

茯砖茶中冠突散囊菌的次级代谢产物及其生物活性研究

彭晓赞^{1,2}, 梁法亮¹, 李冬利¹, 陈玉婵¹, 陶美华¹, 章卫民^{1*}, 赵运林^{2*}

1. 广东省微生物研究所 广东省菌种保藏与应用重点实验室 广东省微生物应用新技术公共实验室 广东省华南应用微生物重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 广东 广州 510070
2. 湖南城市学院化学与环境工程学院 黑茶研究所, 湖南 益阳 413000

摘要: **目的** 研究茯砖茶中冠突散囊菌 *Eurotium cristatum* 的次级代谢产物及其生物活性。**方法** 采用正、反相硅胶柱、凝胶柱和薄层制备等色谱方法和重结晶技术进行分离纯化, 通过各种波谱技术进行结构鉴定; 以3种肿瘤细胞 SF-268、MCF-7 和 NCI-H460 为供试细胞株, 采用 SRB 法对化合物进行细胞毒活性研究; 以金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、肠炎沙门氏菌肠炎亚种、痢疾志贺氏菌和普通变形杆菌等肠道致病菌为供试细菌, 采用 MTT 法对化合物进行抗菌活性研究。**结果** 从茯砖茶中冠突散囊菌发酵液提取物中分离得到9个化合物, 分别鉴定为大黄素甲醚(1)、1,5-二羟基-3-甲氧基-7-甲基蒽醌(2)、灰绿曲霉黄色素(3)、2-(2',3-环氧基-1',3'-庚二烯基)-6-羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)苯甲醛(4)、2-(2',3-环氧基-1',3'5'-庚三烯基)-6-羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)苯甲醛(5)、2-(3E,5E-庚二烯基)-3,6-二羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)苯甲醛(6)、酪醇(7)、对羟基苯甲酸(8)、苔黑酚(9)。活性测试结果显示化合物3~6对3种肿瘤细胞株有较好的细胞毒活性; 除化合物1和6外, 其他化合物对普通变形杆菌具有明显的抑制活性, 其中化合物9还对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌表现出很好的抑菌效果。**结论** 苯甲醛类化合物是冠突散囊菌的主要代谢产物, 化合物7和9为首次从该属真菌中分离得到, 化合物2、3、5、6和8均为首次从该真菌中分离得到。

关键词: 茯砖茶; 冠突散囊菌; 次级代谢产物; 抗菌活性; 细胞毒活性; 苯甲醛; 苔黑酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)14-1881-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.14.004

Secondary metabolites of *Eurotium cristatum* from Fu Brick Tea and their biological activities

PENG Xiao-yun^{1,2}, LIANG Fa-liang¹, LI Dong-li¹, CHEN Yu-chan¹, TAO Mei-hua¹, ZHANG Wei-min¹, ZHAO Yun-lin²

1. State Key Laboratory of Applied Microbiology (Ministry-Guangdong Province Jointly Breeding Base), South China, Guangdong Open Laboratory of Applied Microbiology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510070, China
2. Dark Tea Institute of Yiyang City, Department of Chemistry and Environment Engineering, Hunan City College, Yiyang 413000, China

Abstract: Objective To study the secondary metabolites of *Eurotium cristatum* from Fu Brick Tea and their biological activities. **Methods** The compounds were isolated by various column chromatographies on normal phase silica gel, reversed silica gel, Sephadex LH-20, preparative TLC, and recrystallization. The structures were identified by the extensive analysis on their spectroscopic data. The inhibitory effects of compounds 1—9 against SF-268, MCF-7, and NCI-H460 cell lines were tested *in vitro* by SRB method. The inhibitory effects of compounds 2—9 on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *Shigella dysenteriae*, and *Proteus vulgaris* were tested by MTT method. **Results** Nine compounds were isolated from the extract of liquid fermentation broth of *E. cristatum* in Fu Brick Tea and identified as physcion (1), 1,5-dihydroxy-3-methoxy-7-methyl-anthracene-9,

收稿日期: 2012-12-13

基金项目: 湖南省科技计划重点项目(2012WK2013); 湖南省教育厅一般项目(12C0576); 湖南省高校产学研合作示范基地产业化项目(11CY003, 11CY004)

作者简介: 彭晓赞(1983—), 女, 讲师, 研究方向为菌物开发与利用。Tel: 13549739907 E-mail: bsfnhd@163.com

*通信作者 章卫民 Tel: (020)37656321 E-mail: wmzhang58@qq.com

赵运林 Tel: (0737)4628888 E-mail: zy18291290@163.com

10-dione (2), flavoglucin (3), 2-(2', 3-epoxy-1', 3'-heptadienyl)-6-hydroxy-5-(3-methyl-2-butenyl) benzaldehyde (4), 2-(2', 3-epoxy-1', 3', 5'-heptatrienyl)-6-hydroxy-5-(3-methyl-2-butenyl) benzaldehyde (5), isodihydroauroglucin (6), tyrosol (7), *p*-hydroxybenzoic acid (8), and orcinol (9). The results of the bioactivity test showed that compounds 3—6 displayed the good cytotoxic activities against the three tumor cell lines, and all the compounds exhibited the strong inhibitory activities against *P. vulgaris* except compounds 1 and 6. Besides, compound 9 also showed the significant inhibitory effects against *S. aureus* and *E. coli*. **Conclusion** The benzaldehyde compounds are considered as the main metabolites of *E. cristatum*, compounds 7 and 9 are reported from the species of genus *Eurotium* Link: Fr. for the first time and compounds 2, 3, 5, 6, and 8 are firstly isolated from the fungus.

Key words: Fu Brick Tea; *Eurotium cristatum* (Raper & Fennell) Malloch & Cain; secondary metabolites; antibacterial activity; cytotoxicity; benzaldehyde; orcinol

茯砖茶是湖南地区黑茶产业中的高档品,属于后发酵型黑茶,主销中国西北边疆少数民族地区,是当地民众日不可缺的生活必需品^[1]。茯砖茶有别于其他茶种的关键在于加工过程中的“发花”工艺。“发花”的实质是通过控制一定的外界条件,促使微生物优势菌——冠突散囊菌 *Eurotium cristatum* (Raper & Fennell) Malloch & Cain 的生长繁殖,产生金黄色的闭囊壳^[2]。该菌俗称“金花”,人们往往通过判断“金花”的质量和数量来衡量茯砖茶的品质优劣。由于该菌以黑茶为基质,经发酵使得黑茶的成分发生了很大变化,产生了大量氧化产物和水解产物,以及有机酸等活性物质,不仅形成了黑茶特有的色香味,也使黑茶具有了调脂减肥、改善人体消化道功能、治疗心血管疾病等保健功效^[3]。然而,以往对茯砖茶的化学成分与保健功效研究是以含有冠突散囊菌的茯砖茶作为研究材料^[4-5],未单独对冠突散囊菌的化学成分及其活性进行研究。为了探明冠突散囊菌对茯砖茶品质产生影响的化学物质基础,本实验通过发酵培养对该菌的次级代谢产物及其生物活性进行研究,共分离得到9个化合物,分别鉴定为大黄素甲醚(physcion, 1)、1,5-二羟基-3-甲氧基-7-甲基蒽醌(1, 5-dihydroxy-3-methoxy-7-methyl-anthracene-9, 10-dione, 2)、灰绿曲霉黄色素(flavoglucin, 3)、2-(2', 3-环氧基-1', 3'-庚二烯基)-6-羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)苯甲醛[2-(2', 3-epoxy-1', 3'-heptadienyl)-6-hydroxy-5-(3-methyl-2-butenyl) benzaldehyde, 4]、2-(2', 3-环氧基-1', 3' 5'-庚三烯基)-6-羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)苯甲醛[2-(2', 3-epoxy-1', 3', 5'-heptatrienyl)-6-hydroxy-5-(3-methyl-2-butenyl) benzaldehyde, 5]、2-(3E, 5E-庚二烯基)-3, 6-二羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)苯甲醛(isodihydroauroglucin, 6)、酪醇(tyrosol, 7)、对羟基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid, 8)、苔黑酚(orcinol, 9)。其中,化合物7和9为首次从该属真

菌中分离得到,化合物2、3、5、6和8均为首次从该真菌中分离得到。

1 仪器与材料

Avance II 核磁共振波谱仪(Bruker 公司); PZ1000B 旋转式大容量普通摇床(武汉瑞华仪器有限公司);超净工作台(上海恒益科技有限公司);柱色谱硅胶(100~200、200~300 目)(青岛海洋化工厂);GF254 高效薄层硅胶板(Merck 公司);C₁₈ 反相硅胶(40~75 μm, Fuji Silysia Chemical Ltd.);凝胶 Sephadex LH-20(18~110 μm, Amersham Biosciences);溶剂及试剂均为分析纯,购自广州化学试剂厂。

供试肿瘤细胞株为神经胶质瘤细胞SF-268,乳腺癌细胞MCF-7和肺癌细胞NCI-H460,由江苏省药用植物生物技术重点实验室蒋继宏教授提供;肠道致病菌为金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Rosenbach)、大肠杆菌 [*Escherichia coli* (Migula) Castellani et Chalmers]、肠炎沙门氏菌肠炎亚种 [*Salmonella enterica* subsp. *enterica* (ex Kauffmann & Edwards) Le Minor & Popoff]、痢疾志贺氏菌 [*Shigella dysenteriae* (Shiga) Castellani & Chalmers] 和普通变形杆菌(*Proteus vulgaris* Hauser),所有肿瘤细胞株和菌株均保存于广东省微生物研究所菌种保藏中心。

冠突散囊菌从湖南益阳茶厂的茯砖茶中分离获得^[2],经广东省微生物研究所章卫民研究员鉴定为冠突散囊菌 *Eurotium cristatum* (Raper & Fennell) Malloch & Cain, 保存于湖南城市学院生物工程实验室。

2 发酵培养

发酵培养基为0.4%茯砖茶提取液,马铃薯20%,蔗糖2%,pH值自然,用接种针挑取适量冠突散囊菌菌体,接种到装有100 mL培养液的250 mL锥形瓶中,在25℃、130 r/min的条件下摇床培养3 d,

得种子液。将该种子液按 3% 的接种量接种到装有 250 mL 培养液的三角瓶中, 培养条件与种子液相同, 培养时间为 9 d, 共获得发酵产物 100 L。

3 提取与分离

100 L 发酵产物经滤过得发酵液, 发酵液以醋酸乙酯萃取 5 次, 减压浓缩得粗提物浸膏 32.8 g。浸膏过硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯、氯仿-甲醇梯度洗脱, 薄层色谱检测, 茴香醛-浓硫酸试剂显色, 合并相似组分, 再经反相硅胶柱色谱, Sephadex LH-20 凝胶色谱和制备薄层色谱分离, 得化合物 **1** (3.5 mg)、**2** (2.4 mg)、**3** (8.3 mg)、**4** (4.9 mg)、**5** (2.2 mg)、**6** (17.7 mg)、**7** (5.5 mg)、**8** (5.1 mg)、**9** (4.1 mg)。

4 结构鉴定

化合物 **1**: 橙黄色粉末 (三氯甲烷)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 12.39 (1H, s, 1-OH), 12.14 (1H, s, 8-OH), 7.64 (1H, s, H-5), 7.39 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-4), 7.09 (1H, s, H-7), 6.70 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-2), 3.95 (3H, s, H-12), 2.46 (3H, s, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 190.8 (C-9), 182.1 (C-10), 166.6 (C-3), 165.2 (C-1), 162.5 (C-8), 148.5 (C-6), 135.3 (C-10a), 133.2 (C-4a), 124.5 (C-7), 121.3 (C-5), 113.7 (C-8a), 110.3 (C-9a), 108.2 (C-4), 106.8 (C-2), 56.1 (C-12), 22.2 (C-11)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **1** 为大黄素甲醚。

化合物 **2**: 红色粉末 (甲醇)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.46 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8), 7.06 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 7.00 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-6), 6.43 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 3.90 (3H, s, H-12), 2.39 (3H, s, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 185.5 (C-9), 184.6 (C-10), 177.8 (C-3), 165.0 (C-1), 162.0 (C-5), 145.3 (C-7), 136.8 (C-8a), 133.0 (C-4a), 123.5 (C-8), 118.5 (C-6), 115.3 (C-9a), 113.7 (C-10a), 107.4 (C-4), 106.1 (C-2), 54.6 (C-12), 20.4 (C-11)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **2** 为 1, 5-二羟基-3-甲氧基-7-甲基蒽醌。

化合物 **3**: 黄色粉末 (三氯甲烷)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 11.94 (1H, s, OH-6), 10.26 (1H, s, H-7), 6.90 (1H, s, H-4), 5.29 (1H, m, H-2''), 3.31 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 2.89 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 1.77 (3H, s, H-4''), 1.71 (3H, s, H-5''), 0.89 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-7'), 以及 5 个重叠的亚甲基多重峰信号 1.43~1.23 (H-2'~6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3)

δ : 195.6 (C-7), 155.8 (C-6), 145.0 (C-3), 133.9 (C-3''), 128.6 (C-2), 128.5 (C-5), 125.7 (C-4), 121.2 (C-2''), 117.3 (C-1), 32.0 (C-2'), 31.8 (C-5'), 29.6 (C-3'), 29.1 (C-4'), 27.0 (C-1''), 25.8 (C-4''), 24.0 (C-1'), 22.6 (C-6'), 17.8 (C-5''), 14.1 (C-7')。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定为灰绿曲霉黄色素。

化合物 **4**: 黄色油状。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 11.72 (1H, s, 6-OH), 10.25 (1H, s, H-7), 7.47 (1H, s, H-4), 6.74 (1H, s, H-1'), 6.51 (1H, dt, $J = 15.7, 7.1$ Hz, H-4'), 6.35 (1H, dt, $J = 15.7, 1.4$ Hz, H-3'), 5.36 (1H, m, H-2''), 3.43 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 2.43 (2H, m, H-5'), 1.79 (3H, s, H-4''), 1.73 (3H, s, H-5''), 1.55 (2H, m, H-6'), 0.99 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-7'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 193.0 (C-7), 157.7 (C-6/2'), 148.5 (C-3), 135.4 (C-4'), 134.1 (C-3''), 128.7 (C-2), 126.4 (C-5), 121.3 (C-2''), 119.4 (C-4), 118.4 (C-3'), 110.8 (C-1), 98.9 (C-1'), 35.1 (C-5'), 27.5 (C-1''), 25.8 (C-4''), 22.2 (C-6'), 17.8 (C-5''), 13.7 (C-7')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为 2-(2', 3'-环氧基-1', 3'-庚二烯基)-6-羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基) 苯甲醛。

化合物 **5**: 黄色粉末 (三氯甲烷)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 11.74 (1H, s, 6-OH), 10.25 (1H, s, H-7), 7.47 (1H, s, H-4), 6.96 (1H, dd, $J = 15.0, 10.0$ Hz, H-4'), 6.80 (H, s, H-1'), 6.33 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-3'), 6.24 (1H, m, H-5'), 5.98 (1H, m, H-6'), 5.36 (1H, m, H-2''), 3.42 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1''), 1.87 (3H, d, $J = 5.0$ Hz, H-7'), 1.79 (3H, s, H-4''), 1.73 (3H, s, H-5''); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 192.9 (C-7), 157.8 (C-6), 157.7 (C-2'), 148.7 (C-3), 134.1 (C-3''), 133.8 (C-6'), 132.5 (C-4'), 131.2 (C-5'), 128.8 (C-2), 126.8 (C-5), 121.2 (C-2''), 119.3 (C-4), 116.7 (C-3'), 110.7 (C-1), 100.1 (C-1'), 27.6 (C-1''), 25.8 (C-4''), 18.9 (C-7'), 17.9 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **5** 为 2-(2', 3'-环氧基-1', 3', 5'-庚三烯基)-6-羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基) 苯甲醛。

化合物 **6**: 黄色粉末 (三氯甲烷)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 11.94 (1H, s, 6-OH), 10.22 (1H, s, H-7), 6.92 (1H, s, H-4), 6.02 (2H, m, H-4', 5'), 5.60 (2H, m, H-3', 6'), 5.28 (1H, m, H-2''), 3.28 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''), 3.0 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 2.34 (2H, q, $J = 7.6$ Hz, H-2'), 1.75 (3H, s, H-4''), 1.72 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-7'), 1.69 (3H, s, H-5''); $^{13}\text{C-NMR}$ (125

MHz, CDCl₃) δ : 195.6 (C-7), 155.7 (C-6), 145.3 (C-3), 133.6 (C-3''), 132.0 (C-4'), 131.2 (C-6'), 129.5 (C-5'), 128.9 (C-2), 128.3 (C-3'), 127.5 (C-5), 125.9 (C-4), 121.2 (C-2''), 117.3 (C-1), 34.2 (C-1'), 27.1 (C-1''), 25.8 (C-4''), 24.1 (C-2'), 18.1 (C-7'), 17.8 (C-5''). 以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为 2-(3*E*, 5*E*-庚二烯基)-3, 6-二羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基) 苯甲醛。

化合物 **7**: 白色结晶(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.05 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-3, 5), 6.71 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-2, 6), 3.69 (2H, t, J = 7.1 Hz, H-8), 2.72 (2H, t, J = 7.1 Hz, H-7); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 155.4 (C-1), 129.6 (C-4), 129.5 (C-2, 6), 114.7 (C-3, 5), 63.2 (C-8), 38 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为酪醇。

化合物 **8**: 白色粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.82 (2H, m, H-2, 6), 6.74 (2H, m, H-3, 5); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 174.4 (C-7), 159.7 (C-4), 130.9 (C-2, 6), 128.5 (C-1), 113.9 (C-3, 5)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **8** 为对羟基苯甲酸。

化合物 **9**: 橘红色粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.11 (2H, t, J = 2.0 Hz, H-4, 6), 6.06 (1H, t, J = 2.0 Hz, H-2), 2.13 (3H, s, H-7); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 158.0 (C-1, 3), 139.7 (C-5),

107.1 (C-4/6), 99.4 (C-2), 20.2 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **9** 为苕黑酚。

5 细胞毒活性研究

采用 SRB 法^[14]测定化合物 **1~9** 的细胞毒活性: 取对数生长期的 NCI-H460、SF-268、MCF-7 细胞, 用胰酶消化, 台盼蓝染色计数, 台盼蓝排斥实验检测细胞活力大于 95% 后, 用新鲜培养基调整细胞浓度为 3×10^4 个/mL, 细胞接种于 96 孔板, 每孔加入 180 μ L 的细胞悬液, 并设空白孔调零, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养 24 h。待细胞贴壁后, 每孔加入 20 μ L 待测样品, 阴性对照加 20 μ L 培养基, 以顺铂作阳性对照。置 CO₂ 培养箱中培养 72 h 后, 加入 50 μ L 50% 冷三氯醋酸固定细胞, 4 $^{\circ}$ C 放置 1 h 后用蒸馏水洗涤 5 次, 空气中自然干燥。然后加入由 1% 冰醋酸配制的 SRB 4 mg/mL 溶液 100 μ L/孔, 室温中染色 30 min, 去上清, 用 1% 冰醋酸洗涤 5 次, 空气干燥。最后加入 200 μ L/孔 10 mmol/mL 的 Tris 溶液, 用酶标仪测定 570 nm 处的吸光度 (A) 值, 计算对细胞生长的抑制率; 使用 SigmaPlot 10.0 软件拟合非线性曲线, 并计算 IC₅₀ 值。

$$\text{抑制率} = 1 - A_{\text{样品}} / A_{\text{空白对照}}$$

结果表明化合物 **3~6** 对 3 种肿瘤细胞株均具有较好的抑制作用, 抑制率在 91%~98%, 其他化合物表现较弱或无抑制作用(表 1)。进一步测试化合物 **3~6** 对这 3 种肿瘤细胞的 IC₅₀ 值, 结果表明化合

表 1 化合物 **1~9** 对 3 种肿瘤细胞株的抑制率 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 1 Inhibitory rates of compounds **1~9** against three tumor cell lines ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

化合物	$\rho / (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	抑制率 / %		
		SF-268	MCF-7	NCI-H460
1	100	31.51 $\pm$ 2.05	6.36 $\pm$ 1.63	3.39 $\pm$ 0.25
2	100	15.89 $\pm$ 0.30	2.32 $\pm$ 0.40	2.47 $\pm$ 0.16
3	100	96.37 $\pm$ 0.62	95.80 $\pm$ 0.21	98.79 $\pm$ 0.57
4	100	96.39 $\pm$ 0.35	96.96 $\pm$ 0.86	97.90 $\pm$ 2.20
5	100	92.44 $\pm$ 0.22	91.13 $\pm$ 2.51	93.08 $\pm$ 0.30
6	100	94.98 $\pm$ 0.70	93.19 $\pm$ 0.72	98.24 $\pm$ 0.46
7	100	22.25 $\pm$ 1.61	2.18 $\pm$ 0.17	0.05 $\pm$ 1.18
8	100	23.67 $\pm$ 1.98	0.86 $\pm$ 2.45	-0.24 $\pm$ 2.50
9	100	16.54 $\pm$ 3.75	2.14 $\pm$ 0.63	0.08 $\pm$ 0.19
顺铂	100	94.25 $\pm$ 0.18	93.60 $\pm$ 2.98	98.47 $\pm$ 0.79

物 **4** 的细胞毒活性最强, 对 SF-268、MCF-7 和 NCI-H460 的 IC₅₀ 分别为 5.70、6.64、8.67 μ g/mL (表 2)。

6 抗菌活性研究

采用改良后的 MTT 法^[15]测试化合物 **2~9** 的抗菌活性。以含 0.1% 蛋白胨的生理盐水作为稀释

液, 将供试菌稀释至 1×10^6 cfu/mL 的菌悬液, 化合物样品稀释至 1 mg/mL, 分别吸取 90 μ L 的菌悬液和 10 μ L 的样品稀释液加入到 EP 管中, 以 10 μ L 生理盐水稀释液作为空白对照, 以 10 μ L 质量浓度为 200 μ g/mL 的氨苄青霉素(抗革兰阳性菌)或硫