藤黄酸衍生物的合成及抗肿瘤活性研究

张生烈^{a,b} 李 乾^{a,b} 张 磊^{a,b} 孙昊鹏^{*,a,b} 尤启冬^{*,a,b,c}^(a) 天然药物活性组分与药效国家重点实验室 中国药科大学 南京 210009^(b) 中国药科大学药物化学教研室 南京 210009^(c) 江苏省肿瘤发生与干预重点实验室 中国药科大学 南京 210009

摘要 以藤黄酸为原料, 经过 C-32 位选择性环氧化、高碘酸氧化、甲基化、Jones 氧化、不同条件的酯化、酰胺化等反应步骤, 合成了 17 个藤黄酸衍生物。所有目标化合物的结构均通过核磁共振谱、红外光谱和质谱证实, 并采用 MTT 比色法对所合成的目标化合物进行了体外抗肿瘤细胞生物活性测试。结果表明, 化合物 **5**, **7**, **8**, **13** 对人肝癌细胞 (HepG2)、人结肠癌细胞 (HCT-116) 的增殖抑制活性显著强于藤黄酸。

关键词 藤黄酸; 衍生物; 合成; 抗肿瘤; 生物活性

Synthesis and Bioevaluation of Gambogic Acid Derivatives as Antitumor Agents

Zhang, Shenglie^{a,b} Li, Qian^{a,b} Zhang, Lei^{a,b} Sun, Haopeng^{*,a,b} You, Qidong^{*,a,b,c}^(a) State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009^(b) Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009^(c) Jiangsu Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract Seventeen new compounds were synthesized from gambogic acid (GA) with the structural modification of C-32. The reaction steps included selective epoxidation, periodate oxidation, methylation, Jones oxidation, different conditions of esterification, amidation, etc. The structures of target compounds were confirmed by NMR, IR and MS/ESI techniques. Their antitumor activities were evaluated *in vitro* by MTT assay. The results showed that compounds **5**, **7**, **8** and **13** were more potent than GA to human hepatoma cells (HepG2) and colon carcinoma cells (HCT-116).

Keywords gambogic acid; derivative; synthesis; antitumor; biological activity

藤黄酸(gambogic acid, GA)具有良好的抗肿瘤活性和细胞选择性, 一直以来为人们所重视^[1~3]。为了寻找活性更优的藤黄酸衍生物, 人们对藤黄酸进行了化学结构修饰研究。目前有关藤黄酸衍生物的报道中, 对其结构修饰主要集中在 C-6 酚羟基、C-8 羰基、C-9, C-10 位双键、C-30 羧基、C-32, C-33 双键和 C-37, C-38 双键上 (图 1)。

Zhang 等^[4]研究发现藤黄酸结构中 C-9, C-10 位的双键对于藤黄酸诱导细胞凋亡起到了重要作用, 当双键被还原后, 抗肿瘤活性大大降低; 而 C-6 位的酚羟基和 C-30 位的羧基能够进行多种修饰, 并保持与 GA 相似的

图 1 藤黄酸结构修饰的位点

Figure 1 Structural modification of gambogic acid

* E-mail: youqidong@gmail.com; sunhaopeng@163.com

Received April 18, 2012; revised May 9, 2012; published online May 11, 2012.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 90713038) and the National Key Program for New Drug Development (No. 2009ZX09501-003).

国家自然科学基金(No. 90713038)和重大新药创制科技重大专项(No. 2009ZX09501-003)资助项目。

抗肿瘤活性。He 等^[5]对 GA 的 C-30 位的羧基进行酯化, 得到一系列 GA 衍生物, 不但改善了水溶性, 一些衍生物还显示出比 GA 更好的生物活性。近年来, 我们课题组也在 GA 衍生物的设计合成与生物活性研究方面做了一些工作: Feng 等^[6]合成的化合物 33-氯化转位藤黄酸和 33,37-二氯转位藤黄酸抗肿瘤活性优于 GA; Wang 等^[7]对其进一步研究, 发现了更具潜力的先导物 38,40-环氧化-33-氯化转位藤黄酸, 并对构效关系做了更深入的探讨; Wang 等^[8]对 GA 衍生物的研究中发现, 针对 C-35, C-39 位甲基修饰, C-32, C-33 和 C-37, C-38 双键改造, 可以提高 GA 抗肿瘤活性; Wang 等^[9]以 GA 为原料, 通过微波方法合成了两个新化合物, 活性与 GA 相当, 该合成方法简单、迅速、收率高, 为 GA 衍生物的合成制备提供了新的有效途径和方法。

为了更深入地研究藤黄酸 B 环的异戊烯基侧链, 结合上述的研究成果, 我们重新设计了一系列的 GA 衍生物, 以期得到结构更优化、疗效更显著、特异性更好的先导化合物, 并进一步研究 GA 的构效关系。本文通过在侧链位置引入不同取代基来考察其对藤黄酸抗肿瘤活性的影响。具体思路是以藤黄酸为先导物, 在藤黄酸 32 位碳原子(C-32)上进行结构修饰, 经过 C-32 选择性环氧化、高碘酸断键得醛、甲基化、Jones 氧化、不同条件的酯化、酰胺化等反应步骤, 合成了 17 个藤黄酸衍生物。合成路线见 Scheme 1。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Bruker ARX-300 型核磁共振仪(CDCl₃ 或 DMSO-*d*₆ 为溶剂, TMS 为内标); Nicolet Impact 410 型傅立叶变换红外光谱测定(KBr 压片); Agilent 1946A-MSD 型质谱仪(ESIMS); Q-Tof micro 四极杆飞行时间串联质谱仪(HRMS)。实验所用试剂均为分析纯; 藤黄酸原料自制, 纯度大于 95% (HPLC)。

1.2 32,33-环氧-藤黄酸(2)的合成

在 0 °C 下往 50 mL 的烧瓶中加入 20 mL 的 CH₂Cl₂, 然后加入 500 mg (0.80 mmol) 的藤黄酸(1)及 165 mg (0.96 mmol) 的间氯过氧苯甲酸, 而后自然升温, 室温下搅拌 8 h, 浓缩, 柱层析[V(石油醚): V(乙酸乙酯)=4: 1]洗脱, 得黄色粘稠物 180 mg, 收率为 35%。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 1.27 (s, 3H, 19-H), 1.29~1.33 (m, 3H, 24-H), 1.35~1.38 (m, 1H, 21b-H), 1.41 (s, 3H, 40-H), 1.48 (s, 3H, 35-H), 1.63 (s, 3H, 39-H), 1.66 (s, 2H, 20-H), 1.69 (s, 3H, 29-H), 1.76 (s, 3H, 25-H), 1.94 (s, 3H, 34-H), 2.05~2.07 (m, 2H, 36-H), 2.30~2.32 (m, 1H, 21a-H), 2.52 (d, *J*=9.0 Hz, 1H, 22-H), 2.81~2.84 (m, 1H, 32-H),

2.97 (d, *J*=7.2 Hz, 2H, 26-H), 3.13~3.17 (m, 1H, 31b-H), 3.24~3.27 (m, 1H, 31a-H), 3.50~3.51 (m, 1H, 11-H), 5.08~5.10 (m, 1H, 37-H), 5.36 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 3-H), 6.13~6.17 (m, 1H, 27-H), 6.62 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 4-H), 7.56 (d, *J*=6.9 Hz, 1H, 10-H), 12.76 (s, 1H, 6-OH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 17.6 (C-40), 18.1 (C-34), 20.3 (C-29), 21.6 (C-36), 25.0 (C-21), 25.1 (C-35), 25.8 (C-39), 27.2 (C-36), 27.5 (C-19), 28.9 (C-24), 29.4 (C-26), 30.3 (C-25), 42.2 (C-20), 42.9 (C-33), 44.7 (C-32), 46.3 (C-11), 48.8 (C-22), 79.7 (C-2), 83.1 (C-13), 83.3 (C-23), 86.0 (C-14), 90.4 (C-7), 98.0 (C-5), 106.9 (C-17), 116.5 (C-4), 121.1 (C-37), 126.1 (C-3), 127.1 (C-28), 131.6 (C-38), 133.2 (C-9), 135.2 (C-10), 135.7 (C-27), 158.0 (C-16), 159.2 (C-6), 166.8 (C-18), 171.6 (C-30), 174.1 (C-8), 203.5 (C-12); IR (film) ν : 3428, 2927, 1740, 1713, 1688, 1628, 1436, 1188, 884 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 645 [M+H]⁺。

1.3 17-去异戊烯-17-甲酰基甲基-藤黄酸(3)的合成

将化合物 2 (100 mg, 0.155 mmol) 溶于 10 mL 四氢呋喃中, 0 °C 下加入 HIO₄·2H₂O 40 mg (0.175 mmol), 搅拌, 反应液呈淡黄色透明, 室温反应 1 h 后, 加少量水至反应液中, 乙酸乙酯萃取, 分出乙酸乙酯层, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸镁干燥, 蒸出溶剂, 柱层析[V(石油醚): V(乙酸乙酯)=2: 1]洗脱, 得黄色粘稠物 22 mg, 收率 24%。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 1.28 (s, 3H, 19-H), 1.39~1.43 (m, 1H, 21b-H), 1.45~1.48 (m, 3H, 24-H), 1.64~1.67 (m, 6H, 29-H, 40-H), 1.69 (s, 3H, 39-H), 1.79~1.82 (m, 5H, 20-H, 25-H), 2.10~2.12 (m, 2H, 36-H), 2.31~2.35 (m, 1H, 21a-H), 2.51 (d, *J*=9.0 Hz, 1H, 22-H), 2.95~2.97 (m, 2H, 26-H), 3.30 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, 31b-H), 3.40~3.42 (m, 2H, 31a-H, 11-H), 5.20~5.23 (m, 1H, 37-H), 5.65 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 3-H), 5.92~5.97 (m, 1H, 27-H), 6.57 (d, *J*=10.1 Hz, 1H, 4-H), 7.51 (d, *J*=6.9 Hz, 1H, 10-H), 9.62 (s, 1H, CHO), 12.74 (s, 1H, 6-OH); IR (KBr) ν : 3408, 2935, 1716, 1630, 1587, 1452, 1425, 1380, 1296, 1229, 1129, 789 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 603 [M+H]⁺。

1.4 17-去异戊烯-17-甲酰基甲基-6-甲氧基藤黄酸甲酯(4)的合成

将化合物 3 (50 mg, 0.083 mmol) 溶于 10 mL 丙酮中, 加入无水 K₂CO₃ 115 mg (0.83 mmol), N₂ 保护下室温搅拌, 约 30 min 后滴加 0.1 mL (2.0 mmol) CH₃I, 室温下搅拌反应 24 h。反应完毕后, 过滤除去 K₂CO₃, 浓缩, 柱层析[V(石油醚): V(乙酸乙酯)=4: 1]洗脱, 得淡黄色粘稠物 50 mg, 收率为 96%。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ :

Reagents and conditions: (a) *m*-CPBA, CH₂Cl₂, 0 °C, 35%; (b) HIO₄·2H₂O, THF, r.t., 24%; (c) CH₃I, K₂CO₃, CH₃COCH₃, r.t., 96%; (d) Jones reagent, CH₃COCH₃, 68%; (e) DMAP, EDCI, EtOH, 35%~43%; (f) DMAP, EDCI, THF, 23%~43%; (g) NHS, DCC, CH₂Cl₂, 43%; (h) Amino acids, Et₃N, DMSO, 23%~33%

Scheme 1

1.28 (s, 3H, 19-H), 1.39~1.43 (m, 1H, 21b-H), 1.46~1.51 (m, 3H, 24-H), 1.64 (s, 6H, 29-H, 40-H), 1.69 (s, 3H, 39-H), 1.78~1.81 (m, 5H, 20-H, 25-H), 2.31 (d, *J*=4.8 Hz, 1H, 21a-H), 2.51 (d, *J*=9.0 Hz, 1H, 22-H), 2.58~2.61 (m, 2H, 36-H), 2.93 (d, *J*=7.23 Hz, 2H, 26-H), 3.10 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, 31b-H), 3.33~3.36 (m, 1H, 31a-H), 3.41 (s, 3H, COOCH₃), 3.43~3.47 (m, 1H, 11-H), 3.82 (s, 3H, 6-OCH₃), 5.05~5.07 (m, 1H, 37-H), 5.56 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 3-H), 6.06~6.08 (m, 1H, 27-H), 6.65 (d, *J*=10.7 Hz,

1H, 4-H), 7.51 (d, *J*=6.8 Hz, 1H, 10-H), 9.60 (s, 1H, CHO); IR (KBr) ν : 2971, 1736, 1718, 1710, 1673, 1464, 1383, 1166, 1020 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 631 [M+H]⁺.

1.5 17-去异戊烯-17-羧基甲基-6-甲氧基藤黄酸甲酯(5)的合成

将化合物 4 (20 mg, 0.032 mmol)溶于丙酮 5 mL 中, 0 °C 下滴加 Jones 试剂(2.5 mol/L) 0.015 mL (0.038 mmol), 反应液呈绿色混浊, 反应 0.5 h 后停止反应, 加少量饱和碳酸氢钠水溶液至反应液中, 乙酸乙酯萃取, 分出乙酸

乙酯层, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 蒸出溶剂, 柱层析[$V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 1 : 1$]洗脱, 得黄色粘稠物 14 mg, 收率 68%. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.26 (s, 3H, 24-H), 1.29 (s, 3H, 19-H), 1.38~1.40 (m, 1H, 21b-H), 1.48 (s, 3H, 40-H), 1.65 (s, 3H, 39-H), 1.68 (s, 2H, 20-H), 1.69 (s, 3H, 29-H), 1.76 (s, 3H, 25-H), 2.07~2.11 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.52 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.96~2.98 (m, 2H, 26-H), 3.21~3.25 (m, 1H, 31a-H), 3.26~3.28 (m, 1H, 31b-H), 3.39 (s, 1H, 11-H), 3.42 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.81 (s, 3H, COOCH₃), 5.06~5.08 (m, 1H, 37-H), 5.50 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.95~5.98 (m, 1H, 27-H), 6.71 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.45 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3408, 2935, 1716, 1630, 1587, 1452, 1425, 1380, 1296, 1229, 1129, 789 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 646 $[\text{M}-\text{H}]^-$; HRMS calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{43}\text{O}_{10}$ ($\text{M}+\text{H})^+$ 647.2851, found 647.2835.

1.6 17-去异戊烯-17-乙氧基甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(7)的合成

将化合物 **5** (40 mg, 0.062 mmol) 溶于 5 mL 乙醇中, 加入 DMAP 9 mg (0.074 mmol) 和 EDCI 14 mg (0.074 mmol) 后室温搅拌反应 8 h, 加入饱和 NH_4Cl 水溶液并搅拌 5 min, 乙酸乙酯萃取, 分出乙酸乙酯层, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 蒸出溶剂, 柱层析[$V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 4 : 1$]洗脱, 得黄色油状物 18 mg, 收率 43%. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.24~1.25 (m, 3H, OCH₂CH₃), 1.26~1.28 (m, 3H, 24-H), 1.29 (s, 3H, 19-H), 1.38~1.40 (m, 1H, 21b-H), 1.48 (s, 3H, 40-H), 1.65 (s, 3H, 39-H), 1.68 (s, 2H, 20-H), 1.69 (s, 3H, 29-H), 1.76 (s, 3H, 25-H), 2.08~2.10 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.52 (d, $J=9.0$ Hz, 1H, 22-H), 2.96~2.98 (m, 2H, 26-H), 3.20~3.22 (m, 1H, 31a-H), 3.25~3.29 (m, 1H, 31b-H), 3.43 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.44 (s, 1H, 11-H), 3.81 (s, 3H, COOCH₃), 4.11~5.13 (m, 2H, OCH₂CH₃), 5.04~5.08 (m, 1H, 37-H), 5.50 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.92~5.95 (m, 1H, 27-H), 6.69 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.44 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3383, 2928, 2863, 2714, 2567, 2393, 2215, 1772, 1715, 1564, 1586, 1454, 1425, 1380, 1225, 1126, 1030, 752 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 675 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{39}\text{H}_{47}\text{O}_{10}$ ($\text{M}+\text{H})^+$ 675.3164, found 675.3152.

1.7 17-去异戊烯-17-异丙氧基甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(8)的合成

8 的合成方法同 **7**, 原料为 **5** 和异丙醇, 得到黄色油状物 18 mg, 收率 42%. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.15~1.18 [m, 6H, OCH(CH₃)₂], 1.19 (s, 3H, 19-H),

1.21~1.23 (m, 3H, 24-H), 1.32~1.34 (m, 1H, 21b-H), 1.38 (s, 3H, 40-H), 1.54 (s, 3H, 39-H), 1.59 (s, 2H, 20-H), 1.62 (s, 3H, 29-H), 1.69 (s, 3H, 25-H), 1.94~1.97 (m, 2H, 36-H), 2.11 (s, 1H, 21a-H), 2.45 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.89~2.91 (m, 2H, 26-H), 3.15~3.18 (m, 1H, 31a-H), 3.28~3.30 (m, 1H, 31b-H), 3.36 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.40 (s, 1H, 11-H), 3.74 (s, 3H, COOCH₃), 4.90~4.92 [m, 1H, OCH(CH₃)₂], 4.95~4.97 (m, 1H, 37-H), 5.43 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.83~5.85 (m, 1H, 27-H), 6.62 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.37 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3404, 2932, 2866, 2564, 2469, 2394, 2296, 2115, 1775, 1711, 1658, 1587, 1452, 1420, 1381, 1266, 1081, 1030, 754 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 689 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{49}\text{O}_{10}$ ($\text{M}+\text{H})^+$ 689.3326, found 689.3312.

1.8 17-去异戊烯-17-叔丁氧基甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(9)的合成

9 的合成方法同 **7**, 原料为 **5** 和叔丁醇, 得到黄色油状物 15 mg, 收率 35%. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.17 (s, 3H, 19-H), 1.18~1.20 (m, 3H, 24-H), 1.36 [s, 9H, OC(CH₃)₃], 1.35~1.37 (m, 1H, 21b-H), 1.40 (s, 3H, 40-H), 1.50 (s, 3H, 39-H), 1.61 (s, 2H, 20-H), 1.63 (s, 3H, 29-H), 1.70 (s, 3H, 25-H), 1.90~1.93 (m, 2H, 36-H), 2.10 (s, 1H, 21a-H), 2.44 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.89~2.91 (m, 2H, 26-H), 3.12~3.15 (m, 1H, 31a-H), 3.26~2.28 (m, 1H, 31b-H), 3.36 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.52 (s, 1H, 11-H), 3.74 (s, 3H, COOCH₃), 4.97~5.01 (m, 1H, 37-H), 5.43 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.86~5.89 (m, 1H, 27-H), 6.61 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.37 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3341, 2932, 2687, 2294, 2116, 1772, 1716, 1650, 1588, 1452, 1419, 1381, 1266, 1108, 1075, 754 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 703 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{51}\text{O}_{10}$ ($\text{M}+\text{H})^+$ 703.3477, found 703.3465.

1.9 17-去异戊烯-17-(1-吗啉基)甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(10)的合成

将化合物 **5** (40 mg, 0.062 mmol) 溶于 5 mL THF 中, 加入 DMAP 9 mg (0.074 mmol) 和 EDCI 14 mg (0.074 mmol) 搅拌 0.5 h, 冰浴下缓慢加入吗啉 6 μL (0.069 mmol), 反应 8 h, 加入饱和 NH_4Cl 水溶液并搅拌 5 min, 乙酸乙酯萃取, 分出乙酸乙酯层, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 蒸出溶剂, 柱层析[$V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 2 : 1$]洗脱, 得到黄色油状物 16 mg, 收率 36%. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.29 (s, 3H, 19-H), 1.37~1.39 (m, 1H, 21b-H), 1.41~1.44 (m, 1H, 24-H), 1.48 (s, 3H, 40-H), 1.65 (s, 3H, 39-H), 1.69 (s, 3H, 20-H), 1.71 (s, 3H,

29-H), 1.74 (s, 3H, 25-H), 2.08~2.10 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.35~2.37 (m, 4H, 3',5'-CH₂), 2.51 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.97~3.01 (m, 2H, 26-H), 3.22~3.24 (m, 1H, 31a-H), 3.31~3.33 (m, 1H, 31b-H), 3.42~3.45 (m, 1H, 11-H), 3.44 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.57~3.59 (m, 4H, 2',6'-CH₂), 3.82 (s, 3H, COOCH₃), 5.03~5.06 (m, 1H, 37-H), 5.52 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.97~5.99 (m, 1H, 27-H), 6.69 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.44 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3342, 2964, 2927, 2303, 1721, 1657, 1587, 1516, 1456, 1426, 1380, 1233, 1174, 1133, 1105, 1036, 755 cm⁻¹; ESI-MS 716 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₄₁H₄₉O₁₀NNa (M+Na)⁺ 738.3249, found 738.3227.

1.10 17-去异戊烯-17-(1-哌啶基)甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(11)的合成

11的合成方法同**10**, 原料为**5**和哌啶, 得到黄色油状物 11 mg, 收率 25%. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 1.25~1.27 (m, 2H, 4'-CH₂), 1.29 (s, 3H, 19-H), 1.37~1.39 (m, 1H, 21b-H), 1.41~1.44 (m, 1H, 24-H), 1.47~1.49 (m, 4H, 3',5'-CH₂), 1.60 (s, 3H, 40-H), 1.65 (s, 3H, 39-H), 1.67 (s, 3H, 20-H), 1.69 (s, 3H, 29-H), 1.74 (s, 3H, 25-H), 2.07~2.10 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.34~2.36 (m, 4H, 2',6'-H), 2.51 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.97~2.99 (m, 2H, 26-H), 3.22~3.24 (m, 1H, 31a-H), 3.32~3.35 (m, 1H, 31b-H), 3.37~3.39 (m, 1H, 11-H), 3.43 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.82 (s, 3H, COOCH₃), 5.05~5.07 (m, 1H, 37-H), 5.54 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.97~5.99 (m, 1H, 27-H), 6.69 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.44 (d, $J=6.6$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3406, 2974, 2929, 2363, 1731, 1660, 1585, 1458, 1430, 1379, 1309, 1266, 1225, 1180, 1138, 1038, 754 cm⁻¹; ESI-MS m/z : 714 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₄₂H₅₁O₉NNa (M+Na)⁺ 736.3456, found 736.3437.

1.11 17-去异戊烯-17-(1-吡咯烷基)甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(12)的合成

12的合成方法同**10**, 原料为**5**和吡咯烷, 得到黄色油状物 10 mg, 收率 23%. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 1.29 (s, 3H, 19-H), 1.37~1.39 (m, 1H, 21b-H), 1.42~1.44 (m, 1H, 24-H), 1.48 (s, 3H, 40-H), 1.64 (s, 3H, 39-H), 1.69 (s, 3H, 20-H), 1.72 (s, 3H, 29-H), 1.75 (s, 3H, 25-H), 1.83~1.85 (m, 4H, 3',4'-CH₂), 2.09~2.12 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.26~2.68 (m, 4H, 2',5'-CH₂), 2.51 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.97~2.98 (m, 2H, 26-H), 3.21~3.24 (m, 1H, 31a-H), 3.26~3.28 (m, 1H, 31b-H), 3.36~3.38 (m, 1H, 11-H), 3.43 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.87 (s,

3H, COOCH₃), 5.04~5.07 (m, 1H, 37-H), 5.45~5.47 (m, 1H, 27-H), 5.53 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 6.67 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, 4-H), 7.44 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3406, 2973, 2928, 2380, 1731, 1661, 1585, 1458, 1430, 1379, 1309, 1225, 1180, 1138, 1038, 755 cm⁻¹; ESI-MS m/z : 700 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₄₁H₄₉O₉NNa (M+Na)⁺ 722.3305, found 722.3277.

1.12 17-去异戊烯-17-(4-甲基-1-哌嗪基)甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(13)的合成

13的合成方法同**10**, 原料为**5**和*N*-甲基哌嗪, 得到黄色油状物 17 mg, 收率 35%. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 1.29 (s, 3H, 19-H), 1.37~1.39 (m, 1H, 21b-H), 1.41~1.44 (m, 1H, 24-H), 1.48 (s, 3H, 40-H), 1.64 (s, 3H, 39-H), 1.69 (s, 3H, 20-H), 1.70 (s, 3H, 29-H), 1.74 (s, 3H, 25-H), 2.06~2.08 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.32 (s, 3H, 4'-CH₃), 2.34~2.37 (m, 8H, 2',3',5',6'-CH₂), 2.52 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.96~2.98 (m, 2H, 26-H), 3.25~3.27 (m, 1H, 31a-H), 3.33~3.35 (m, 1H, 31b-H), 3.38~3.40 (m, 1H, 11-H), 3.43 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.83 (s, 3H, COOCH₃), 5.03~5.05 (m, 1H, 37-H), 5.52 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, 3-H), 5.57~5.99 (m, 1H, 27-H), 6.70 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.44 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3405, 2968, 2926, 2362, 1726, 1660, 1586, 1455, 1425, 1381, 1265, 1223, 1144, 1097, 1036, 755 cm⁻¹; ESI-MS m/z : 729 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₄₂H₅₃O₉N₂ (M+H)⁺ 729.3746, found 729.3728.

1.13 17-去异戊烯-17-(*N,N*-二乙基胺基)甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(14)的合成

14的合成方法同**10**, 原料为**5**和*N,N*-二乙胺, 得到黄色油状物 10 mg, 收率 23%. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 1.17~1.19 (m, 6H, 3',3"-CH₃), 1.29 (s, 3H, 19-H), 1.38~1.40 (m, 1H, 21b-H), 1.41~1.44 (m, 1H, 24-H), 1.48 (s, 3H, 40-H), 1.64 (s, 3H, 39-H), 1.69 (s, 3H, 20-H), 1.71 (s, 3H, 29-H), 1.75 (s, 3H, 25-H), 2.12 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.33~2.35 (m, 4H, 2',2"-CH₂), 2.51 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.97~2.99 (m, 2H, 26-H), 3.21~3.24 (m, 1H, 31a-H), 3.31~3.34 (m, 1H, 31b-H), 3.36~3.28 (m, 1H, 11-H), 3.43 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.81 (s, 3H, COOCH₃), 5.04~5.06 (m, 1H, 37-H), 5.54 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.97~5.99 (m, 1H, 27-H), 6.68 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.44 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3404, 3342, 2964, 2928, 2371, 1726, 1658, 1587, 1455, 1431, 1381, 1265, 1145, 1106, 754 cm⁻¹; ESI-MS m/z : 702 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₄₁H₅₁O₉NNa (M+Na)⁺ 724.3456, found 724.3433.

1.14 17-去异戊烯-17-(4-甲基苯胺基)甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(15)的合成

15的合成方法同**10**, 原料为**5**和4-甲基苯胺, 得到黄色油状物 16 mg, 收率 35%. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.26 (s, 3H, 4'-CH₃), 1.29 (s, 3H, 19-H), 1.39~1.42 (m, 2H, 21b-H, 24-H), 1.51 (s, 3H, 40-H), 1.66 (s, 3H, 39-H), 1.66 (s, 3H, 20-H), 1.68 (s, 3H, 29-H), 1.78 (s, 3H, 25-H), 2.07~2.09 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.48 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.96~2.98 (m, 2H, 26-H), 3.24~3.26 (m, 1H, 31a-H), 3.34~3.37 (m, 1H, 31b-H), 3.38 (s, 1H, 11-H), 3.43 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.84 (s, 3H, COOCH₃), 5.08~5.11 (m, 1H, 37-H), 5.53 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.94~5.96 (m, 1H, 27-H), 6.70 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 6.96 (s, 1H, NH), 7.09 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, 3',5'-H), 7.30 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, 2',6'-H), 7.44 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3325, 2965, 2925, 2860, 2535, 2393, 2225, 2079, 1970, 1894, 1725, 1659, 1588, 1524, 1455, 1431, 1378, 1311, 1229, 1179, 1135, 1039, 754 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 736 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{44}\text{H}_{50}\text{O}_9\text{N}$ ($\text{M}+\text{H})^+$ 736.3486, found 736.3474.

1.15 17-去异戊烯-17-(4-甲氧基苯胺基)甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(16)的合成

16的合成方法同**10**, 原料为**5**和4-甲氧基苯胺, 得到黄色粘稠状物 15 mg, 收率 32%. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.29 (s, 3H, 19-H), 1.37~1.40 (m, 1H, 21b-H), 1.44~1.47 (m, 1H, 24-H), 1.51 (s, 3H, 40-H), 1.62 (s, 3H, 39-H), 1.67 (s, 3H, 20-H), 1.68 (s, 3H, 29-H), 1.78 (s, 3H, 25-H), 2.08~2.10 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.49 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, 22-H), 2.96~2.98 (m, 2H, 26-H), 3.12 (m, 1H, 31a-H), 3.25~3.27 (m, 1H, 31b-H), 3.34 (s, 1H, 11-H), 3.43 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.77 (s, 3H, 4'-OCH₃), 3.81 (s, 3H, COOCH₃), 5.07~5.09 (m, 1H, 37-H), 5.54 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.94~5.97 (m, 1H, 27-H), 6.71 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 6.82 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, 3',5'-H), 6.92 (s, 1H, NH), 7.32 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, 2',6'-H), 7.44 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3324, 2965, 2925, 2859, 2528, 2364, 2227, 2089, 1725, 1658, 1588, 1524, 1455, 1431, 1378, 1311, 1229, 1179, 1135, 1039, 755 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 752 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{44}\text{H}_{50}\text{O}_{10}\text{N}$ ($\text{M}+\text{H})^+$ 752.3429, found 752.3424.

1.16 17-去异戊烯-17-(4-氯苯胺基)甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(17)的合成

17的合成方法同**10**, 原料为**5**和4-氯苯胺, 得到黄色粘稠状物 20 mg, 收率 43%. ^1H NMR (CDCl_3 , 300

MHz) δ : 1.26 (s, 3H, 19-H), 1.28~1.29 (m, 3H, 24-H), 1.38~1.40 (m, 1H, 21b-H), 1.51 (s, 3H, 40-H), 1.65 (s, 3H, 39-H), 1.66 (s, 2H, 20-H), 1.68 (s, 3H, 29-H), 1.77 (s, 3H, 25-H), 2.08~2.11 (m, 2H, 36-H), 2.17 (s, 1H, 21a-H), 2.46 (d, $J=9.0$ Hz, 1H, 22-H), 2.94~2.96 (m, 2H, 26-H), 3.23~3.25 (m, 1H, 31a-H), 3.27~3.30 (m, 1H, 31b-H), 3.42 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.44 (s, 1H, 11-H), 3.81 (s, 3H, COOCH₃), 5.07~5.09 (m, 1H, 37-H), 5.52 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.94~5.97 (m, 1H, 27-H), 6.72 (d, $J=10.5$ Hz, 1H, 4-H), 7.05 (s, 1H, NH), 7.22 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, 3',5'-H), 7.36 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, 2',6'-H), 7.43 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, 10-H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 17.7 (C-40), 20.3 (C-29), 21.6 (C-36), 24.9 (C-21), 25.2 (C-39), 28.8 (C-19), 28.9 (C-24), 29.4 (C-26), 30.4 (C-25), 31.9 (C-31), 36.9 (C-20), 46.3 (C-11), 48.5 (C-22), 50.4 (3O-COOMe), 61.7 (6-OMe), 79.8 (C-2), 83.0 (C-13), 83.2 (C-23), 90.5 (C-14), 107.0 (C-7), 108.6 (C-5), 112.1 (C-17), 117.0 (C-4), 120.2 (Ph-C), 121.2 (C-37), 125.6 (Ph-C), 127.0 (C-3), 128.4 (C-28), 131.6 (Ph-C), 133.5 (C-38), 135.2 (C-9), 135.8 (C-10), 135.9 (C-27), 154.9 (C-16), 157.7 (C-6), 159.4 (C-18), 166.8 (C-32), 169.9 (C-30), 174.2 (C-8), 203.3 (C-12); IR (KBr) ν : 3325, 3194, 2970, 2928, 2246, 1777, 1707, 1658, 1588, 1530, 1456, 1431, 1383, 1312, 1230, 1178, 1136, 1102, 1046, 726 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 756 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{47}\text{O}_9\text{NCl}$ ($\text{M}+\text{H})^+$ 756.2934, found 756.2928.

1.17 17-去异戊烯-17-(3-硝基-苯胺基)甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(18)的合成

18的合成方法同**10**, 原料为**5**和3-硝基苯胺, 得到黄色粘稠状物 15 mg, 收率 32%. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.26 (s, 3H, 19-H), 1.27~1.29 (m, 1H, 24-H), 1.42~1.44 (m, 1H, 21b-H), 1.52 (s, 3H, 40-H), 1.64 (s, 3H, 39-H), 1.66 (s, 2H, 20-H), 1.69 (s, 3H, 29-H), 1.78 (s, 3H, 25-H), 2.08~2.10 (m, 2H, 36-H), 2.17 (s, 1H, 21a-H), 2.46~2.48 (m, 1H, 22-H), 2.95~2.97 (m, 2H, 26-H), 3.23~3.25 (m, 1H, 31a-H), 3.29~3.31 (m, 1H, 31b-H), 3.41 (s, 1H, 11-H), 3.43 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.78 (s, 3H, COOCH₃), 5.08~5.10 (m, 1H, 37-H), 5.53 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.95~5.97 (m, 1H, 27-H), 6.71 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.43~7.45 (m, 1H, 10-H), 7.46~7.48 (m, 2H, 4',5'-H), 7.91 (d, $J=8.1$ Hz, 2H, 2',6'-H), 8.18 (s, 1H, NH); IR (KBr) ν : 3325, 3127, 3084, 2968, 2928, 2364, 2248, 1707, 1656, 1588, 1533, 1457, 1429, 1378, 1353, 1314, 1229, 1178, 1135, 1106, 1043, 729 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 767 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{47}\text{O}_{11}\text{N}_2$ ($\text{M}+$

H)⁺ 767.3174, found 767.3177.

1.18 17-去异戊烯-17-(丁二酰亚胺氧基甲酰基)甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(6)的合成

将化合物 **5** (40 mg, 0.062 mmol)溶于 5 mL 乙醇中, 加入 DMAP 9 mg (0.074 mmol)和 DCC 15 mg (0.074 mmol), 搅拌 0.5 h 后, 加入 *N*-羟基琥珀酰亚胺 9 mg (0.078 mmol), 室温搅拌 3 h, 再加入饱和 NH₄Cl 水溶液并搅拌 5 min, 用乙酸乙酯萃取, 分出乙酸乙酯层, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 蒸出溶剂, 得到黄色油状物 20 mg, 收率 43%. ESI-MS *m/z*: 744 [M+H]⁺.

1.19 17-去异戊烯-17-(*N*-羧基甲基)胺基甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(19)的合成

将化合物 **6** (40 mg, 0.054 mmol)溶于 2 mL DMSO 中, 加入甘氨酸 4 mg (0.054 mmol)和三乙胺 0.4 mL, 搅拌反应 8 h, 再加入饱和 NH₄Cl 水溶液并搅拌, 乙酸乙酯萃取, 分出乙酸乙酯层, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 蒸出溶剂, 柱层析 [*V*(乙酸乙酯): *V*(甲醇) = 16:1]洗脱, 得黄色油状物 11 mg, 收率 29%. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 1.27 (s, 3H, 19-H), 1.29~1.31 (m, 3H, 24-H), 1.37~1.39 (m, 1H, 21b-H), 1.47 (s, 3H, 40-H), 1.66 (s, 3H, 39-H), 1.68 (s, 2H, 20-H), 1.70 (s, 3H, 29-H), 1.76 (s, 3H, 25-H), 2.05~2.07 (m, 2H, 36-H), 2.29 (s, 1H, 21a-H), 2.55 (d, *J*=9.3 Hz, 1H, 22-H), 2.95~2.98 (m, 2H, 26-H), 3.06~3.08 (m, 2H, NHCH₂COOH), 3.14~3.16 (m, 1H, 31a-H), 3.28~3.30 (m, 1H, 31b-H), 3.42 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.60 (s, 1H, 11-H), 3.81 (s, 3H, COOCH₃), 5.07~5.09 (m, 1H, 37-H), 5.53 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 3-H), 5.92~5.94 (m, 1H, 27-H), 6.45 (s, 1H, NH), 6.66 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 4-H), 7.44 (d, *J*=6.9 Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3325, 3191, 2972, 2928, 2364, 2245, 2089, 1893, 1722, 1707, 1658, 1588, 1530, 1456, 1383, 1312, 1228, 1177, 1135, 1097, 1042, 752 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 704 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₃₉H₄₆O₁₁N (M+H)⁺: 704.3065, found 704.3053.

1.20 17-去异戊烯-17-[*N*-(1-羧基-2-甲基)丙基]胺基甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(20)的合成

20的合成方法同 **19**, 原料为 **6** 和缬氨酸, 得黄色粘稠物 13 mg, 收率 33%. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 0.85~0.86 [m, 7H, CH(CH₃)₂], 1.26 (s, 3H, 19-H), 1.27~1.29 (m, 3H, 24-H), 1.38~1.39 (m, 1H, 21b-H), 1.45 (s, 3H, 40-H), 1.66 (s, 3H, 39-H), 1.69 (s, 2H, 20-H), 1.75 (s, 3H, 29-H), 1.79 (s, 3H, 25-H), 2.01~2.03 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.53 (d, *J*=9.0 Hz, 1H, 22-H), 2.94~2.96 (m, 2H, 26-H), 3.19~3.21 (m, 1H, 31a-H), 3.26~

3.28 (m, 1H, 31b-H), 3.42 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.59 (s, 1H, 11-H), 3.78 (s, 3H, COOCH₃), 4.11 (s, 1H, CH), 5.09~5.11 (m, 1H, 37-H), 5.52 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 3-H), 5.95~5.97 (m, 1H, 27-H), 6.32 (s, 1H, NH), 6.65 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 4-H), 7.42 (d, *J*=6.6 Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3325, 3127, 3084, 2970, 2928, 2364, 2246, 1708, 1656, 1588, 1532, 1457, 1430, 1378, 1353, 1314, 1227, 1178, 1135, 1106, 1042, 750 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 746 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₄₂H₅₂O₁₁N (M+H)⁺: 746.3535, found 746.3532.

1.21 17-去异戊烯-17-[*N*-(1-羧基-3-甲硫基)丙基]胺基甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(21)的合成

21的合成方法同 **19**, 原料为 **6** 和甲硫氨酸, 得黄色粘稠物 10 mg, 收率 24%. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 1.26 (s, 3H, 19-H), 1.27~1.28 (m, 3H, 24-H), 1.37~1.39 (m, 1H, 21b-H), 1.45 (s, 3H, 40-H), 1.65 (s, 3H, 39-H), 1.69 (s, 2H, 20-H), 1.75 (s, 3H, 29-H), 1.80 (s, 3H, 25-H), 1.93~1.95 (m, 7H, CH₂CH₂SCH₃), 2.02~2.03 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.54 (d, *J*=9.3 Hz, 1H, 22-H), 2.95~2.97 (m, 2H, 26-H), 3.22~3.24 (m, 1H, 31a-H), 3.30~3.32 (m, 1H, 31b-H), 3.42 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.59 (s, 1H, 11-H), 3.78 (s, 3H, COOCH₃), 4.21 (s, 1H, CH), 5.10~5.12 (m, 1H, 37-H), 5.53 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 3-H), 5.96~5.97 (m, 1H, 27-H), 6.65 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 4-H), 6.87 (s, 1H, NH), 7.42 (d, *J*=6.9 Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3402, 2971, 2933, 2744, 2674, 2490, 1716, 1654, 1587, 1458, 1424, 1307, 1230, 1180, 1136, 1037, 755 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 778 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₄₂H₅₂O₁₁NS (M+H)⁺: 778.3256, found 778.3246.

1.22 17-去异戊烯-17-[*N*-(1-羧基-2-巯基)乙基]胺基甲酰基甲基-6-甲氧基-藤黄酸甲酯(22)的合成

22的合成方法同 **19**, 原料为 **6** 和半胱氨酸, 得黄色粘稠物 9 mg, 收率 23%. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 1.26 (s, 3H, 19-H), 1.27~1.29 (m, 3H, 24-H), 1.38~1.39 (m, 1H, 21b-H), 1.45 (s, 3H, 40-H), 1.65 (s, 3H, 39-H), 1.69 (s, 2H, 20-H), 1.75 (s, 3H, 29-H), 1.79 (s, 3H, 25-H), 2.02~2.04 (m, 2H, 36-H), 2.18 (s, 1H, 21a-H), 2.52 (d, *J*=9.3 Hz, 1H, 22-H), 2.94~2.95 (m, 2H, 26-H), 3.20~3.22 (m, 1H, 31a-H), 3.26~3.27 (m, 1H, 31b-H), 3.42 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.59 (s, 1H, 11-H), 3.78 (s, 3H, COOCH₃), 4.19 (s, 1H, CH), 4.92 (s, 1H, NH), 5.06~5.07 (m, 1H, 37-H), 5.50 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 3-H), 5.95~5.96 (m, 1H, 27-H), 6.64 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, 4-H), 7.42 (d, *J*=6.9 Hz, 1H, 10-H); IR (KBr) ν : 3384, 2970, 2933, 2799, 2744, 2674, 2529, 2489, 1717, 1654, 1587, 1457, 1424, 1360,

1229, 1178, 1135, 1038, 755 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 750 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{48}\text{NO}_{11}\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 750.2870, found 750.2891.

1.23 化合物的生物活性测试

采用 MTT 法对合成的 17 个藤黄酸衍生物 **5**, **7**~**22** 进行体外抗肿瘤细胞 HepG2(人肝癌细胞)、HCT-116(人结肠癌细胞)的生物活性筛选, 以藤黄酸作为阳性对照。

实验方法: 取对数生长期细胞培养于 96 孔培养板内, 每孔 100 μL (含 1000~2000 个肿瘤细胞)。次日, 给药组加入含有不同浓度化合物, 每药设 4~5 个剂量组, 每组至少设 3 个平行孔。对照组加入与化合物等体积的溶剂。置于 5% CO_2 温箱中于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养, 4 d 后弃去培养液, 每孔加入 200 μL 0.2% MTT 溶液(RPMI1640 配制)。再在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下保温 4 h, 弃去上清液, 每孔加入 DMSO 150 μL 溶解甲臢颗粒, 轻度振荡后, 用酶标仪。在参考波长 450 nm、检测波长 570 nm 条件下测定光密度值(OD)。以浓度为横轴, 细胞存活率为纵轴绘制曲线, 用两点法(Reed and Muench 法)计算 IC_{50} 值, 结果见表 1。

表 1 不同化合物对两种肿瘤细胞株的半数抑制浓度 [$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$]

Table 1 Half-inhibitory concentration of different compounds to two tumor cell lines [$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$]

Compound	HepG2	HCT-116
GA	2.9	2.8
5	1.1	2.3
7	1.1	1.9
8	1.7	2.0
9	3.3	5.4
10	16.5	4.8
11	3.8	3.9
12	6.5	4.1
13	2.7	1.5
14	7.7	3.7
15	6.4	1.8
16	6.5	1.4
17	1.9	3.8
18	4.9	1.5
19	>100	>100
20	10.3	5.5
21	>100	>100
22	23.4	21.9

2 结果与讨论

本文以藤黄酸为原料, 经过 5~7 步反应合成了 17 个藤黄酸衍生物。由于藤黄酸有多个烯键, 因此选择性地在 32, 33 位氧化是这条路线的关键。间氯过氧苯甲酸(*m*-CPBA)制备环氧化物^[10,11]是过酸对烯的亲电进攻过程, 一般来讲烯烃分子中有给电子取代基能促进反应的进行^[12]。此外, 间氯过氧苯甲酸进行环氧化反应时, 还

要考虑位阻效应, 就是试剂在进攻底物时, 底物上的取代基与试剂之间的排斥作用而引起的区域选择性。我们实验证实以间氯过氧苯甲酸为环氧化剂的藤黄酸的环氧化反应主要发生在 C-32, C-33 及 C-37, C-38 位烯键, 不发生在具有吸电子基团以及空间位阻的 C-27, C-28 和 C-9, C-10 位的烯键上, 并顺利得到化合物 **2** 与 C-32, C-33 及 C-37, C-38 位双环氧化的化合物(物质的量的比为 2:3)。

文献[13]报道了由藤黄酸得到 36 位羧基和 6 位羟基双甲基化的甲基藤黄酸的方法, 即将藤黄酸溶于丙酮中, 再同时加入碳酸钾和碘甲烷, 反应需 1 周时间; 同样, 我们采取这种方法用于化合物 **5** 的合成, 发现反应时间依然需要 1 周, 于是我们对此反应进行了改进, 将化合物 **1** 溶于丙酮后, 先将碳酸钾加入反应液中, 搅拌 0.5 h 后再滴加碘甲烷, 大大缩短了反应时间, 仅用 24 h, 收率大于 95%。

在合成化合物 **10**~**14** 的过程中, 由于在仲胺化合物存在时, α,β -不饱和酮易与仲胺发生迈克尔加成反应^[13], 因此合成这类化合物时要避免该副反应的发生。我们将化合物 **5** 溶于四氢呋喃中, 加入 EDCI 和 DMAP 搅拌 0.5 h 后, 在冰盐浴条件下, 缓慢滴加等摩尔的仲胺化合物的四氢呋喃溶液, 保持 0 $^{\circ}\text{C}$ 反应 8 h, 得到目标产物 **10**~**14**, 收率为 23%~36%, TLC 检测仪发现极少量的副产物生成。

在合成化合物 **19**~**22** 的过程中, 由于氨基酸参与的反应一般涉及到氨基酸的保护与脱保护, 我们考虑到氨基酸脱保护时所用的酸性或碱性条件可能会导致藤黄酸桥环结构的不稳定。因此我们采用另一种策略, 将化合物 **5** 溶于二氯甲烷中, 加入 DCC 活化后, 再加入 *N*-羟基琥珀酸亚胺, 得到化合物 **7**。化合物 **7** 经粗分后, 溶于二甲基亚砜中, 再加入氨基酸和三乙胺, 顺利得到目标产物 **19**~**22**, 收率为 23%~33%。

活性测试结果表明, 藤黄酸 C-32 位取代衍生物对所筛的两株肿瘤细胞表现出较好的增殖抑制活性。其中化合物 **5**, **7**, **8**, **13**, **17** 对人肝癌细胞(HepG2)的增殖抑制活性显著强于藤黄酸, 而化合物 **5**, **7**, **8**, **13**, **16**, **18** 则对人结肠癌细胞(HCT-116)的增殖抑制活性比藤黄酸更强。藤黄酸化学结构中 C-32, C-33 双键切断引入羧基后, 羧基修饰的一系列化合物中部分化合物抗肿瘤活性强于阳性对照 GA 或相当, 说明 B 环上异戊烯基对于藤黄酸的增殖抑制活性没有 A 环侧链重要, 是可修饰的。

藤黄酸 C-32 位羧基成乙酯和异丙酯后, 也表现出明显强于藤黄酸的抗肿瘤活性; 与芳胺成酰胺后, 对人结肠癌细胞(HCT-116)的增殖抑制活性也明显加强, 说明 C-32 位引入亲酯性基团能提高 GA 的生物活性。而藤

黄酸 C-32 位羧基接入亲水性胺或氨基酸后, 大部分化合物均表现出弱于 GA 的生物活性, 说明 C-32 位引入亲水性基团会得到相反的结果, 降低其抗肿瘤活性.

References

- [1] Yi, T.-F.; Yi, Z.-F.; Cho, S. G.; Luo, J.; Pandey, M. K.; Aggarwal, B. B.; Liu, M.-Y. *Cancer Res.* **2008**, *68*, 1843.
- [2] Qin, Y.-X.; Meng, L.-H.; Hu, C.-X.; Duan, W.-H.; Zuo, Z.-L.; Lin, L.-P.; Zhang, X.-W.; Ding, J. *Mol. Cancer Ther.* **2007**, *6*, 2429.
- [3] Gu, H.-Y.; Wang, X.-T.; Rao, S.-Y.; Wang, J.; Zhao, J.; Ren, F.-L.; Mu, R.; Yang, Y.; Qi, Q.; Liu, W.; Lu, N.; Ling, H.; You, Q.-D.; Guo, Q.-L. *Mol. Cancer Ther.* **2008**, *7*, 3298.
- [4] Zhang, H.-Z.; Kasibhatla, S.; Wang, Y.; Herich, J.; Guastella, J.; Tseng, B.; Drewe, J.; Cai, S.-X. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 309.
- [5] He, L.-Q.; Ling, Y.; Fu, L.; Yin, D.-K.; Wang, X.-S.; Zhang, Y.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 289.
- [6] Feng, F.; Liu, W.-Y.; Chen, Y.-S.; Guo, Q.-L.; You, Q.-D. *J. China Pharm. Univ.* **2005**, *36*, 302. (in Chinese)
(冯锋, 柳文媛, 陈优生, 郭青龙, 尤启冬, 中国药科大学学报, **2005**, *36*, 302.)
- [7] Wang, J.-X.; Ma, J.-H.; You, Q.-D.; Zhao, L.; Wang, F.; Li, C.; Guo, Q.-L. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4343.
- [8] Wang, J.-X.; Zhao, L.; Hu, Y.; Guo, Q.-L.; Zhang, L.; Wang, X.-J.; Li, N.-G.; You, Q.-D. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2611.
- [9] Wang, X.-J.; Lu, N.; Yang, Q.; Dai, Q.-S.; Tao, L.; Guo, X.-K.; Guo, Q.-L.; You, Q.-D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 2438.
- [10] Swern, D. *Org. React.* **1953**, *7*, 378.
- [11] Anderson, W. K.; Veysoglu, T. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 2267.
- [12] Lee, J. B.; Uff, B. C. *Quar. Rev.* **1967**, *21*, 429.
- [13] Cai, S.-X.; Zhang, H.-Z.; Wang, Y.; Tseng, B.; Kasibhatla, S.; Drewe, J. *WO 0044216*, **2000** [*Chem. Abstr.* **2000**, *133*, 150415].

(Qin, X.)