C-13 位烷氧基赤霉素衍生物的合成与抗肿瘤活性研究

陈静波^{*,a} 孙竹仙^a 张雁丽^b 陈景超^a 李鹏辉^a 曾祥慧^a
尹本林^a 谢彦^a 卿晨^{*,b} 张洪彬^{*,a}

(^a 云南大学化学科学与工程学院 自然资源药物化学教育部重点实验室 昆明 650091)

(^b 昆明医科大学 云南省自然资源药理重点实验室 昆明 650031)

摘要 设计并合成了系列 C-13 位为醚结构且在 A 环和 D 环有两个 α,β -不饱和酮结构的赤霉素衍生物. 采用噻唑蓝 (MTT) 法评价了其对人肺腺癌细胞(A549)、人肝癌细胞(HepG2)、人胃癌细胞(MKN28)以及结肠癌细胞(HT29)的体外生长抑制作用, 结果表明: 此类化合物都有较强的体外抗肿瘤活性, 其中化合物 **27** 的活性最强(对人胃癌细胞 MKN28 的 $IC_{50}=0.21 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 优于阳性对照药物顺铂(DDP).

关键词 赤霉素; 醚; α,β -不饱和酮; 抗肿瘤

Synthesis and Anticancer Activities of C-13 Etheral Gibberellin Derivatives

Chen, Jingbo^{*,a} Sun, Zhuxian^a Zhang, Yanli^b Chen, Jingchao^a Li, Penghui^a
Zeng, Xianghui^a Yin, Benlin^a Xie, Yan^a Qing, Chen^{*,b} Zhang, Hongbin^{*,a}

(^a Key Laboratory of Medicinal Chemistry for Natural Resource, Ministry of Education, School of Chemical Science and Technology, Yunnan University, Kunming 650091)

(^b Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650031)

Abstract C-13 ethereal gibberellin derivatives bearing two α,β -unsaturated ketones in A and D rings have been designed and synthesized. *In vitro* studies demonstrated that a number of the C-13 ethereal gibberellin derivatives showed strong anticancer activities in thiazolylblue (MTT) assay towards four human cancer cell lines including HT29, A-549, HepG2 and MKN28. Compound **27** was found to be the most potent compound ($IC_{50}=0.21 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ against MKN28) and more active than the positive control (DDP).

Keywords gibberellin; ether; α,β -unsaturated ketone; anticancer

赤霉素是一种广泛存在于高等植物中的二萜酸类物质, 对植物的生长和发育有重要的调节作用. 赤霉酸(GA₃)是一种已经商业化发酵生产并在世界范围内大量使用的农用植物生长调节剂^[1]. 从生源途径来看, 赤霉酸类化合物是由存在于植物、微生物和海洋生物中的另一大类天然产物对映贝壳杉烯代谢转化而来^[2]. 一些对映贝壳杉烯类物质具有诸如抗菌、抗肿瘤、抗炎、拒食等生物活性^[3]. 图 1 所示化合物为具有此类生物活性的

代表性二萜类物质. 据文献报道, 具有 α,β -不饱和酮结构的对映贝壳杉烯类物质为一类迈克尔反应受体分子, 作为 NF- κ B 核转录因子抑制剂^[4], 对多种肿瘤细胞显示出良好的抑制活性^[5]. 我们在赤霉素衍生物与抗肿瘤活性研究中发现, 整合到赤霉素中的 α,β -不饱和酮结构是抗肿瘤作用的关键药效团^[6]. 本文报道 C-13 位烷氧代的含双 α,β -不饱和酮结构赤霉素衍生物的合成与抗肿瘤活性研究.

* E-mail: zhanghb@ynu.edu.cn or zhanghbyd@gmail.com

Received September 23, 2013; revised December 5, 2013; published online December 13, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21062029, 20925205), the Natural Science Foundation of Yunnan Province (Nos. 2009CD007, 2010GA014) and the National Basic Research Program of China (973 Program, No. 2009CB522300).

国家自然科学基金(Nos. 21062029, 20925205)、云南省自然科学基金(Nos. 2009CD007, 2010GA014)及国家基础研究(973 项目, No. 2009CB522300)资助项目.

图 1 代表性四环二萜类化合物 1~3

Figure 1 Representative tetracyclic diterpenes 1~3

1 结果与讨论

以易得的商品化原料赤霉素 GA₃ (3) 为原料, 经酯化反应转化为相应的甲酯 4 或苯甲酯 5^[7]. 然后在二氧化硒和过氧化叔丁醇的作用下进行 D 环烯丙位氧化引入一个羟基得到三醇化合物 6 和 7 (Scheme 1)^[8].

Scheme 1

接下来我们尝试用 PDC(重铬酸吡啶盐)、活性二氧化锰等作为氧化剂对化合物 6 和 7 的烯丙位醇进行氧化, 未能转化为期望的含 α,β -不饱和酮结构的衍生物. 最后经 Swern 氧化成功地将化合物 6 和 7 转化为含有双 α,β -不饱和酮结构的赤霉素衍生物 8 和 9 (Scheme 1)^[9]. C-13 位的羟基在 Swern 氧化条件下同时发生了氯代反应. 产物经核磁共振氢谱(¹H NMR)和碳谱(¹³C NMR)、质谱

(LRMS 和 HRMS)以及 X 射线晶体结构分析确证了结构 (图 2).

图 2 化合物 9 的 X 射线衍射晶体结构分析

Figure 2 X-ray crystallography of compound 9

在赤霉素衍生化及抗肿瘤活性的前期研究中^[6], 发现化合物 8 和 9 具有较强的抗肿瘤活性和较低的毒性, 但在有水条件下不稳定. 最近的研究结果表明 C-13 位醚结构(烷氧基取代)的对映贝壳杉二萜类化合物对一些肿瘤具有显著的抑制活性^[10]. 为增强该类化合物的稳定性, 将化合物 8 和 9 的 C-13 位氯原子经取代反应转化为羟基、甲氧基和乙氧基得到化合物 10~12, 19~21, 这些化合物在含水溶液中的稳定性大大提高, 仍具有良好的抗肿瘤活性. 为了更系统的研究 C-13 位烷氧基赤霉素的构效关系, 又合成了 13 位为正(异)丙基、正(异)丁基、正(异)戊基的衍生物(表 1).

表 1 C-13 烷氧代赤霉素衍生物的合成^a

Table 1 Synthesis of new gibberellin derivatives bearing C-13 ethereal moiety

GA	R	R ¹	GA	R	R ¹
10	Me	H	19	Bn	H
11	Me	Me	20	Bn	Me
12	Me	Et	21	Bn	Et
13	Me	<i>i</i> -Pr	22	Bn	<i>i</i> -Pr
14	Me	<i>n</i> -Pr	23	Bn	<i>n</i> -Pr
15	Me	<i>n</i> -Bu	24	Bn	<i>n</i> -Bu
16	Me	<i>i</i> -Bu	25	Bn	<i>i</i> -Bu
17	Me	<i>n</i> -Pt	26	Bn	<i>n</i> -Pt
18	Me	<i>i</i> -Pt	27	Bn	<i>i</i> -Pt

^aPt is pentanyl.

将 C-13 位氯代的赤霉素化合物 **8** 和 **9** 与碳酸银和水或醇作用, 转化为相应的 C-13 位羟基或烷氧基类衍生物. 经此方法共合成了 18 个目标化合物(表 1).

得到 C-13 位醚结构(烷氧基取代)的赤霉素衍生物后, 我们进行了生物活性测试. 按照文献方法^[11], 对所有合成制备的赤霉素衍生物对人肺腺癌细胞(A549)、人肝癌细胞(HepG2)、人胃癌细胞(MKN28)以及结肠癌细胞(HT29)共四种人肿瘤细胞的细胞毒活性进行了评价, 结果见表 2 [IC_{50} 为半数生长抑制浓度, 顺铂(DDP)和含有相同药效团(双 α,β -不饱和和酮)的毛茛乙素(Eriocalycin B, **1**)作为活性对照化合物]. 在所有测试的赤霉素醚类衍生物中, 化合物 **13** 对人结肠癌细胞(HT29)表现出最强的抑制活性($IC_{50}=0.24 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 而化合物 **27** 对人胃癌细胞(MKN28)表现出最强的抑制活性($IC_{50}=0.21 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). 化合物 **13**, **16**, **22**, **25** 对结肠癌细胞(HT29)具有较高细胞毒, 但对人肺腺癌细胞(A549)毒性很低, 显示了一定的肿瘤选择性. 总体而言, 人结肠癌细胞(HT29)和人胃癌细胞(MKN28)对具有 C-13 位醚结构(烷氧基取代)的赤霉素衍生物更敏感(表 2). 具有侧链的 C-13 烷基(异丙基、异丁基、异戊基)醚类赤霉素衍生物比直链烷基醚类衍生物对测试所用的肿瘤细胞显示更强的抑制活性, 提示位阻较大的 C-13 位醚结构可能具有更强的抗肿瘤活性.

表 2 C-13 烷氧代赤霉素衍生物体外细胞毒活性^a

Table 2 *In vitro* cytotoxic activities of gibberellins bearing a C-13 ethereal moiety

GAs	HT29	A549	HepG2	MKN28
10	24.50±0.52	33.87±0.43	13.85±0.65	14.74±0.32
11	31.00±0.43	27.50±0.62	16.81±0.32	1.32±0.35
12	13.67±0.45	7.27±0.42	>40	33.11±0.62
13	0.24±0.62	>40	25.37±1.40	6.89±0.35
14	28.22±2.20	>40	10.81±0.24	12.35±0.56
15	0.90±0.30	32.61±1.10	9.61±0.25	0.98±0.62
16	0.63±0.56	>40	3.82±0.46	0.67±0.78
17	0.58±0.45	28.19±0.80	4.12±0.19	0.33±0.15
18	0.26±0.60	25.72±0.76	6.64±0.50	0.56±1.10
19	37.36±0.35	10.70±2.10	9.17±0.75	11.00±1.25
20	22.37±0.18	13.02±0.55	16.19±0.79	0.35±0.23
21	11.09±0.45	11.52±0.35	14.10±0.54	7.86±0.34
22	0.57±0.75	>40	8.80±0.47	0.42±0.63
23	1.89±0.37	>40	7.59±0.64	2.79±0.44
24	0.65±0.33	28.34±1.45	6.68±0.43	3.01±0.25
25	1.24±0.38	>40	2.38±0.56	0.70±0.45
26	0.60±0.45	28.27±0.78	2.58±0.45	0.53±0.27
27	0.54±0.37	24.96±0.55	2.17±0.42	0.21±0.35
8	1.14±0.52	23.57±0.47	15.57±0.33	8.54±0.43
9	2.10±0.35	13.45±0.57	22.05±0.37	10.67±0.45
DDP	3.42±0.55	10.29±0.43	3.10±0.64	1.25±0.32
1	0.26±0.14	0.40±0.31	0.53±0.22	0.14±0.24

^a 对肿瘤细胞的细胞毒活性以 IC_{50} ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)表示.

2 结论

合成了 18 个含双 α,β -不饱和酮结构的 13-烷氧代赤霉素衍生物, 并用改良 MTT 法对其体外抗肿瘤活性进行了评估. 初步的构效关系: 此类赤霉素衍生物中, α,β -不饱和酮结构和 C-13 位醚结构都对抗肿瘤作用起关键作用, C-13 位醚结构中不同的烷基不仅导致抗肿瘤活性的差异, 而且显示出一定的肿瘤类型选择性, 具有侧链的烷基(异丙基、异丁基、异戊基)醚类赤霉素衍生物比直链烷基醚类衍生物对测试所用的肿瘤细胞显示更强的抑制活性, 提示位阻较大的 C-13 位醚结构可能具有肿瘤类型选择性和更强的抗肿瘤活, 为深入研究此类化合物的构效关系提供了较好的参考. 对抗肿瘤活性非常好的化合物 **27** 的进一步生物活性和作用机制研究在进行中.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

核磁共振氢谱(^1H NMR)和碳谱(^{13}C NMR)用 Bruker Avance 300 核磁共振仪测定, 以四甲基硅烷(TMS)为内标; 低分辨质谱(EI-MS)在 VG Auto Spec- 3000 质谱仪上测定, 高分辨质谱(HRMS)在 AB QSTAR Pulsar 质谱仪上测定; 熔点由国产北京泰克仪器设备有限公司生产的 XT-4 型双目显微熔点测定仪测定, 温度计未校正. 赤霉素 GA_3 (Gibberellin A_3 ; ent- $3\alpha,10\beta$ -13-trihydroxy-20-norgibberella-1,16-diene-7,19-dioic acid 19,10-lactone)为江苏丰源生物化工有限公司产品, 无水四氢呋喃经与金属钠回流(二苯甲酮为指示剂)至深蓝色后重蒸获得, 无水二氯甲烷经与氯化钙回流重蒸获得. 所用其它原料和试剂购自 Acros, Aldrich, Fluka, 除特别指出之外, 均未经纯化直接使用.

3.2 实验方法

3.2.1 赤霉素衍生物的合成

对映- $3\alpha,10\beta,13\beta$ -三羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**4**): 赤霉素 (GA_3 , 1.0 g, 2.9 mmol)溶于丙酮(20 mL)中, 然后在冰水浴冷却下加入硫酸二甲酯(0.73 g, 5.8 mmol, 2.0 equiv.)和碳酸钾(0.80 g, 5.8 mmol). 常温搅拌反应过夜后减压蒸出溶剂, 所得残余物中加入冰(20 g)和稀盐酸($2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 20 mL), 搅拌, 所得混合物用乙酸乙酯(20 mL×2)萃取. 合并有机相, 水洗(15 mL×2)后, 再用饱和盐水(15 mL)洗. 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经减压蒸干得粗品(1.02 g). 未经纯化直接用于下一步反应. ^1H NMR (300 MHz, CD_3COCD_3) δ : 6.37 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.89 (dd, $J=3.5, 9.3$ Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.03 (d, $J=$

3.5 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.25 (d, $J=10.7$ Hz, 1H), 2.70 (d, $J=10.7$ Hz, 1H), 2.28~1.62 (m, 10H), 1.50~1.38 (m, 1H), 1.16 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3COCD_3) δ : 178.9, 173.0, 158.5, 133.9, 132.7, 106.9, 91.1, 78.1, 70.1, 54.1, 53.4, 52.1, 51.7, 51.0, 45.5, 43.8, 39.7, 17.6, 14.9.

对映-3 α ,10 β ,13 β -三羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(5): 赤霉素(GA_3 , 1.0 g, 2.9 mmol)溶于丙酮(20 mL)中, 然后在冰水浴冷却下加入苯甲基溴 (0.50 g, 2.9 mmol, 1.0 equiv.)和碳酸钾(0.80 g, 5.8 mmol). 常温搅拌反应过夜后减压蒸出溶剂, 所得残余物中加入冰(20 g)和稀盐酸($2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 20 mL), 搅拌, 所得混合物用乙酸乙酯(20 mL $\times$ 4)萃取. 合并有机相, 水洗(15 mL $\times$ 2)后, 再用饱和盐水(15 mL)洗. 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经减压蒸干得粗品(1.02 g). 未经纯化直接用于下一步反应. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.43~7.30 (br s, 5H), 6.31 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 5.89 (dd, $J=3.6, 9.3$ Hz, 1H), 5.23 (s, 1H), 5.21 (d, $J=12.3$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J=12.3$ Hz, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.18~4.09 (m, 1H), 3.22 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 2.81 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 2.15~2.00 (m, 6H), 1.98~1.60 (m, 5H), 1.19 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 178.2, 171.8, 156.9, 132.9, 132.3, 128.6, 128.4, 107.3, 90.3, 78.3, 69.8, 66.9, 53.4, 52.9, 51.2, 50.7, 50.5, 44.9, 42.9, 38.1, 16.9, 14.3.

对映-3 α ,10 β ,13 β ,15 β -四羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(6): 赤霉酸苯甲酯(5, 436 mg, 1.0 mmol)溶于二氯甲烷(8 mL)中, 然后加入二氧化硒(133.2 mg, 1.2 mmol, 1.2 equiv.)和过氧化叔丁醇(70%水溶液, 0.93 g/mL, 0.32 mL, 2.3 equiv.). 常温搅拌 16 h 后, 短硅胶柱过滤, 并用乙酸乙酯(80 mL)冲洗. 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经减压蒸干所得粗品经硅胶柱层析纯化(200~300 目, 二氯甲烷/乙酸乙酯, $V:V=2:1\sim1:1$), 得浅黄色粘稠液体(328 mg, 73%). ^1H NMR (300 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.52~7.23 (m, 5H), 6.38 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.86 (dd, $J=3.6, 9.3$ Hz, 1H), 5.32 (s, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.14 (d, $J=12.6$ Hz, 1H), 4.99 (d, $J=12.6$ Hz, 1H), 4.68 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 4.17 (d, $J=4.6$ Hz, 1H), 4.12~3.98 (m, 2H), 3.82 (s, 1H), 3.24 (d, $J=10.1$ Hz, 1H), 2.63 (d, $J=10.1$ Hz, 1H), 2.37 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 2.00~1.62 (m, 6H), 1.16 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3COCD_3) δ : 178.9, 173.6, 162.6, 137.5, 133.9, 132.8, 129.1, 128.7, 128.5, 111.6, 91.3, 78.2, 76.9, 70.3, 66.9, 57.8, 54.5, 54.1, 49.6, 48.2, 42.8, 39.8, 18.0, 14.8; EIMS m/z (%): 452 (M^+ , 0.25), 434 (0.5), 406 (0.4), 390 (1.5), 372 (0.4), 344 (100), 343 (34), 325 (6), 298 (5), 281

(7), 271 (12), 253 (21), 237 (17), 225 (27), 209 (28), 201 (32), 181 (18), 149 (26), 135 (17), 121 (12), 108 (65); HRMS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 475.1732; found 475.1728.

对映-3 α ,10 β ,13 β ,15 β -四羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(7): 赤霉酸甲酯(4, 360 mg, 1.0 mmol)溶于二氯甲烷(8 mL)中, 然后加入二氧化硒(133.2 mg, 1.2 mmol, 1.2 equiv.)和过氧化叔丁醇(70%水溶液, 0.93 g/mL, 0.32 mL, 2.3 equiv.). 常温搅拌 16 h 后, 短硅胶柱过滤, 并用乙酸乙酯(80 mL)冲洗. 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经减压蒸干所得粗品经硅胶柱层析纯化(200~300 目, 二氯甲烷/乙酸乙酯, $V:V=2:1\sim1:1$), 得浅黄色粘稠液体(335 mg, 89%). ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ : 6.41 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.89 (dd, $J=3.3, 9.3$ Hz, 1H), 5.39 (s, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.12 (s, 1H), 4.03 (d, $J=3.3$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.21 (d, $J=9.9$ Hz, 1H), 2.62 (d, $J=9.9$ Hz, 1H), 2.28 (d, $J=11.1$ Hz, 1H), 2.01~1.70 (m, 6H), 1.22 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ : 180.8, 175.8, 161.9, 134.1, 133.2, 112.5, 92.7, 78.6, 77.4, 70.7, 58.3, 55.1, 54.8, 52.5, 50.1, 48.7, 43.0, 39.8, 18.4, 14.8; EIMS m/z (%): 376 (M^+ , 0.25), 358 (3), 344 (49), 346 (11), 315 (5), 298 (7), 280 (6), 271 (10), 255 (16), 253 (26), 239 (11), 237 (24), 225 (28), 209 (27), 201 (21), 197 (19), 171 (15), 165 (15), 149 (100), 129 (12), 121 (12), 115 (10); HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 399.1419; found 399.1427.

对映-13 β -氯-3,15-二氧-10 β -羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(8): 草酰氯(0.57 mL, 1.5 g/mL, 6.73 mmol, 5.0 equiv.)溶于二氯甲烷(5 mL)并冷却到 -78°C . 搅拌下缓慢滴加二甲亚砜(0.96 mL, 1.1 g/mL, 13.52 mmol, 10.0 equiv.)的二氯甲烷(5 mL)溶液. 在 -78°C 继续搅拌 10 min 后, 滴加 7 (507 mg, 1.35 mmol) 的二氯甲烷(4 mL)和二甲亚砜(0.58 mL)溶液. 反应液继续搅拌 15 min 后, 滴加三乙胺(4.06 mL, 29.2 mmol, 20.0 equiv.), 随后撤去冷浴, 使反应液逐渐升至室温. 加入冰(15 g)和水(25 mL), 搅拌, 所得混合物用乙酸乙酯(10 mL $\times$ 2)萃取. 合并有机相, $2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 稀盐酸洗(10 mL $\times$ 2)后, 再用水(10 mL $\times$ 2)洗. 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经减压蒸干所得粗品经硅胶柱层析纯化(200~300 目, 正己烷/乙酸乙酯, $V:V=5:1\sim2:1$), 得无色晶体(335 mg, 89%). m.p. $139\sim140^\circ\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.18 (d, $J=9.4$ Hz, 1H), 6.23 (s, 1H), 6.07 (d, $J=9.4$ Hz, 1H), 5.87 (s, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.62 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 2.82 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 2.79 (d, $J=11.4$ Hz, 1H), 2.65 (dd, $J=8.1, 13.6$

Hz, 1H), 2.50 (d, $J=11.4$ Hz, 1H), 2.40~2.08 (m, 3H), 1.92~1.82 (m, 1H), 1.33 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 200.3, 191.0, 172.6, 170.2, 150.7, 145.8, 129.7, 121.3, 89.1, 65.9, 65.4, 61.2, 60.5, 52.4, 48.8, 47.2, 41.5, 39.8, 18.0, 11.9; EIMS m/z (%): 391 ($\text{M}^+ + 1$, 4), 390 (M^+ , 4), 361 (16), 360 (43), 358 (100), 326 (31), 303 (16), 286 (42), 267 (43), 251 (50), 236 (52), 222 (40), 217 (23), 213 (15), 195 (13), 165 (29), 152 (20), 141 (22), 128 (40), 115 (50); HRMS calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClO}_6\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 413.0767, found 413.0781.

对映-13 β -氯-3,15-二氧-10 β -羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**9**): 草酰氯(0.57 mL, 1.5 g/mL, 6.73 mmol, 5.0 equiv.)溶于二氯甲烷(5 mL)并冷却到 -78 $^{\circ}\text{C}$. 搅拌下缓慢滴加二甲亚砜(0.96 mL, 1.1 g/mL, 13.52 mmol, 10.0 equiv.)的二氯甲烷(5 mL)溶液. 在 -78 $^{\circ}\text{C}$ 继续搅拌 10 min 后, 滴加 **6** (611 mg, 1.35 mmol)的二氯甲烷(4 mL)和二甲亚砜(0.58 mL)溶液. 反应液继续搅拌 15 min 后, 滴加三乙胺(4.06 mL, 29.2 mmol, 20.0 equiv.), 随后撤去冷浴, 使反应液逐渐升至室温. 加入冰(15 g)和水(25 mL), 搅拌, 所得混合物用乙酸乙酯(10 mL $\times$ 2)萃取. 合并有机相, 2 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 稀盐酸洗(10 mL $\times$ 2)后, 再用水(10 mL $\times$ 2)洗. 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经减压蒸干所得粗品经硅胶柱层析纯化(200~300 目, 正己烷/乙酸乙酯, $V:V=5:1\sim 2:1$), 得无色针状固体(508 mg, 80%). m.p. 177~178 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.45~7.28 (m, 5H), 7.28 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 6.24 (s, 1H), 6.15 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 5.93 (s, 1H), 5.14 (s, 2H), 3.72 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 2.95 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 2.86 (d, $J=11.4$ Hz, 1H), 2.72 (dd, $J=7.2, 13.2$ Hz, 1H), 2.54 (d, $J=11.4$ Hz, 1H), 2.48~2.12 (m, 3H), 2.02~1.92 (m, 1H), 1.41 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 200.3, 191.0, 172.6, 169.5, 150.8, 145.7, 134.9, 129.7, 128.6, 128.6, 121.1, 89.1, 67.5, 65.9, 65.4, 61.2, 60.6, 49.0, 47.3, 41.6, 39.7, 18.0, 11.9; EIMS m/z (%): 363 (3), 362 (13), 360 (24), 334 (4), 333 (16), 331 (45), 286 (8), 280 (17), 267 (45), 249 (30), 223 (34), 221 (18), 208 (12), 195 (10), 181 (5), 165 (10), 158 (7), 128 (12), 115 (15), 107 (36), 91 (100); HRMS calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{ClO}_6\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 489.1080, found 489.1076.

对映-10 β ,13 β -二羟基-3,15-二氧-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**10**): 赤霉素衍生物 **8** (391 mg, 1.0 mmol)溶于丙酮(8 mL)和水(2 mL)中, 加入碳酸银(276 mg, 1.0 mmol, 1.0 equiv.), 搅拌回流 24 h. 减压蒸去溶剂, 残留物加入水(50 mL), 用乙酸乙酯(15 mL $\times$ 3)萃取, 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经

减压蒸干所得粗品经硅胶柱层析纯化(200~300 目, 正己烷/乙酸乙酯, $V:V=5:1\sim 2:1$), 得白色固体(253 mg, 67.9%). m.p. 231~232 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.20 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 6.08 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.70 (s, 1H), 3.67 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 3.64 (s, 3H), 2.83 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 2.54 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 2.36~2.18 (m, 3H), 2.15 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 1.98~1.73 (m, 3H), 1.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.4, 191.2, 172.9, 170.5, 152.6, 146.0, 129.7, 118.5, 89.3, 76.0, 65.6, 61.6, 60.8, 52.4, 48.9, 48.0, 40.3, 36.7, 17.6, 12.0; EIMS m/z (%): 373 ($\text{M}^+ + 1$, 4), 372 (M^+ , 18), 344 (37), 340 (82), 326 (23), 312 (25), 294 (15), 285 (23), 268 (100), 267 (52), 251 (28), 239 (55), 218 (81), 213 (43), 195 (26), 185 (24), 171 (24), 157 (28), 141 (65), 128 (70), 115(87), 109 (25), 91 (23); HRMS calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 395.1106, found 395.1103.

3.2.2 目标化合物 **11**~**18** 的合成

赤霉素衍生物 **8** (98 mg, 0.25 mmol)溶于无水的醇(10 mL)中, 加入碳酸银(76 mg, 0.275 mmol, 1.1 equiv.), 搅拌回流 24 h. 减压蒸去溶剂, 残留物加入水(50 mL), 用乙酸乙酯(15 mL $\times$ 3)萃取, 有机相用饱和食盐水(10 mL)洗涤, 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经减压蒸干所得粗品经硅胶柱层析纯化(200~300 目, 正己烷/乙酸乙酯, $V:V=5:1\sim 2:1$), 得白色固体.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -甲氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**11**): 产率 33%, m.p. 144~145 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.19 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.17 (s, 1H), 6.07 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.55 (s, 1H), 3.66 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.29 (s, 3H), 2.83 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.42~2.10 (m, 5H), 1.92~1.62 (m, 2H), 1.34 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.5, 191.2, 173.0, 170.5, 149.4, 146.0, 129.7, 119.3, 89.3, 80.8, 65.6, 61.6, 60.6, 52.4, 50.8, 49.2, 48.5, 34.6, 33.9, 17.7, 11.9; EIMS m/z (%): 387 ($\text{M}^+ + 1$, 6), 386 (M^+ , 18), 358 (52), 355 (12), 342 (8), 331 (7), 313 (13), 310 (5), 299 (8), 282 (30), 281 (19), 255 (37), 237 (100), 223 (40), 217 (60), 205 (18), 196 (22), 185 (9), 175 (11), 165 (20), 153 (14), 141 (19), 128 (39), 115 (50), 109 (15); HRMS calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 409.1263, found 409.1249.

对映-3,15-二氧-13 β -乙氧基-10 β -羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**12**): 产率 33%, m.p. 123~125 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.20 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 6.06 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.54 (s, 1H), 3.65 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.63 (s, 3H),

3.53~3.34 (m, 2H), 2.81 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.42~2.20 (m, 5H), 1.90~1.69 (m, 2H), 1.32 (s, 3H), 1.20 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.6, 191.2, 173.0, 170.6, 149.9, 146.1, 129.6, 118.9, 89.3, 80.4, 65.5, 61.5, 60.6, 58.6, 52.3, 49.2, 48.5, 35.3, 34.6, 17.6, 15.8, 11.9; EIMS m/z (%): 401 ($\text{M}^+ + 1$, 2), 400 (M^+ , 11), 372 (35), 356 (9), 345 (68), 327 (13), 313 (8), 296 (16), 269 (27), 267 (29), 251 (100), 231 (36), 223 (32), 208 (27), 196 (32), 185 (18), 178 (15), 157 (12), 149 (15), 141 (17), 128 (32), 115 (50), 109 (17); HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 423.1419, found 423.1403.

对映-3,15-二氧-13 β -羟基-13 β -异丙氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**13**): 产率 29%, m.p. 112~114 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.19 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.07 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.61 (s, 1H), 3.82~3.70 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.63 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 2.82 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 2.44 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 2.41~2.15 (m, 4H), 1.94~1.70 (m, 2H), 1.34 (s, 3H), 1.20 (d, $J=5.7$ Hz, 3H), 1.18 (d, $J=5.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.8, 191.2, 172.9, 170.6, 151.1, 146.0, 129.6, 118.9, 89.3, 80.5, 66.0, 65.5, 61.5, 60.5, 52.3, 49.3, 48.5, 36.3, 36.1, 24.9, 24.6, 17.7, 11.9; EIMS m/z (%): 415 ($\text{M}^+ + 1$, 9), 414 (M^+ , 35), 386 (35), 372 (25), 370 (16), 358 (9), 344 (64), 340 (21), 327 (25), 325 (33), 312 (38), 310 (35), 299 (34), 296 (17), 269 (33), 265 (17), 251 (28), 239 (100), 223 (70), 213 (51), 211 (42), 196 (47), 189 (92), 185 (81), 171 (69), 165 (56), 157 (42), 153 (26), 141 (68), 128 (26), 115 (17); HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 437.1576, found 437.1588.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -丙氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**14**): 产率 88%, m.p. 120~121 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.19 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.04 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.53 (s, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.62 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.52~3.22 (m, 2H), 2.80 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.40~2.10 (m, 5H), 1.92~1.67 (m, 2H), 1.65~1.52 (m, 2H), 1.31 (s, 3H), 0.93 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.7, 191.3, 173.0, 170.6, 150.0, 146.1, 129.6, 119.0, 89.4, 80.2, 65.5, 64.7, 61.5, 60.6, 52.3, 49.2, 48.5, 35.1, 34.6, 23.5, 17.6, 11.9, 10.7; EIMS m/z (%): 415 ($\text{M}^+ + 1$, 7), 414 (M^+ , 16), 386 (29), 370 (13), 355 (8), 341 (23), 327 (14), 325 (25), 311 (51), 310 (57), 299 (22), 283 (38), 269 (24), 265 (100), 251 (31), 241 (45), 239 (49), 223 (55), 213 (46), 211 (38), 196 (50), 185 (36), 171 (22), 165 (15), 157 (10), 141 (15), 128 (32), 115 (41); HRMS calcd for

$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 437.1576, found 437.1584.

对映 13 β -丁氧基-3,15-二氧-10 β -羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**15**): 产率 29%, m.p. 115~116 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.19 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 6.06 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.54 (s, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.63 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 3.48~3.30 (m, 2H), 2.81 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 2.41~2.18 (m, 5H), 1.92~1.69 (m, 2H), 1.62~1.52 (m, 2H), 1.48~1.34 (m, 2H), 1.24 (s, 3H), 0.93 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.7, 191.2, 172.9, 170.6, 150.1, 146.1, 129.6, 118.9, 89.3, 80.2, 65.6, 62.9, 61.6, 60.6, 52.3, 49.3, 48.6, 35.1, 34.7, 32.4, 19.5, 17.7, 14.0, 11.9; EIMS m/z (%): 430 ($\text{M}^+ + 2$, 6), 428 (M^+ , 18), 402 (5), 400 (19), 384 (20), 358 (28), 355 (29), 340 (10), 325 (59), 324 (63), 311 (41), 299 (34), 285 (31), 279 (100), 267 (49), 251 (65), 239 (69), 225 (33), 223 (92), 222 (51), 213 (45), 196 (85), 185 (43), 178 (27), 171 (27), 165 (17), 158 (15), 141 (14), 128 (30), 115 (42), 97 (17); HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 451.1732, found 451.1737.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -异丁氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**16**): 产率 39%, m.p. 92~93 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.19 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.06 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.54 (s, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.63 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.22~3.08 (m, 2H), 2.81 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.42~2.18 (m, 5H), 1.92~1.65 (m, 3H), 1.33 (s, 3H), 0.94 (d, $J=6.7$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J=6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.8, 191.3, 173.0, 170.6, 150.2, 146.1, 129.6, 119.0, 89.4, 80.1, 69.7, 65.6, 61.5, 60.6, 52.4, 49.3, 48.5, 35.0, 34.7, 29.0, 19.5, 17.7, 11.9; EIMS m/z (%): 428 (M^+ , 7), 400 (8), 384 (6), 373 (22), 355 (9), 341 (14), 325 (16), 313 (15), 295 (33), 283 (14), 279 (51), 269 (100), 267 (42), 253 (12), 241 (78), 239 (52), 223 (40), 211 (18), 195 (21), 185 (27), 171 (19), 165 (23), 150 (917), 141 (28), 128 (17), 115 (12); HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 451.1732, found 451.1739.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -戊氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**17**): 产率 42%, m.p. 98~100 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.18 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.07 (s, 1H), 6.01 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.49 (s, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.56 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.42~3.23 (m, 2H), 2.77 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.38~2.11 (m, 5H), 1.92~1.62 (m, 2H), 1.61~1.46 (m, 2H), 1.35~1.22 (m, 4H), 1.27 (s, 3H), 0.84 (t, $J=6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.6, 191.2, 172.9, 170.5,

149.9, 146.1, 129.4, 118.8, 89.3, 80.1, 65.4, 63.0, 61.4, 60.4, 52.2, 49.0, 48.3, 35.0, 34.4, 29.9, 28.3, 22.5, 17.5, 14.0, 11.8; EIMS m/z (%): 443 ($M^+ + 1$, 5), 442 (M^+ , 22), 414 (23), 398 (10), 386 (6), 369 (12), 355 (5), 338 (19), 325 (17), 311 (13), 293 (100), 285 (12), 269 (47), 251 (35), 241 (68), 239 (41), 223 (37), 213 (34), 203 (16), 196 (20), 185 (25), 171 (23), 157 (12), 150 (17), 141 (22), 128 (13), 109 (4); HRMS calcd for $C_{25}H_{30}O_7Na$ ($M + Na$) $^+$ 465.1889, found 465.1900.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -异戊氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-甲酯 19,10-内酯(**18**): 产率 12%, m.p. 90~92 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.15 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.07 (s, 1H), 6.01 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.57 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.45~3.23 (m, 2H), 2.76 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.38~2.10 (m, 5H), 1.92~1.62 (m, 3H), 1.50~1.38 (m, 2H), 1.27 (s, 3H), 0.85 (d, $J=6.7$ Hz, 3H), 0.84 (d, $J=6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 202.7, 191.3, 173.0, 170.6, 150.2, 146.1, 129.6, 119.0, 89.4, 80.2, 65.6, 61.6, 61.5, 60.6, 52.4, 49.3, 48.5, 39.2, 35.0, 34.7, 25.1, 22.8, 22.7, 17.7, 11.9; EIMS m/z (%): 443 ($M^+ + 1$, 3), 442 (M^+ , 0.9), 415 (3), 398 (7), 387 (3), 373 (5), 355 (7), 341 (14), 338 (15), 325 (20), 313 (19), 293 (50), 285 (17), 269 (88), 261 (17), 251 (40), 241 (85), 239 (57), 232 (19), 223 (42), 213 (39), 211 (35), 196 (32), 185 (36), 171 (52), 158 (27), 150 (29), 141 (35), 129 (27), 115 (12), 106 (10), 91 (7), 82 (18), 70 (100); HRMS calcd for $C_{25}H_{30}O_7Na$ ($M + Na$) $^+$ 465.1889, found 465.1892.

对映-13 β ,10 β -二羟基-3,15-二氧-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**19**): 赤霉素衍生物 **9** (467 mg, 1.0 mmol)溶于丙酮(8 mL)和水(2 mL)中,加入碳酸银(276 mg, 1.0 mmol, 1.0 equiv.), 搅拌回流 24 h. 减压蒸去溶剂, 残留物加入水(50 mL), 用乙酸乙酯(15 mL $\times$ 3)萃取, 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经减压蒸干所得粗品经硅胶柱层析纯化(200~300 目, 正己烷/乙酸乙酯, $V:V=5:1\sim 2:1$), 得白色针状固体(253 mg, 54.6%). m.p. 216~217 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.38~7.16 (m, 6H), 6.08 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 6.06 (s, 1H), 5.65 (s, 1H), 5.06 (s, 2H), 3.67 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.86 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.51 (d, $J=11.1$ Hz, 1H), 2.32~2.14 (m, 3H), 2.07 (d, $J=11.1$ Hz, 1H), 1.97~1.80 (m, 3H), 1.65~1.55 (m, 1H), 1.33 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 202.2, 191.2, 172.9, 170.0, 152.8, 146.0, 135.1, 129.7, 128.8, 128.7, 128.6, 118.1, 89.3, 75.9, 67.5, 65.5, 61.6, 60.8, 49.1, 48.1, 40.4, 36.5, 17.5, 12.0;

EIMS m/z (%): 448 (M^+ , 2), 420 (3), 357 (3), 342 (18), 313 (8), 295 (5), 280 (16), 267 (21), 249 (7), 221 (16), 213 (4), 195 (5), 171 (4), 151 (13), 148 (20), 128 (12), 115 (12), 107 (26), 91 (100); HRMS calcd for $C_{26}H_{24}O_7Na$ ($M + Na$) $^+$ 471.1419, found 471.1408.

3.2.3 目标化合物 **20**~**27** 的合成

赤霉素衍生物 **9** (299 mg, 0.64 mmol)溶于无水的醇(15 mL)中, 加入碳酸银(212 mg, 0.77 mmol, 1.2 equiv.), 搅拌回流 24 h. 减压蒸去溶剂, 残留物加入水(70 mL), 用乙酸乙酯(20 mL $\times$ 2)萃取, 有机相用饱和食盐水(10 mL)洗涤, 经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液经减压蒸干所得粗品经硅胶柱层析纯化(200~300 目, 正己烷/乙酸乙酯, $V:V=5:1\sim 2:1$), 得白色固体.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -甲氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**20**): 产率 25%, m.p. 201~202 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.32~7.21 (m, 5H), 7.19 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.14 (s, 1H), 6.07 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.08 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 3.66 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.09 (s, 3H), 2.87 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.37~2.20 (m, 4H), 1.92~1.68 (m, 2H), 1.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 202.6, 191.2, 172.9, 169.9, 148.8, 146.0, 135.0, 129.7, 128.8, 128.6, 128.6, 119.3, 89.3, 81.0, 67.5, 65.5, 61.5, 60.6, 50.5, 49.3, 48.6, 35.6, 33.3, 17.6, 12.0; EIMS m/z (%): 462 (M^+ , 0.5), 418 (1), 389 (2), 371 (15), 356 (6), 343 (19), 327 (4), 312 (4), 280 (6), 269 (13), 237 (5), 221 (15), 217 (7), 195 (5), 165 (11), 149 (10), 128 (7), 115 (12), 91 (100); HRMS calcd for $C_{27}H_{26}O_7Na$ ($M + Na$) $^+$ 485.1576, found 485.1561.

对映-3,15-二氧-13 β -乙氧基-10 β -羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**21**): 产率 25%, m.p. 220~222 °C; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.37~7.21 (m, 5H), 7.19 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.07 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.08 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 3.65 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.32~3.08 (m, 2H), 2.85 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.35~2.17 (m, 5H), 1.92~1.71 (m, 2H), 1.35 (s, 3H), 1.15 (t, $J=6.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 202.7, 191.2, 172.9, 169.9, 149.5, 146.1, 135.1, 129.6, 128.8, 128.6, 118.9, 89.3, 80.6, 67.5, 65.5, 61.5, 60.7, 58.4, 49.3, 48.6, 36.2, 34.1, 17.6, 15.8, 14.3, 12.0; EIMS m/z (%): 476 (M^+ , 1), 448 (0.2), 432 (0.8), 421 (2), 385 (8), 357 (15), 341 (6), 324 (4), 311 (5), 283 (9), 267 (10), 255 (3), 231 (5), 221 (11), 213 (4), 195 (5), 179 (7), 149 (8), 128 (6), 115 (8), 107 (5), 91 (100); HRMS calcd for $C_{28}H_{28}O_7Na$ ($M + Na$) $^+$

499.1732, found 499.1724.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -异丙氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**22**): 产率 29%, m.p. 168~169 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.27~7.13 (m, 5H), 7.12 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.99 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.00 (d, $J=11.7$ Hz, 1H), 4.90 (d, $J=11.7$ Hz, 1H), 3.56 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.33~3.23 (m, 1H), 2.79 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.30~2.10 (m, 5H), 1.81~1.63 (m, 2H), 1.28 (s, 3H), 1.01 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 0.98 (d, $J=6.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.8, 191.2, 172.9, 169.9, 150.6, 146.1, 135.0, 129.6, 128.9, 128.5, 119.1, 89.3, 80.7, 67.5, 65.9, 65.5, 61.4, 60.5, 49.2, 48.4, 37.0, 35.7, 24.8, 24.4, 17.6, 12.0; EIMS m/z (%): 490 (M^+ , 4), 462 (1), 399 (1), 384 (2), 375 (8), 357 (17), 329 (24), 313 (22), 311 (20), 295 (7), 285 (8), 267 (15), 239 (10), 221 (9), 213 (9), 211 (7), 185 (10), 171 (13), 165 (6), 149 (12), 128 (3), 91 (100); HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 513.1889, found 513.1894.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -丙氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**23**): 产率 58%, m.p. 210~211 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.33~7.20 (m, 5H), 7.20 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.07 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.08 (d, $J=11.7$ Hz, 1H), 4.99 (d, $J=11.7$ Hz, 1H), 3.65 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.19~3.00 (m, 2H), 2.86 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.38~2.18 (m, 5H), 1.92~1.73 (m, 2H), 1.61~1.47 (m, 2H), 1.35 (s, 3H), 0.89 (d, $J=7.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.7, 191.2, 172.9, 169.9, 149.5, 146.1, 135.0, 129.6, 128.8, 128.6, 119.0, 89.3, 80.4, 67.5, 65.5, 64.6, 61.5, 60.6, 49.2, 48.6, 36.1, 34.0, 23.5, 17.6, 12.0, 10.7; EIMS m/z (%): 490 (M^+ , 1), 463 (0.8), 446 (1), 435 (0.9), 399 (2), 373 (3), 371 (4), 357 (8), 339 (4), 329 (5), 313 (3), 311 (11), 297 (9), 285 (4), 267 (13), 239 (4), 221 (10), 213 (5), 193 (5), 149 (3), 128 (3), 115 (4), 107 (5), 91 (100); HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{O}_7\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 513.1889, found 513.1892.

对映-13 β -丁氧基-3,15-二氧-10 β -羟基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**24**): 产率 23%, m.p. 197~198 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.37~7.18 (m, 5H), 7.18 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.07 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.07 (d, $J=11.8$ Hz, 1H), 4.98 (d, $J=11.8$ Hz, 1H), 3.65 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.22~3.02 (m, 2H), 2.86 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.33~2.10 (m, 6H), 1.93~1.70 (m, 3H), 1.61~1.45 (m, 2H), 1.35 (s,

3H), 0.90 (d, $J=7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.7, 191.2, 172.9, 169.9, 149.5, 146.1, 135.0, 129.6, 128.8, 128.5, 119.0, 89.3, 80.4, 67.5, 65.5, 62.7, 61.4, 60.6, 49.2, 48.6, 36.0, 34.0, 32.3, 19.4, 17.6, 14.0, 12.0; EIMS m/z (%): 504 (M^+ , 0.9), 460 (1), 449 (2), 431 (1.5), 385 (4), 360 (7), 357 (10), 339 (4), 329 (6), 311 (7), 280 (3), 267 (7), 255 (6), 239 (5), 221 (5), 195 (5), 171 (4), 165 (3), 128 (3), 107 (5), 91 (100); HRMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{O}_7$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 505.2226, found 505.2194.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -异丁氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**25**): 产率 72%, m.p. 160~161 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.27~7.10 (m, 5H), 7.11 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.99 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.00 (d, $J=11.8$ Hz, 1H), 4.90 (d, $J=11.8$ Hz, 1H), 3.57 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.94~2.72 (m, 2H), 2.78 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.30~2.05 (m, 5H), 1.83~1.59 (m, 3H), 1.27 (s, 3H), 0.81 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 0.80 (d, $J=6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.8, 191.2, 172.9, 169.9, 149.6, 146.1, 135.0, 129.6, 128.7, 128.6, 119.1, 89.3, 80.3, 69.5, 67.5, 65.5, 61.4, 60.6, 49.2, 48.6, 35.9, 34.1, 28.9, 19.5, 19.4, 17.5, 12.0; TOF-MS m/z (%): 505 (M^++1 , 100%), 483 (55), 397 (28), 325 (25), 301 (14), 149 (20); HRMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{O}_7$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 505.2226, found 505.2195.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -戊氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**26**): 产率 46%, m.p. 120~122 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.27~7.08 (m, 5H), 7.11 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.98 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.40 (s, 1H), 4.99 (d, $J=11.7$ Hz, 1H), 4.90 (d, $J=11.7$ Hz, 1H), 3.57 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.14~2.96 (m, 2H), 2.79 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.30~2.05 (m, 6H), 1.83~1.61 (m, 2H), 1.51~1.38 (m, 2H), 1.30~1.14 (m, 3H), 1.26 (s, 3H), 0.83 (d, $J=6.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.7, 191.2, 172.9, 169.9, 149.5, 146.1, 135.0, 129.5, 128.7, 128.5, 128.5, 118.9, 89.3, 80.4, 67.4, 65.5, 62.9, 61.4, 60.6, 49.2, 48.5, 36.0, 34.0, 29.9, 28.3, 22.5, 17.5, 14.0, 11.9; TOF-MS m/z (%): 519 (M^++1 , 100), 497 (25), 475 (18), 339 (20), 318 (29), 274 (80), 249 (65), 161 (24), 149 (42); HRMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{O}_7$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 519.2382, found 519.2347.

对映-3,15-二氧-10 β -羟基-13 β -异戊氧基-20-失碳赤霉-1,16-二烯-7,19-二羧酸 7-苯甲酯 19,10-内酯(**27**): 产率 78%, m.p. 140~141 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.25~7.05 (m, 5H), 7.12 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 6.03 (s,

1H), 5.98 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.40 (s, 1H), 4.99 (d, $J=11.8$ Hz, 1H), 4.90 (d, $J=11.8$ Hz, 1H), 3.56 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.20~2.96 (m, 2H), 2.79 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 2.30~2.05 (m, 5H), 1.83~1.51 (m, 3H), 1.41~1.28 (m, 2H), 1.26 (s, 3H), 0.81 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 0.79 (d, $J=6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 202.7, 191.2, 172.9, 169.9, 149.6, 146.1, 134.9, 129.5, 128.7, 128.5, 128.5, 118.8, 89.3, 80.4, 67.4, 65.4, 61.4, 61.2, 60.5, 49.2, 48.5, 39.1, 35.9, 34.0, 25.0, 22.7, 22.7, 17.5, 11.9; TOF-MS m/z (%): 519 ($\text{M}^+ + 1$, 100), 501 (15), 411 (20), 339 (12), 149 (22); HRMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{O}_7$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 519.2382, found 519.2346.

3.2.4 抗肿瘤活性测试

测试前用二甲亚砜(DMSO)分别溶解阳性对照化合物 1、DDP 及样品 8~27, 并配成 10 mg/mL 浓度的母液。

将对数生长期的细胞调整为适当浓度(悬浮细胞 $6 \times 10^4/\text{mL}$, 贴壁细胞 $5 \times 10^4/\text{mL}$)后加入 96 孔培养板, 90 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 。药物设 5 个浓度, 每个浓度设 3 个平行孔, 10 $\mu\text{L}/\text{孔}$, 使受试浓度分别为 0.01, 0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 空白孔为 100 μL 培养液, 阴性对照孔为 90 μL 的细胞加 10 μL 的培养液; 阳性对照药物为抗癌药物毛茛乙素、顺铂。贴壁生长细胞待培养 24 h 贴壁后加药; 悬浮生长细胞接种后即加药。加药后置 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养箱, 悬浮细胞培养 48 h, 贴壁细胞培养 72 h 后, 加入 MTT (5 mg/mL), 20 $\mu\text{L}/\text{孔}$, 继续培养 4 h 后加入三联液[10 g SDS, 5 mL 异丁醇, 100 mL 0.012 mol/L 的 HCl 溶液], 100 $\mu\text{L}/\text{孔}$, 放置过夜后, 用酶标仪在 570 nm 波长下测定各孔的光密度(OD)值。用以下列公式计算细胞的生长抑制率:

$$\text{生长抑制率} = (\text{OD}_{\text{阴性对照}} - \text{OD}_{\text{加药孔}}) / \text{OD}_{\text{阴性对照}} \times 100\%$$

LOGIT 法计算受试样品对细胞生长的半数抑制浓度 IC_{50} , 每个样品平行测定三次, 实验结果见表 2。

References

- [1] (a) Mander, L. N. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 573.
(b) Mander, L. N. *Nat. Prod. Rep.* **2003**, 20, 49.
- [2] (a) MacMillan, J. *Nat. Prod. Rep.* **1997**, 14, 221.
(b) Hanson, J. R. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23, 875.
(c) Keyzers, R. A.; Peter, T. N.; Davies-Coleman, M. T. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23, 321.
(d) Hanson, J. R. *Nat. Prod. Rep.* **2007**, 24, 1332.
- [3] Sun, H.-D.; Huang, S.-X.; Han, Q.-B. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23, 673.
- [4] (a) Zhao, Y.; Niu, X.-M.; Qian, L.-P.; Liu, Z.-Y.; Zhao, Q.-S.; Sun, H.-D. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42, 494.
(b) He, F.; Xiao, W.; Pu, J.; Wu, Y.; Zhang, H.; Li, X.; Zhao, Y.; Yang, L.; Chen, G.; Sun, H. *Phytochemistry* **2009**, 70, 1462.
(c) Aquila, S.; Weng, Z.-Y.; Zeng, Y.-Q.; Sun, H.-D.; Luis Rios, J. *J. Nat. Prod.* **2009**, 72, 1269.
(d) Mao, Z.; Li, Y.; Chen, J.; Wang, Y.; Zhang, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 4116.
- [5] (a) Ikezoe, T.; Yang, Y.; Bandobashi, K.; Saito, T.; Takemoto, S.; Machida, H.; Togitani, K.; Koeffler, H. P.; Taguchi, H. *Mol. Cancer Ther.* **2005**, 4, 578.
(b) Wang, L.; Zhao, W.-L.; Yan, J.-S.; Liu, P.; Sun, H.-P.; Zhou, G.-B.; Weng, Z.-Y.; Wu, W.-L.; Weng, X.-Q.; Sun, X.-J.; Chen, J.; Sun, H.-D.; Chen, S.-J. *Cell Death Differ.* **2007**, 14, 306.
(c) Zhang, Y.-W.; Jiang, X.-X.; Chen, Q.-S.; Shi, W.-Y.; Wang, L.; Sun, H.-D.; Shen, Z.-X.; Chen, Z.; Chen, S.-J.; Zhao, W.-L. *Exp. Hematol.* **2010**, 38, 191.
- [6] Chen, J.; Sun, Z.; Zhang, Y.; Zeng, X.; Qing, C.; Liu, J.; Li, L.; Zhang, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 5496.
- [7] (a) MacMillan, J.; Wills, C. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 309.
(b) Lombardo, L.; Mander, L. N.; Turner, J. V. *Aust. J. Chem.* **1981**, 34, 745.
- [8] Bhaskar, K. V.; Mander, L. N. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 719.
- [9] Dolan, S. C.; MacMillan, J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1985**, 2741.
- [10] Liu, J.-P.; Zhang, H.-B.; Huang, S.-X.; Pu, J.-X.; Xiao, W.-L.; Zhang, X.-P.; Xiao, W.-D.; Lei, C.; Sun, H.-D. *J. Heterocycl. Chem.* **2012**, 49, 571.
- [11] (a) Alley, M. C.; Scudiero, D. A.; Monks, A.; Hursey, M. L.; Czerwinski, M. J.; Fine, D. L.; Abbott, B. J.; Mayo, J. G.; Shoemaker, R. H.; Boyd, M. R. *Cancer Res.* **1988**, 48, 589.
(b) Zhou, J.-J.; Yue, X.-F.; Han, J.-X.; Yang, W.-Y. *Chin. J. Pharm.* **1993**, 24, 455.

(Zhao, C.)