粉, 能使明胶液化, 能使牛奶凝固或胨化, 纤维素上不生长。对碳源的利用结果表明, 菌株可以利用葡萄糖、D-果糖、鼠李糖、肌醇、麦芽糖、D-阿拉伯糖、山梨醇, 不利用乳糖、D-甘露醇。

2.1.3 系统发育树的构建(图 2): PCR 扩增片段由华大基因(北京)有限公司测序完成, 其所测 16S rRNA 序列长度为 1 440 bp, 并提交 GenBank 注册登录号为 JQ753068。

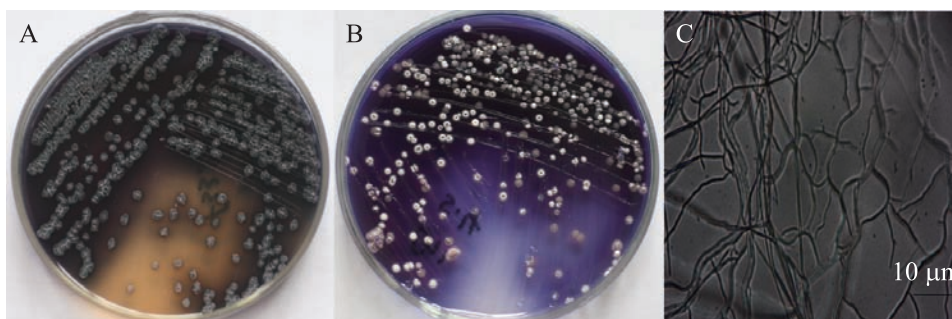


图 1 菌株 Str-4331 菌落

Fig. 1 Colonies of the strain Str-4331

注: A: ISP2; B: 高氏 1 号; C: 显微形态(1 000×).

Note: A: ISP2; B: Gause 1; C: Optical micrograph (1 000×).

表 1 菌株 Str-4331 培养特性
Table 1 The culture characteristics of the strain Str-4331 in different medium

培养基 Medium	生长 Growth	基内菌丝 Substrate mycelium	气生菌丝 Aerial mycelium	色素 Pigment
ISP2 培养基 Yeast ext-Malt ext agar	丰度	淡紫色	淡紫、灰白	+
ISP3 Oat meal agar	丰度	紫褐色	灰白	+
ISP4 Inorganic salt-starch agar	适度	紫红色	粉白色	-
ISP5 Glycerol asparagine agar	适度	灰白色	灰白色	-
高氏 1 号 Gause's synthetic agar	丰度	紫褐色	灰白色	+
察氏培养基 Czapek's agar	丰度	紫褐色	紫褐色	+
营养琼脂 Nutrient agar	丰度	粉白色	灰白色	+
ISP2 培养基 Yeast ext-Malt ext agar	丰度	淡紫色	淡紫、灰白	+

注: +: 产生可溶性色素; -: 不产生可溶性色素.

Note: +: Diffusible pigments were produced; -: Diffusible pigments were not produced.

表 2 菌株 Str-4331 碳源利用和生理生化特征

Table 2 Utilization of carbon sources and their physiological and biochemical characteristics of the strain Str-4331

碳源 Carbon source	结果 Result	理化性质 Physiological and biochemical characteristics	结果 Result
D-阿拉伯糖 D-arabinose	+	纤维素水解 Hydrolysis of cellulose	-
D-果糖 D-fructose	+	淀粉水解 Amylohydrolysis	+
甘露醇 Mannitol	-	明胶实验 Gelatin liquefaction	+
鼠李糖 Rhamnose	+	产硫化氢 Production of H ₂ S	+
肌醇 Myo-inositol	+	酪胺酸酶 Tyrosinase	-
D-葡萄糖 D-glucose	+	硝酸还原 Nitrate reduction	+
麦芽糖 Maltose	+	牛奶酪化 Milk solidification	+
乳糖 Lactose	-		
L-山梨醇 L-glucitol	+		

注: +: 阳性反应; -: 阴性反应.

Note: +: Positive reaction; -: Negative reaction.

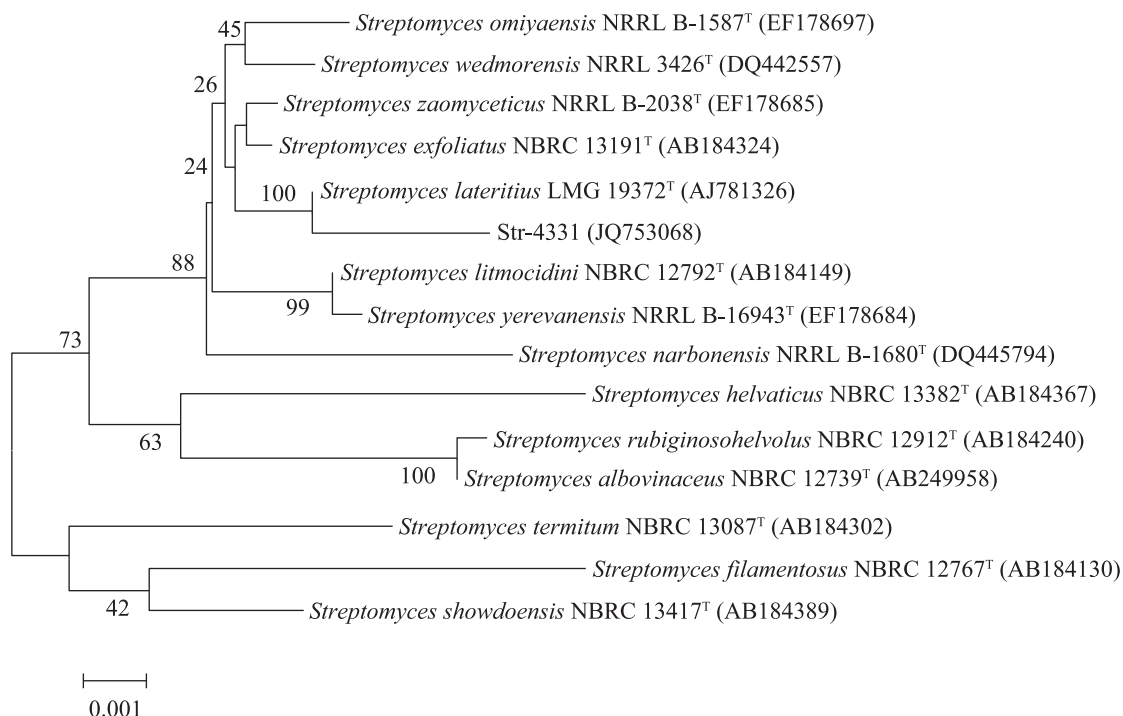


图 2 基于 16S rRNA 序列的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on 16S rRNA sequences

注: 括号内为 GenBank 登录号; 分支点上的数字为自展值百分比; 线段 0.001 为核苷酸替换率。

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank. The number at each branch point is the percentage supported by bootstrap. Bar: 0.001 substitutions per nucleotide position.

2.1.4 紫色素提取: 对提取物进行 TLC 分析发现, 粗提取物中存在两个主要的蓝色组分 B1、B2, 如图 3 所示, R_f 值分别为 0.331 和 0.732。

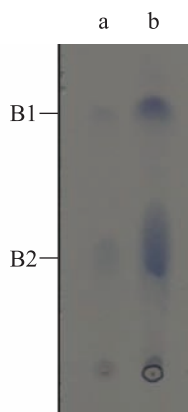


图 3 乙酸乙酯粗提物的薄层色谱

Fig. 3 TLC of the ethyl acetate extracts

注: a: 10 mg/L 的粗提物甲醇溶液; b: 1 g/L 的粗提物甲醇溶液。

Notes: a: 10 mg/L of crude extracts methanol solution; b: 1 g/L of crude extracts methanol solution.

2.1.5 紫色素溶解性及色泽变化: 实验证明, 紫罗兰色素为水溶性色素, 能溶于甲醇、乙醇、丙酮等有机溶剂中, 在酸性环境中为砖红色, 在中性环境中为紫色, 在碱性环境下为蓝色(图 4)。

2.1.6 紫色素拮抗性测定: 实验表明, 对所试金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、藤黄微球菌, 粗

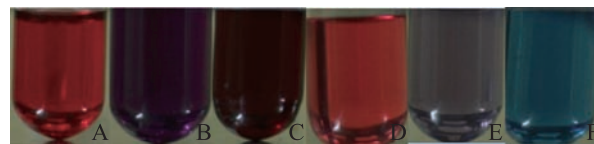


图 4 紫罗兰色素溶解性能及不同 pH 水溶液中颜色变化

Fig. 4 The dissolubility and color in the different solvent and varying pH condition

注: A: 乙酸乙酯; B: 乙醇; C: 甲醇; D: 水溶液(酸性); E: 水溶液(中性); F: 水溶液(碱性)。

Notes: A: Ethyl acetate; B: Ethanol; C: Methanol; D: H₂O (H⁺); E: H₂O (neutral); F: H₂O (OH⁻).

提物在 0.1 g/L 的低浓度下均有明显的抑菌圈产生。如图 5 所示: 表明其对革兰氏阳性细菌有较强的光谱抑制作用, 高浓度下对铜绿假单胞菌也有抑制作用, 这表明其对部分革兰氏阴性菌也有不同程度的抑制作用。

2.1.7 紫色素的 HPLC 及 HPLC-MS 分析: HPLC 结果显示, 紫色素提取物中含有 2 个主要成分, 与 2.1.4 薄层结果一致。HPLC-MS 结果如图 6 所示: 在做紫色素粗提取物全物质质谱扫描时发现, m/z 分别为 445.5、485.18、552.5、557.68、588.43 的物质为紫色素里的主要成分, 分别以各自 m/z 为筛选条件, 进行 HPLC-MS 全过程 MS 筛选, 如图 6A(a)所示, 物质中总离子数量曲线图与液相分离一致, 有两个峰值, 分别在保留时间 6.94、10.59 s 处, 以 $m/z=557.50-558.50$ 为筛选条件扫描结果如图 6A(b), $m/z=558$ 的物质主要集中在保留时间 6.93 s 处, 说明这个物质主要出现在液相分离过程保留时间 6.93 s 时, 以 $m/z=484.50-485.50$ 为筛选条件扫描结果如图 6A(d), $m/z=485$ 的物质全部出现在 10.59 s 处, 与液相分离结果一致, 说明该物质得到很好的分离纯化, 以 $m/z=587.50-588.50$ 为筛选条件扫描结果如图

6A(f), $m/z=588$ 的物质几乎全部出现在保留时间 6.94 s 处, 与液相结果一致。以 $m/z=444.50-445.50$ 及 542.50-543.50 为筛选条件扫描结果如图 6A(c) 和 6A(e), 这些物质不是混合物中的主要成分, 可能是空气中物质的影响, MS 分析结果见图 6B、图 6C、图 6D。图 6B 中 $m/z=485.18$ 的物质占据优势, 因此, 该物质可能为纯品, 分离度高; 图 6C 中 $m/z=588.43$ 的物质最多, 具有相对优势, 为主要物质成分; 图 6D 中 $m/z=577.68$ 的物质为占据优势, 物质纯度高, 与液相分离结果一致。

3 结论

根据秦巴山区特殊生态环境, 分离并保藏不同生境下的微生物资源, 制备微生物代谢产物, 筛选活性物质, 建立从菌种资源采集到代谢产物筛选的数据库。目前, 已经筛选活性物质近百个, 发现新记录种 5 个, 疑似新种 2 个。秦巴山区微生物代谢产物数据库已经基本建成, 用户可以分享数据, 通过数据库平台交换信息, 进行资源共享(图 7)。秦巴山地区拥有丰富的微生物物种资源, 具有潜在的开发价值。

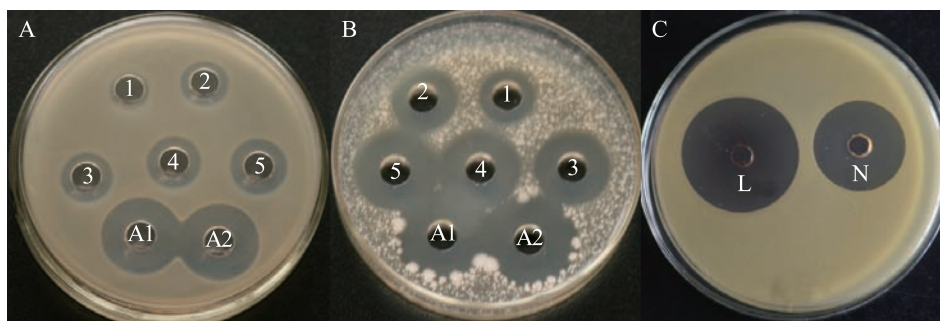
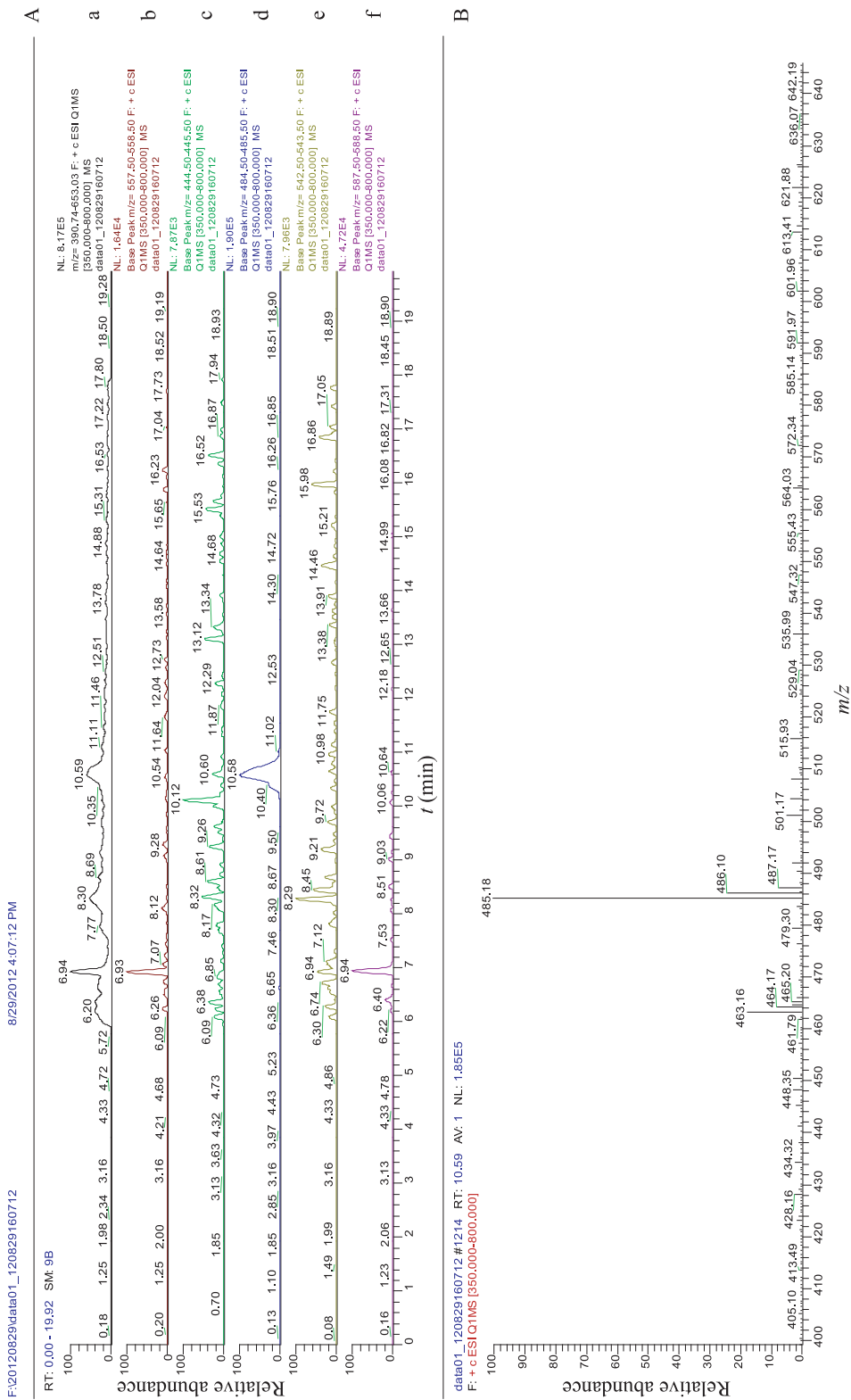


图 5 菌株 Str-4331 发酵液粗提取物的抑菌活性

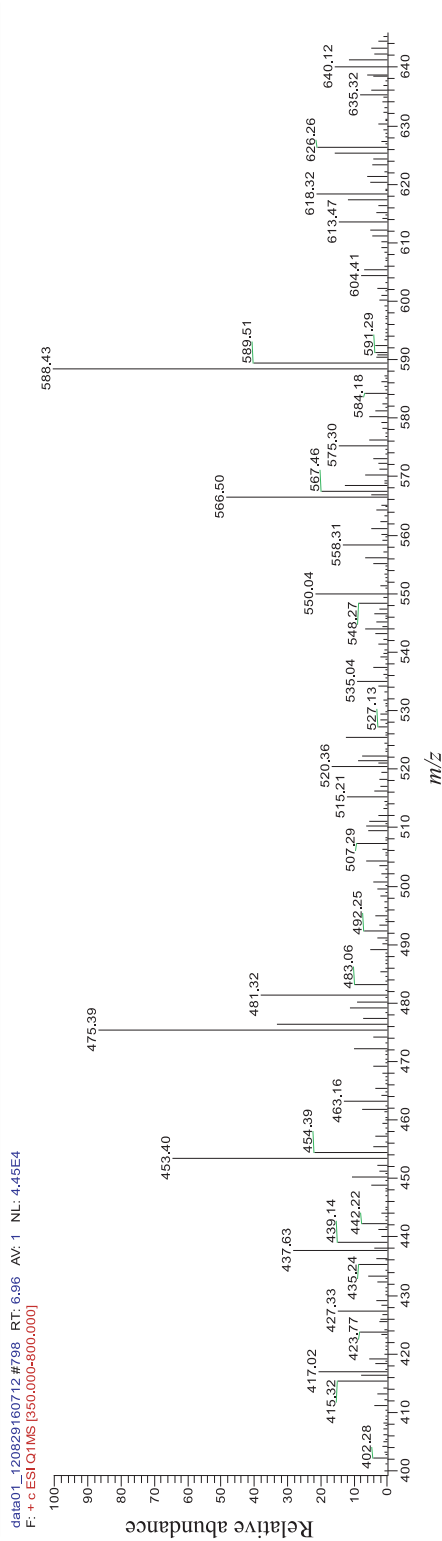
Fig. 5 Antimicrobial activity of Crude extracts of the fermentation broth by the strain Str-4331

注: A: 金黄色葡萄球菌; B: 枯草芽孢杆菌. 1-5: 2、4、6、8、10 UI/mL 的抗生素; A1、A2: 发酵液粗提物, 浓度为 0.1 g/L. C: 藤黄微球菌, L: 发酵液粗提物, 浓度为 0.1 g/L; N: 10 UI/mL 的抗生素.

Notes: A: *Staphylococcus aureus*; B: *Bacillus subtilis*. 1-5: 2, 4, 6, 8, 10 UI/mL antibiotic; A1, A2: The crude extracts, the concentration is 0.1 g/L. C: *Micrococcus luteus*, L: The crude extracts, the concentration is 0.1 g/L; N: 10 UI/mL antibiotic.



C



D

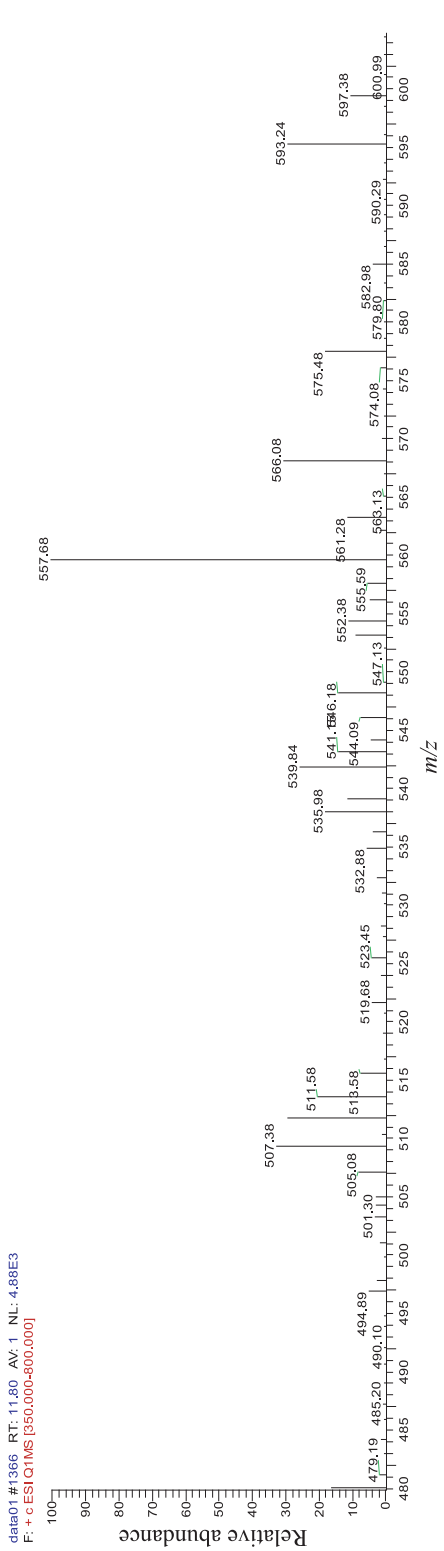


图 6 紫色色素粗提取物 HPLC-MS 分析

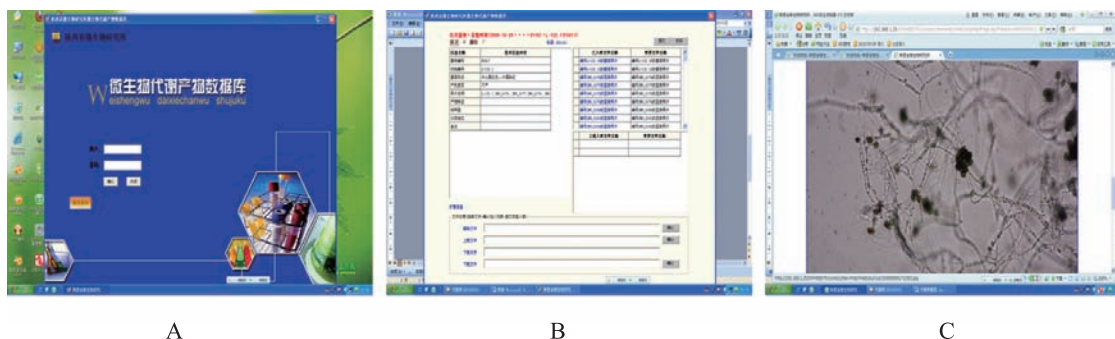


图 7 微生物代谢产物数据库共享平台

Fig. 7 Information sharing platform of microbial metabolic library

注: A: 数据库界面; B: 菌种及代谢产物文字信息; C: 菌种图片信息。

Notes: A: Database interfaces; B: The information of the strain and the metabolic library; C: Picture message of the strain.

从该地区土壤样本中分离获得一株产水溶性紫罗兰蓝色素的放线菌, 经形态、培养特征、生理生化特征以及 16S rRNA 序列系统聚类分析等, 将该菌株确定为砖红链霉菌(*S. lateritius*)。该菌种首次在本地区分离到。

文献报道表明, 砖红链霉菌可产生榴菌素及榴菌素 B (鼠李糖基化的榴菌素)。榴菌素(榴菌素 B)具有多种生物活性, 除了具有较强的抗革兰氏阳性菌的活性以外, 近年来研究发现, 榴菌素 B 还是氨酰 tRNA 合成酶、FTase、IMPDH 等多个药物靶标酶的抑制剂^[13-22]。本研究所获得的砖红链霉菌的代谢物在酸性环境显红色, 碱性呈现紫罗兰色, 液-质联用分析表明, 该代谢物中含有分子量为 558 kD 的物质(其分子量同榴菌素 B); 抑菌实验表明, 其抑菌谱和榴菌素 B 抑菌谱相同。根据以上实验结果, 初步推测本研究获得的砖红链霉菌代谢物中可能含有榴菌素 B^[23-26]。因此, 该菌株具有进一步研究开发价值。

参 考 文 献

- [1] 李欧, 缪克排. 链霉菌次级代谢研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2005, 30(11): 695-698.
- [2] Pelaez F. The historical delivery of antibiotics from microbial natural products—Can history repeat?[J]. Biochemical Pharmacology, 2006, 71(7): 981-990.
- [3] Overbye KM, Barrett JF. Antibiotics: where did we go wrong?[J]. Drug Discovery Today, 2005, 10(1): 45-52.
- [4] Bull AT, Stach JE, Ward AC, et al. Marine actinobacteria: perspectives, challenges, future directions[J]. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 2005, 87(1): 65-79.
- [5] 瓦克斯曼 SA. 放线菌属和种的分类、鉴定和描述(第2卷)[M]. 阎逊, 译. 北京: 科学出版社, 1974.
- [6] Turbycille TJ, Wijeratne EMK, Liu MX, et al. Search for Hsp90 inhibitors with potential anticancer activity: isolation and SAR studies of *Radicicol* and *Monocillin I* from two plant-associated fungi of the Sonoran desert[J]. Journal of Natural Products, 2006, 69(2): 178-184.
- [7] 徐丽华, 李文均, 刘志恒, 等. 放线菌系统学——原理、方法及实践[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [8] Lechevalier MP. Actinomycetes in agriculture and forestry[A].//Goodfellow M, Williams ST, Mordarski M. Actinomycetes in Biotechnology[M]. New York: Academic, 1989: 327-358.
- [9] Wijeratne EMK, Carbonezi CA, Takahashi JA, et al. Isolation, optimization of production and structure-activity relationship studies of monocillin[J].

- Journal of Antibiotics, 2004, 57(8): 541–546.
- [10] Zhan J, Wijeratne EMK, Seliga CJ, et al. A new anthraquinone and cytotoxic curvularins of a *Penicillium* sp. from the rhizosphere of fallugia paradoxa of the Sonoran desert[J]. Journal of Antibiotics, 2004, 57(5): 341–344.
- [11] Gutiérrez M, Theoduloz C, Rodrigues J, et al. Bioactive metabolites from the fungus *Nectria galligena*, the main apple canker agent in Chile[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(20): 7701–7708.
- [12] Lynch JM, Crook NE. Biological control systems[M]. Chem Ber 1992: 42–45.
- [13] Chang C, Floss HG, Soong P, et al. Identity of antitumor antibiotic litmomycin with granaticin A[J]. Journal of Antibiotics, 1975, 28(2): 156–156.
- [14] Tao J, Schimmel P. Inhibitors of aminoacyl-tRNA synthetases as novel anti-infectives[J]. Expert Opinion on Investigational Drugs, 2000, 9(8): 1767–1775.
- [15] Iwasaki S, Omura S. Search for protein farnesyltransferase inhibitors of microbial origin: our strategy and results as well as the results obtained by other groups[J]. The Journal of Antibiotics, 2007, 60(1): 1–12.
- [16] Goodsell DS. The molecular perspective: the *ras* oncogene[J]. Oncologist, 1999, 4(3): 263–264.
- [17] Agrawal AG, Somani RR. Farnesyltransferase inhibitor as anticancer agent[J]. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2009, 9(6): 638–652.
- [18] Brunner TB, Hahn SM, Gupta AK, et al. Farnesyltransferase inhibitors: an overview of the results of preclinical and clinical investigations[J]. Cancer Research, 2003, 63(18): 5656–5668.
- [19] 任晓, 郑智慧, 路新华, 等. 次黄嘌呤核苷酸脱氢酶抑制剂 N01WB-352A、B 的研究[R]. 石家庄: 中国药学会学术年会第八届中国药师周论文集, 2008: 539–544.
- [20] Chen L, Pankiewicz KW. Recent development of IMP dehydrogenase inhibitors for the treatment of cancer[J]. Current Opinion in Drug Discovery and Development, 2007, 10(4): 403–412.
- [21] Jager W, Salamon A, Szekeres T. Metabolism of the novel IMP dehydrogenase inhibitor benzamide riboside[J]. Medicinal Chemistry Reviews-Online, 2004, 1(2): 225–229.
- [22] Ratcliffe AJ. Inosine 5'-monophosphate dehydrogenase inhibitors for the treatment of autoimmune diseases[J]. Current Opinion in Drug Discovery and Development, 2006, 9(5): 595–605.
- [23] Fleck WF, Strauss DG, Prauser H. Naphthoquinone antibiotics from *Streptomyces lateritius* I. Fermentation, isolation and characterization of granatomycins A, C, and D[J]. Zeitschrift für allgemeine Mikrobiologie, 1980, 20(9): 543–551.
- [24] Pyrek JSt, Achmatowicz O Jr, Zamojski A. Naphto- and anthraquinones of *Streptomyces thermoviolaceus* WR-141. Structures and model syntheses[J]. Tetrahedron, 1977, 33(6): 673–680.
- [25] Elson AL, Box SJ, Elson AL, et al. New quinone antibiotics of the granaticin type, isolated from *Streptomyces lateritius* I. Production, isolation and properties[J]. The Journal of Antibiotics, 1988, 41(4): 570–572.
- [26] Gilpin ML, Box SJ, Elson AL. New quinone antibiotics of the granaticin type, isolated from *Streptomyces lateritius* II. Structure determination[J]. The Journal of Antibiotics, 1988, 41(4): 512–518.