大黄酸-氨基酸缀合物的合成及初步抗肿瘤活性研究

周昌健^a 谢建伟^{*,a} 张洁^{*,a} 代斌^a^(a) 石河子大学化学化工学院 新疆兵团化工绿色过程重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地
石河子 832003)

摘要 以大黄酸为原料, 经过酯化、醚化、水解、缩合等步骤, 合成了 20 个大黄酸-氨基酸缀合物. 所有目标化合物经 ¹H NMR, ¹³C NMR 和 HRMS 进行结构确证. 以顺铂和阿霉素为阳性对照药, 采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法考察了目标化合物体外抗肿瘤(Hela, MCF-7, HepG2, KB 和 HEK293T 等 5 株细胞)活性. 结果显示 2-(4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸钠(**6eb**)显示出较好的抗肿瘤活性, DNA 对 2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸钠(**6db**)和 **6eb** 作用的荧光光谱均表现出荧光猝灭现象, 推测 **6db** 可能仅是静电结合或分子部分嵌入 DNA.

关键词 大黄酸; 氨基酸; 抗肿瘤; 构效关系

Study on the Synthesis and Anti-tumor Activities of Rhein-Amino Acid Conjugates

Zhou, Changjian^a Xie, Jianwei^{*,a} Zhang, Jie^{*,a} Dai, Bin^a^(a) School of Chemistry and Chemical Engineering and Key Laboratory for Green Processing of Chemical Engineering of Xinjiang Bingtuan, Shihezi University, Shihezi 832003)

Abstract 20 novel rhein-amino acid conjugates were designed and synthesized from the rhein via esterification, etherification, hydrolysis, condensation and salification. Their structures were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR and HRMS. All the target compounds were tested for cytotoxic activity against five cancer cell lines including Hela, MCF-7, HepG2, KB and HEK293T by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) method *in vitro*. The results showed that sodium (4,5-bis(benzyloxy)-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracene-2-carbonyl)leucinate (**6eb**) demonstrated moderate cytotoxic activities ($IC_{50} < 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). The fluorescence of compounds sodium (4,5-dibutoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracene-2-carbonyl)leucinate (**6db**) and **6eb** could be both quenched by DNA. It was speculated that compound **6db** interacted with DNA by the static attraction or was partially embedded into DNA.

Keywords rhein; amino acid; antitumor activity; structure-activity relationships

癌症是当今威胁人类生命健康的重要疾病之一. 全球癌症研究所发布的报告表明, 整个亚洲死于癌症的人数约占癌症死亡总人数 55%^[1]. 近年来, 植物来源的大量活性天然组分是发现抗肿瘤创新药的重要途径. Newman 等^[2]调研发现 20 世纪 80 年代后 26 年间全球推出的药物小分子新化学实体中, 超过百分之六十的药物小分子可追溯到天然产物激发的灵感或者天然产物本身.

大黄酸是大黄的有效成分和标志性成分, 属于羟基蒽醌类衍生物, 具有抗炎、抗病毒、降糖调脂等广泛的药理活性^[3~9]. 更为重要的是, 大黄酸还具有优良的抗肿瘤活性^[10~14]及在协同抗肿瘤方面表现突出^[15,16], 并

且其引起的泻下作用在人体忍受范围内. 众多的文献报道表明, 蒽醌衍生物在抗肿瘤药物研究方面^[17~20]应用广泛, 以蒽醌结构作为药效团的药物已经成为一类重要的临床抗癌药物, 如阿霉素(Doxorubicin)、米托蒽醌(Mitoxantrone)等(图 1). 阿霉素主要通过影响拓扑异构酶 II (topoisomerase, TOPO II) 的活性而发挥抗肿瘤作用; 而米托蒽醌是 DNA 嵌入剂, 它能嵌入到 DNA 碱基之间, 导致 DNA 链的胶连和链结构的破坏, 从而阻断 DNA 合成与转录; 它还能够抑制 DNA 拓扑异构酶 II, 导致基因组 DNA 的解旋. 因此, 大黄酸可作为一种潜在的抗肿瘤药物先导物.

目前, 对于大黄酸的研究, 主要集中在其药理活性

* Corresponding authors. E-mail: cesxjw@foxmail.com; zhangjie-xj@163.com

Received July 12, 2016; revised August 20, 2016; published online September 12, 2016.

图1 阿霉素、米托蒽醌和大黄酸的化学结构

Figure 1 Chemical structures of doxorubicin, mitoxantrone and rhein

以及3-位的结构衍生化^[21-26], 对其1,8-位和3-位同时衍生化的研究很少. 本文围绕大黄酸1,8-位进行衍生化的同时, 将氨基酸片段引入到大黄酸的羧基位中, 重点研究不同氨基酸取代及不同长度的烷基取代衍生物的抗肿瘤活性及其与DNA作用能力, 期望能够增强该系列药物的溶解性并缓解药物的细胞毒性, 提高其生物利用率.

1 结果与讨论

1.1 化合物合成与结构

如Scheme 1所示, 本实验以大黄酸(**1**)为起始原料, SOCl_2 作为催化剂, 先与乙醇在回流条件下发生酯化反应, 得到大黄酸乙酯**2**; **2**与不同卤代烃在强碱NaH作用下生成醚, 再酯水解, 得到1,8-二烷氧基大黄酸**3a~3e**; 在EDCI/DMAP条件下, **3a~3e**与不同氨基酸酯发生缩合, 得到化合物**4aa~4ed**; 在氢氧化钠作用下, 氨基酸

酯水解, 得化合物**5aa~5ed**; 为了增加化合物的水溶性, 最后将**5aa~5ed**与等物质的量的NaOH反应转化成相应的钠盐**6aa~6ed**. 目标化合物结构经 ^1H NMR, ^{13}C NMR和HRMS进行结构确证.

1.2 生物活性-结构分析

实验采用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法对目标化合物**6aa~6ed**进行了体外抗肿瘤活性测试, 以顺铂和阿霉素作为阳性对照. 结果如表1所示, 当C-1,8位为甲氧基和乙氧基时, 所有衍生物整体上并未表现出明显的抗肿瘤活性. 当C-1,8位为丙氧基和丁氧基, C-3位氨基酸残基为亮氨酸和苯丙氨酸时, 所有衍生物的抗肿瘤活性与甲氧基和乙氧基系列相比都有所提高, 其中**6cb**和**6db**活性最好, 均优于同系列其他化合物. 当C-1,8位为苄氧基时, 所有衍生物的抗肿瘤活性进一步提高, 并且整个系列对所测的5个细胞株表现出普遍的抑制活性, 其中**6eb**对所测试的5个细胞株均表现出显著的抑制活性($\text{IC}_{50} < 50 \mu\text{mol/L}$), 也是所有测试化合物中抗肿瘤活性最强的化合物. 综上可知, C-1,8位随着基团链的增长或体积增加, 抗肿瘤活性成递增趋势, 具体顺序为: 苄氧基>丁氧基>丙氧基>乙氧基>甲氧基; C-3位氨基酸残基种类对活性的影响顺序为: 亮氨酸>苯丙氨酸>蛋氨酸>甘氨酸.

1.3 与DNA的相互作用

与DNA的相互作用是抗肿瘤药物设计中一个重要靶点, 我们合成的化合物初步抗肿瘤活性结果基本达到预期设计目标, 通过选择有代表性的化合物与DNA作用, 希望可以判断抗肿瘤活性的原因所在.

由于化合物**6db**和**6eb**含有共同的蒽醌环作为荧光发射基团, 我们比较了DNA对**6db**和**6eb**荧光光谱的影响(图2). 随着DNA浓度的增加, 两个体系均出现不

Reagents and conditions: (i) SOCl_2 , EtOH, reflux; (ii) R^1X , NaH, DMF, $90 \sim 130^\circ\text{C}$; (iii) 1 mol/L NaOH (aq.), r.t. $\sim 60^\circ\text{C}$; then 1 mol/L HCl (aq.), r.t.; (iv) $\text{NH}_2\text{CH}(\text{R}^2)\text{COOMe/Et}$, EDCI, DMAP, CH_2Cl_2 , r.t.; (v) 1 mol/L NaOH EtOH, r.t.; then 1 mol/L HCl (aq.), r.t.; (vi) 1 mol/L NaOH (aq.), EtOH, r.t.

图式2 目标化合物的合成路线

Scheme 2 Synthetic route of the target compounds

表 1 化合物的体外抗肿瘤活性
Table 1 Anti-tumor activity of derivatives *in vitro*

Compd.	R ¹	R ²	IC ₅₀ ^a /(μmol·L ⁻¹)				
			Hela	MCF7	HepG2	KB	HEK293T
6aa	CH ₃	H	>100	>100	>100	>100	>100
6ab	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	>100	>100	>100	>100	>100
6ac	CH ₃	CH ₂ Ph	>100	>100	>100	>100	>100
6ad	CH ₃	CH ₂ CH ₂ SCH ₃	>100	>100	>100	>100	>100
6ba	CH ₂ CH ₃	H	>100	>100	>100	>100	>100
6bb	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	>100	>100	>100	>100	>100
6bc	CH ₂ CH ₃	CH ₂ Ph	>100	>100	>100	>100	>100
6bd	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ SCH ₃	>100	>100	>100	>100	>100
6ca	CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	>100	>100	>100	>100	>100
6cb	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	75.8	22.8	79.1	62.6	>100
6cc	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ Ph	>100	95.4	81.6	68.8	97.6
6cd	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ SCH ₃	>100	>100	>100	>100	>100
6da	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	>100	>100	>100	64.5	28.4
6db	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	62.1	80.2	51.2	27.7	37.4
6dc	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ Ph	70.2	>100	42.3	43.4	52.2
6dd	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ SCH ₃	>100	>100	>100	62.4	83.2
6ea	CH ₂ Ph	H	>100	>100	>100	>100	>100
6eb	CH ₂ Ph	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	41.9	44.4	31.7	26.7	24.1
6ec	CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	50.1	>100	64.6	64.3	>100
6ed	CH ₂ Ph	CH ₂ CH ₂ SCH ₃	>100	>100	>100	99.8	>100
顺铂	—	—	5.5	15.8	14.3	6.1	3.3
阿霉素	—	—	0.99	2.8	4.7	3.7	0.7

^a The data represent the mean values of three independent determinations.

同程度的荧光猝灭。这恰恰表明,这两个化合物与 DNA 作用方式具有相似性,即蒽环进入了 DNA 双螺旋结构的影响区域^[27]。比较化合物 **6db** 和 **6eb** 的结构,可以看出两个化合物 C-3 位具有相同的氨基酸残基, C-1,8 位为分别为丁氧基和苄氧基,具有较高的结构相似性,因而两个化合物与 DNA 相互作用的荧光光谱未显示明显差别。**6db** 与 DNA 的相互作用方式更接近于长链类脂化合物的表面活性作用,推测它与 DNA 的作用可能仅是静电结合或分子部分嵌入 DNA。

2 结论

本文以大黄酸为原料,经过酯化、烷基化、水解、缩合等步骤,设计合成了 20 个未见文献报道的大黄酸-氨基酸缀合物,达到了预期目标。通过 ¹H NMR, ¹³C NMR 和 HRMS 确证了该系列化合物的结构,采用 MTT 法研究了化合物对宫颈癌细胞(Hela)、人肝癌细胞(HepG-2)、人乳腺癌细胞(MCF-7)、人口腔表皮癌细胞(KB)和人胚肾细胞(HEK293T)的体外生长抑制活性,部分化合物对肿瘤细胞具有一定的生长抑制作用。化合物 **6db** 和 **6eb** 与 DNA 的相互作用均出现不同程度的荧光猝灭,表明该类化合物是 DNA 嵌入剂。本研究对大黄酸衍生物的研究提供了实验与理论基础,具有一定的指导意义。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

WRS-1B 型数字熔点仪(上海精密科学仪器有限公司); FT/IR-360 型红外光谱仪(美国 Nicolet 公司); ZF-2 型紫外分析仪(上海安亭电子仪器厂); Bruker Avance III HD 400 核磁共振仪(CDCl₃ 或 DMSO-*d*₆ 为溶剂, TMS 为内标, 美国布鲁克公司); AL104 型分析天平(瑞士梅特勒); Synergy 2 多功能酶标仪(美国伯腾仪器有限公司(BioTek)); F-2500 型荧光光谱仪(日立高新技术公司); 全自动旋光仪(鲁道夫 Autopol V 型); 柱色谱用硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工有限公司); IC₅₀ 浓度计算软件为 Origin 9.0。

大黄酸(分析纯, 多点化学); 碘甲烷、溴乙烷、溴丙烷、1-溴丁烷、溴化苄等烷基化试剂均为分析纯, 购自于阿拉丁试剂公司; 甘氨酸乙酯盐酸盐、苯丙氨酸乙酯盐酸盐、亮氨酸甲酯盐酸盐和蛋氨酸甲酯盐酸盐均为分析纯, 购自于 Adamas 试剂公司。

3.2 化合物的合成

3.2.1 中间体 2 的合成

将大黄酸 2.84 g (10 mmol)、无水乙醇 40 mL 和 SOCl₂ 10 mL 加入到 250 mL 圆底烧瓶中, 加热至回流反应 24 h, 待原料完全转化完毕, 直接将反应液倒入 1 L

图2 化合物 **6db** (a) 和 **6eb** (b) 与 DNA 作用的荧光光谱图
Figure 2 Spectrofluorimetric titration of **6db** (a) and **6eb** (b) interacting with DNA

的蒸馏水中, 抽滤, 并用大量的蒸馏水洗涤固体, 固体在真空干燥箱中充分干燥, 得到 2.934 g 化合物 **2**, 产率为 94%。直接投入下步反应。

3.2.2 中间体 **3a**~**3e** 的合成

在 100 mL 的圆底烧瓶中加入化合物 **2** (1 mmol, 312 mg)、DMF 50 mL、NaH (5 mmol, 200 mg) 和碘/溴代烷烃 12 mmol。反应液加热到 90~130 °C 下反应至原料点消失(TLC 监测)。反应结束后, 将反应液倒入 1 mol/L 的 30 mL HCl 水溶液中, 并用二氯甲烷萃取, 收集有机相, 减压旋蒸得到的粗产物, 经柱层析分离[洗脱剂为 *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=5:1]得到粗产物。将粗产物直接加入到 20 mL 1 mol/L 的 NaOH 水溶液中, 室温至 60 °C 搅拌, TLC 监测反应进程待水解完毕后, 用 1 mol/L HCl 水溶液调节 pH 至 5~6, 待固体析出, 抽滤, 并用大量的去离子水洗涤固体, 将固体充分干燥即得到黄色固体 **3a**~**3e**, 产率 46~86%。直接投入下步反应。

3.2.3 中间体 **4aa**~**4ed** 的合成

取化合物 **3** (1.56 g, 5 mmol)、4-*N,N*-二甲氨基吡啶 (DMAP, 1.22 g, 10 mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDCI, 1.44 g, 7.5 mmol)和 *L*-氨基酸酯盐酸盐(6 mmol)混合, 加入 100 mL 二氯甲烷, 室温搅拌反应, TLC 监测反应进程。待反应结束后, 将反应液缓慢倒入 150 mL HCl (0.1 mol/L) 溶液中, 并用二氯甲烷萃取三次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩。经柱层析分离[*V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=2:1]纯化得黄色液体, 减压浓缩至干得目标产物。

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸乙酯 (**4aa**): 黄色固体, 产率 84%。m.p. 235.8~236.7 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8.10 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.87 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.82 (dd, *J*=7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.65 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.31 (dd, *J*=0.8, 8.4 Hz, 1H), 7.07 (t, *J*=4.8 Hz, 1H), 4.25~4.30 (m, 4H), 4.06 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 1.33 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸甲酯 (**4ab**): 黄色固体, 产率 89%。m.p. 106.3~107.3 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8.09 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.89 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.85 (dd, *J*=1.2, 7.6 Hz, 1H), 7.67 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.33 (dd, *J*=0.8, 8.8 Hz, 1H), 6.92 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 4.85~4.91 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 1.72~1.82 (m, 3H), 1.02 (d, *J*=2.8 Hz, 3H), 1.01 (d, *J*=3.2 Hz, 3H)。

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-3-苯基丙酸乙酯 (**4ac**): 黄色固体, 产率 73%。m.p. 171.6~172.5 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8.00 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.83 (dd, *J*=1.2, 8.0 Hz, 1H), 7.80 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.66 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.25~7.35 (m, 4H), 7.18~7.21 (m, 2H), 6.89 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 5.05~5.10 (m, 1H), 4.24 (q, *J*=7.2 Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.23~3.34 (m, 2H), 1.29 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸甲酯 (**4ad**): 黄色固体, 产率 78%。m.p. 68.8~69.6 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8.11 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.86 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.83 (dd, *J*=1.2, 7.6 Hz, 1H), 7.66 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.38 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.32 (dd, *J*=0.8, 8.4 Hz, 1H), 4.95~5.00 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 2.65 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 2.17~2.35 (m, 2H), 2.15 (s, 3H)。

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸乙酯 (**4ba**): 黄色固体, 产率 84%。m.p. 174.8~175.3 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8.10 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.86 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.82 (dd, *J*=1.2, 7.6 Hz, 1H), 7.62 (t,

$J=8.0$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J=0.8$, 8.4 Hz, 1H), 7.02 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 4.22~4.33 (m, 8H), 1.55 (t, $J=7.2$ Hz, 6H), 1.33 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸甲酯(**4bb**): 黄色固体, 产率 83%. m.p. 149.6~150.4 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.07 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.84 (dd, $J=0.8$, 7.6 Hz, 1H), 7.63 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.32 (dd, $J=0.8$, 8.4 Hz, 1H), 6.83 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.85~4.90 (m, 1H), 4.30 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 4.26 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 1.71~1.81 (m, 3H), 1.56 (t, $J=7.2$ Hz, 6H), 1.02 (d, $J=3.2$ Hz, 3H), 1.00 (d, $J=2.8$ Hz, 3H).

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-3-苯基丙酸乙酯(**4bc**): 黄色固体, 产率 92%. m.p. 137.5~138.1 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.99 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J=1.2$, 7.6 Hz, 1H), 7.78 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.62 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.27~7.35 (m, 4H), 7.18~7.20 (m, 2H), 6.81 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.04~5.09 (m, 1H), 4.21~4.31 (m, 6H), 3.22~3.33 (m, 2H), 1.55 (t, $J=7.2$ Hz, 6H), 1.28 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸甲酯(**4bd**): 黄色固体, 产率 84%. m.p. 168.6~169.2 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.11 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J=0.8$, 7.6 Hz, 1H), 7.62 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J=0.8$, 8.4 Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 4.94~4.99 (m, 1H), 4.31 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 4.25 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.63 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.17~2.36 (m, 2H), 2.15 (s, 3H), 1.56 (t, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.55 (t, $J=6.8$ Hz, 3H).

2-(4,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸乙酯(**4ca**): 黄色固体, 产率 88%. m.p. 130.8~131.7 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.09 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.80 (dd, $J=0.8$, 7.6 Hz, 1H), 7.61 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.03 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 4.25~4.31 (m, 4H), 4.15 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.10 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 1.90~1.98 (m, 4H), 1.33 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.10~1.15 (m, 6H).

2-(3,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-4-甲基戊酸甲酯(**4cb**): 黄色固体, 产率 91%. m.p. 141.5~142.1 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.06 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.82 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.62 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.85~4.90 (m, 1H), 4.16 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.11 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 1.90~1.99 (m, 4H), 1.71~1.81 (m, 3H), 1.13 (q, $J=7.2$ Hz, 6H), 1.02 (d, $J=3.2$ Hz, 3H),

1.00 (d, $J=2.8$ Hz, 3H).

2-(3,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸乙酯(**4cc**): 黄色固体, 产率 89%. m.p. 138.2~139.2 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.97 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.81 (dd, $J=0.8$, 7.6 Hz, 1H), 7.77 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.61 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.27~7.35 (m, 4H), 7.17~7.20 (m, 2H), 6.79 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.04~5.09 (m, 1H), 4.24 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 4.14 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.10 (t, $J=1.6$ Hz, 2H), 3.22~3.33 (m, 2H), 1.90~1.99 (m, 4H), 1.28 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.10~1.15 (m, 6H).

2-(3,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸甲酯(**4cd**): 黄色固体, 产率 77%. m.p. 143.6~144.5 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.09 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.82 (dd, $J=0.8$, 7.6 Hz, 1H), 7.62 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J=0.8$, 8.4 Hz, 1H), 7.25 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 4.94~4.99 (m, 1H), 4.16 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.11 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.63 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.17~2.35 (m, 2H), 2.15 (s, 3H), 1.90~1.99 (m, 4H), 1.10~1.15 (m, 6H).

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸乙酯(**4da**): 黄色固体, 产率 87%. m.p. 139.1~140.0 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.09 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.78 (dd, $J=1.2$, 7.6 Hz, 1H), 7.59 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.28 (dd, $J=1.2$, 8.0 Hz, 1H), 7.15 (t, $J=5.2$ Hz, 1H), 4.24~4.30 (m, 4H), 4.18 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.13 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 1.86~1.93 (m, 4H), 1.57~1.63 (m, 4H), 1.32 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 0.99~1.03 (m, 6H).

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸甲酯(**4db**): 黄色固体, 产率 82%. m.p. 73.1~73.9 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.05 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.82 (dd, $J=0.8$, 7.6 Hz, 1H), 7.62 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.85~4.90 (m, 1H), 4.20 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.15 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 1.87~1.94 (m, 4H), 1.70~1.81 (m, 3H), 1.55~1.66 (m, 4H), 0.99~1.04 (m, 12H).

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-3-苯基丙酸乙酯(**4dc**): 黄色固体, 产率 86%. m.p. 135.4~136.3 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7.97 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.81 (dd, $J=1.2$, 7.6 Hz, 1H), 7.77 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.61 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.27~7.35 (m, 4H), 7.17~7.20 (m, 2H), 6.79 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.07 (q, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.23 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 4.18 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.14 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.22~3.33 (m, 2H), 1.86~1.94 (m, 4H), 1.57~1.64 (m, 4H), 1.28 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 0.99~

1.03 (m, 6H).

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸甲酯(**4dd**): 黄色固体, 产率 75%. m.p. 123.6~124.5 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.09 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.62 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 4.94~4.99 (m, 1H), 4.20 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.15 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.63 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.17~2.34 (m, 2H), 2.15 (s, 3H), 1.87~1.94 (m, 3H), 1.58~1.64 (m, 4H), 0.99~1.04 (m, 6H).

2-[4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基]乙酸乙酯(**4ea**): 黄色固体, 产率 88%. m.p. 144.6~145.3 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.11 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J=1.2$, 7.6 Hz, 1H), 7.57~7.65 (m, 5H), 7.37~7.41 (m, 4H), 7.32~7.35 (m, 3H), 7.04 (t, $J=5.2$ Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 5.29 (s, 2H), 4.24~4.30 (m, 4H), 1.33 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

2-[4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基]-4-甲基戊酸甲酯(**4eb**): 黄色固体, 产率 82%. m.p. 85.7~86.5 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.11 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.87 (dd, $J=1.2$, 7.6 Hz, 1H), 7.60~7.66 (m, 5H), 7.33~7.42 (m, 7H), 6.82 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 5.31 (s, 2H), 4.85~4.90 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 1.71~1.81 (m, 3H), 1.02 (d, $J=2.0$ Hz, 3H), 1.00 (d, $J=2.0$ Hz, 3H).

2-[4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基]-3-苯基丙酸乙酯(**4ec**): 黄色固体, 产率 90%. m.p. 92.5~93.3 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.03 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.87 (dd, $J=1.2$, 8.0 Hz, 2H), 7.60~7.66 (m, 5H), 7.28~7.42 (m, 10H), 7.17~7.19 (m, 1H), 6.77 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 5.32 (s, 2H), 5.04~5.09 (m, 1H), 4.24 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.23~3.34 (m, 2H), 1.29 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

2-[4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基]-4-(甲硫基)丁酸甲酯(**4ed**): 黄色固体, 产率 63%. m.p. 125.4~126.2 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.14 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.87 (dd, $J=0.8$, 7.6 Hz, 1H), 7.61~7.67 (m, 5H), 7.33~7.42 (m, 7H), 7.23 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.37 (s, 2H), 5.32 (s, 2H), 4.94~4.99 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 2.63 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.28~2.36 (m, 1H), 2.16~2.22 (m, 1H), 2.15 (s, 3H).

3.2.4 化合物 **5aa**~**5ed** 的合成

取化合物 **4** (1 mmol)溶于 10 mL 乙醇中, 滴加 20 mL NaOH (1 mmol/L)溶液, 室温至 70 °C 搅拌反应, TLC 监测反应进程. 待反应结束, 将反应液缓慢倒入 20

mL HCl (1 mmol/L)溶液中, 搅拌的过程中会析出黄色固体, 直接将固体过滤, 并用大量的蒸馏水洗涤固体, 即得化合物 **5aa**~**5ed**.

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸(**5aa**): 黄色固体, 产率 78%. m.p. 203.5~204.5 °C; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 9.28 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.78 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.72 (dd, $J=1.2$, 8.0 Hz, 1H), 7.56 (dd, $J=1.2$, 8.4 Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.98 (s, 2H), 3.93 (s, 3H); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz) δ : 182.7, 180.8, 172.2, 163.5, 158.7, 158.7, 139.6, 134.2, 133.9, 133.8, 124.5, 123.4, 119.0, 118.1, 116.8, 116.7, 56.5, 56.3, 44.4. HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NO}_7$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 368.0776, found 368.0778.

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸(**5ab**): 黄色固体, 产率 79%. m.p. 127.5~128.5 °C; $[\alpha]_D^{25} - 5.1$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 12.72 (s, 1H), 9.08 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.78 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.49~4.55 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 1.79~1.85 (m, 1H), 1.65~1.76 (m, 2H), 0.95 (d, $J=6.0$ Hz, 3H), 0.91 (d, $J=6.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz) δ : 182.9, 180.9, 173.9, 164.7, 158.8, 138.6, 134.4, 134.2, 134.1, 125.3, 123.4, 119.0, 118.2, 117.1, 117.0, 109.6, 56.5, 56.4, 51.1, 24.5, 22.9, 21.2. HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{NO}_7$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 424.1402, found 424.1404.

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸(**5ac**): 黄色固体, 产率 70%. m.p. 130.2~130.8 °C; $[\alpha]_D^{25} - 80.4$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 12.85 (s, 1H), 9.19 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.70~7.78 (m, 3H), 7.54 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.29 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.19 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.67~4.73 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.25 (dd, $J=4.4$, 13.6 Hz, 1H), 3.12 (t, $J=10.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz) δ : 182.9, 180.9, 172.9, 164.7, 158.7, 158.7, 138.5, 138.0, 134.4, 134.2, 134.1, 129.1, 128.2, 126.4, 125.2, 123.4, 119.0, 118.2, 117.0, 116.9, 56.5, 56.3, 54.3, 36.3. HRMS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{NO}_7$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 458.1245, found 458.1249.

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸(**5ad**): 黄色固体, 产率 80%. m.p. 140.6~141.2 °C; $[\alpha]_D^{25} - 20.6$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 8.90 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.77 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J=1.2$, 7.6 Hz, 1H), 7.55 (dd, $J=1.2$, 8.0 Hz, 1H), 4.49~

4.54 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 2.54~2.60 (m, 2H), 2.07~2.14 (m, 2H), 2.06 (s, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.0, 181.0, 164.7, 158.8, 138.8, 134.5, 134.2, 134.1, 125.2, 123.4, 119.0, 118.2, 117.1, 117.0, 56.6, 56.4, 56.1, 52.5, 30.6, 30.2, 18.6, 14.6. HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{NO}_7\text{S}$ $[\text{M} - \text{H}]^-$ 442.0966, found 442.0969.

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸(**5ba**): 黄色固体, 产率 85%. m.p. 230.9~231.7 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.70 (s, 1H), 9.27 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.74 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J=1.6, 7.6$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J=1.6, 7.6$ Hz, 1H), 4.28 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 4.22 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.98 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 1.44 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.41 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.0, 180.6, 171.0, 164.8, 158.2, 158.1, 138.2, 134.3, 134.1, 125.3, 123.5, 120.1, 118.2, 117.9, 116.8, 65.0, 64.7, 41.4, 14.6. HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{NO}_7$ $[\text{M} - \text{H}]^-$ 396.1089, found 396.1085.

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸(**5bb**): 黄色固体, 产率 87%. m.p. 108.5~109.5 °C; $[\alpha]_D^{25} - 0.9$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.68 (s, 1H), 9.07 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.70~7.76 (m, 2H), 7.54 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 4.51 (t, $J=10.8$ Hz, 1H), 4.29 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 4.22 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.81 (t, $J=10.8$ Hz, 1H), 1.64~1.72 (m, 2H), 1.42 (q, $J=6.4$ Hz, 6H), 0.95 (d, $J=5.6$ Hz, 3H), 0.90 (d, $J=5.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.0, 180.6, 173.9, 164.8, 158.2, 158.1, 138.4, 134.3, 134.3, 134.2, 125.3, 123.5, 120.1, 118.2, 117.1, 65.0, 64.7, 51.1, 24.5, 22.9, 21.2, 14.6. HRMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{NO}_7$ $[\text{M} - \text{H}]^-$ 452.1715, found 452.1709.

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸(**5bc**): 黄色固体, 产率 74%. m.p. 213.6~214.0 °C; $[\alpha]_D^{25} - 78.8$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.16 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.70~7.76 (m, 3H), 7.54 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.28 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.19 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.65~4.71 (m, 1H), 4.27 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 4.22 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.25 (dd, $J=4.8, 13.6$ Hz, 1H), 3.10 (q, $J=10.8$ Hz, 1H), 1.42 (q, $J=7.2$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.0, 180.6, 172.9, 164.6, 158.1, 158.0, 138.4, 138.1, 134.3, 134.3, 134.1, 129.1, 128.2, 126.4, 125.3, 123.5, 120.1, 118.2, 118.0, 116.9, 64.9, 64.7, 54.4, 36.3, 14.6, 14.5. HRMS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{NO}_7$ $[\text{M} - \text{H}]^-$

486.1558, found 486.1561.

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸(**5bd**): 黄色固体, 产率 80%. m.p. 102.0~102.5 °C; $[\alpha]_D^{25} - 18.4$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.79 (s, 1H), 9.10 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.71~7.78 (m, 2H), 7.55 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 4.59 (q, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.30 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 4.23 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.54~2.66 (m, 2H), 2.09~2.14 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.40~1.46 (m, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.0, 180.6, 173.2, 164.9, 158.1, 158.1, 138.4, 134.3, 134.3, 134.2, 125.3, 123.5, 120.1, 118.2, 118.1, 117.0, 65.0, 64.7, 51.8, 30.1, 14.6. HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{NO}_7\text{S}$ $[\text{M} - \text{H}]^-$ 470.1279, found 470.1282.

2-(3,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸(**5ca**): 黄色固体, 产率 91%. m.p. 120.1~121.0 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.22 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.69~7.75 (m, 2H), 7.53 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.17 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.10 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.96 (d, $J=5.6$ Hz, 2H), 1.75~1.87 (m, 4H), 1.07 (q, $J=7.2$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.0, 180.6, 171.1, 164.7, 158.3, 158.3, 138.3, 134.3, 134.3, 134.1, 125.4, 123.7, 120.1, 118.2, 117.9, 116.8, 70.7, 70.4, 41.6, 22.1, 10.3. HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{NO}_7$ $[\text{M} - \text{H}]^-$ 424.1402, found 424.1397.

2-(4,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸(**5cb**): 黄色固体, 产率 94%. m.p. 118.0~118.9 °C; $[\alpha]_D^{25} - 2.8$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.06 (d, $J=3.6$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.75 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J=1.2, 7.6$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J=1.2, 8.0$ Hz, 1H), 4.48~4.56 (m, 1H), 4.18 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.11 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 1.78~1.86 (m, 4H), 1.62~1.76 (m, 3H), 1.08 (q, $J=7.2$ Hz, 6H), 0.95 (d, $J=6.4$ Hz, 3H), 0.91 (d, $J=6.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.1, 180.7, 174.0, 164.7, 158.3, 158.2, 138.4, 134.3, 134.2, 125.5, 123.7, 120.1, 118.2, 118.1, 117.0, 70.7, 70.4, 51.1, 24.6, 23.0, 22.1, 21.2, 10.4, 10.3. HRMS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{NO}_7$ $[\text{M} - \text{H}]^-$ 480.2028, found 480.2030.

2-(4,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸(**5cc**): 黄色固体, 产率 96%. m.p. 115.6~116.3 °C; $[\alpha]_D^{25} - 13.0$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.14 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.69~7.76 (m, 3H), 7.53 (dd, $J=1.6, 8.0$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 7.27 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.19 (t, $J=7.2$

Hz, 1H), 4.65~4.71 (m, 1H), 4.15 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.10 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.25 (dd, $J=4.4, 14$ Hz, 1H), 3.11 (q, $J=10.8$ Hz, 1H), 1.75~1.86 (m, 4H), 1.09 (d, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.06 (d, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.0, 180.6, 173.0, 164.6, 158.3, 158.2, 138.4, 138.1, 134.3, 134.1, 129.1, 128.2, 126.4, 125.5, 123.6, 120.1, 118.1, 118.0, 116.9, 70.6, 70.4, 54.5, 36.3, 22.1, 22.0, 10.3. HRMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{NO}_7$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 514.1871, found 514.1873.

2-(3,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸(**5cd**): 黄色固体, 产率 63%. m.p. 96.3~97.3 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -19.6$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.08 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.75 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J=1.2, 7.6$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J=1.2, 8.0$ Hz, 1H), 4.55~4.61 (m, 1H), 4.18 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.11 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.54~2.64 (m, 2H), 2.09~2.14 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.76~1.87 (m, 4H), 1.10 (d, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.06 (d, $J=7.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.1, 180.7, 173.2, 164.9, 158.3, 158.2, 138.4, 134.3, 134.2, 125.5, 123.7, 120.1, 118.2, 118.1, 117.0, 70.7, 70.4, 51.9, 30.1, 22.1, 14.6, 10.4, 10.3. HRMS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{NO}_7\text{S}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 498.1592, found 498.1595.

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸(**5da**): 黄色固体, 产率 73%. m.p. 167.8~168.7 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.27 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 8.17 (dd, $J=1.2, 6.0$ Hz, 1H), 7.89 (dd, $J=1.2, 7.2$ Hz, 1H), 7.67~7.75 (m, 2H), 7.53 (dd, $J=1.2, 7.6$ Hz, 1H), 4.20 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.14 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.00 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 1.73~1.82 (m, 4H), 1.52~1.63 (m, 4H), 0.96~1.00 (m, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.0, 180.6, 171.0, 164.8, 158.3, 158.2, 138.2, 134.3, 134.2, 134.1, 125.6, 123.8, 120.1, 118.1, 117.9, 116.8, 68.9, 68.7, 41.4, 40.2, 39.9, 39.7, 39.5, 39.3, 39.1, 38.9, 30.7, 18.6, 13.7. HRMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{NO}_7$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 452.1715, found 452.1710.

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸(**5db**): 黄色固体, 产率 89%. m.p. 73.5~74.1 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -3.1$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.06 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.74 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.70 (dd, $J=1.6, 8.0$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J=1.6, 8.0$ Hz, 1H), 4.49~4.55 (m, 1H), 4.21 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.14 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 1.73~1.85 (m, 6H), 1.65~1.69 (m, 1H), 1.54~1.61 (m, 4H), 0.95~1.00 (m, 9H), 0.91 (d, $J=6.0$ Hz, 3H); ^{13}C

NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.1, 180.7, 173.9, 164.8, 158.2, 158.2, 138.4, 134.2, 134.1, 125.6, 123.8, 120.1, 118.2, 118.1, 117.0, 68.9, 68.7, 51.1, 30.8, 24.6, 22.9, 21.2, 18.7, 13.7. HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{NO}_7$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 508.2341, found 508.2343.

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸(**5dc**): 黄色固体, 产率 93%. m.p. 156.3~157.2 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -46.1$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.11 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.68~7.76 (m, 3H), 7.53 (dd, $J=1.2, 8.0$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.27 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.18 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 4.64~4.69 (m, 1H), 4.18 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.13 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.25 (dd, $J=4.4, 15.6$ Hz, 1H), 3.10 (q, $J=10.8$ Hz, 1H), 1.72~1.82 (m, 4H), 1.51~1.62 (m, 4H), 0.95~1.00 (m, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.0, 180.6, 173.1, 164.6, 158.2, 158.1, 138.5, 138.3, 134.2, 134.1, 129.1, 128.2, 126.3, 125.5, 123.7, 120.1, 118.1, 118.0, 116.8, 68.9, 68.7, 54.7, 36.4, 30.7, 30.7, 18.7, 13.7. HRMS calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{NO}_7$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 542.2184, found 542.2185.

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲硫基丁酸(**5dd**): 黄色固体, 产率 92%. m.p. 147.0~147.9 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -19.1$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.09 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J=0.8$ Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.75 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J=1.2, 7.6$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J=0.8, 8.0$ Hz, 1H), 4.56~4.61 (m, 1H), 4.21 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.14 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.55~2.66 (m, 2H), 2.09~2.16 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.73~1.83 (m, 4H), 1.52~1.63 (m, 4H), 0.95~1.00 (m, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 183.1, 180.7, 173.2, 164.9, 158.2, 138.3, 134.3, 134.2, 125.6, 123.8, 120.1, 118.2, 118.1, 117.0, 68.9, 68.7, 51.9, 30.7, 30.1, 18.7, 14.6, 13.7. HRMS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{NO}_7\text{S}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 526.1905, found 526.1908.

2-[4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基]乙酸(**5ea**): 黄色固体, 产率 85%. m.p. 152.8~153.6 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.25 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.73~7.79 (m, 2H), 7.62~7.68 (m, 5H), 7.36~7.44 (m, 6H), 5.39 (s, 2H), 5.32 (s, 2H), 3.98 (d, $J=5.6$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 182.8, 180.9, 171.3, 164.6, 157.8, 157.7, 138.5, 136.8, 136.7, 134.4, 134.4, 134.2, 128.5, 128.3, 128.3, 127.6, 127.6, 127.0, 126.8, 126.8, 125.6, 123.8, 120.5, 118.7, 118.4, 117.2, 70.4, 70.1, 41.7. HRMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{22}\text{NO}_7$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 520.1402, found 520.1395.

2-[4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基]-4-甲基戊酸(**5eb**): 黄色固体, 产率 80%. m.p. 175.9~176.3 °C; $[\alpha]_D^{25} - 3.1$ (*c* 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.93 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.25 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.74~7.80 (m, 2H), 7.63~7.68 (m, 5H), 7.34~7.43 (m, 6H), 5.40 (s, 2H), 5.34 (s, 2H), 4.46~4.52 (m, 1H), 1.65~1.81 (m, 3H), 0.95 (d, $J=6.0$ Hz, 3H), 0.91 (d, $J=6.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 182.9, 180.9, 164.4, 157.7, 157.6, 138.8, 136.8, 136.7, 134.4, 134.3, 134.2, 128.3, 127.6, 126.9, 126.8, 125.5, 123.9, 120.5, 118.7, 118.6, 117.4, 70.4, 70.2, 51.7, 24.6, 23.0, 21.3. HRMS calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{NO}_7$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 576.2028, found 576.2020.

2-[4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基]-3-苯基丙酸(**5ec**): 黄色固体, 产率 93%. m.p. 159.8~160.4 °C; $[\alpha]_D^{25} - 9.4$ (*c* 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.79 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.69~7.76 (m, 2H), 7.60~7.66 (m, 5H), 7.33~7.42 (m, 6H), 7.29 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.20 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.12 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 5.34 (s, 2H), 5.31 (s, 2H), 4.57~4.63 (m, 1H), 3.11 (q, $J=9.2$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 182.6, 180.7, 163.9, 157.6, 139.4, 139.0, 136.7, 136.6, 134.2, 134.1, 129.0, 128.2, 127.8, 127.5, 126.8, 126.7, 125.8, 125.3, 123.8, 120.5, 118.6, 117.1, 70.4, 70.2, 55.6, 37.1. HRMS calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{28}\text{NO}_7$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 610.1871, found 610.1863.

2-[4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基]-4-(甲硫基)丁酸(**5ed**): 黄色固体, 产率 90%. m.p. 113.2~113.7 °C; $[\alpha]_D^{25} - 13$ (*c* 0.1, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.98 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.25 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.75~7.80 (m, 2H), 7.63~7.68 (m, 5H), 7.35~7.43 (m, 6H), 5.40 (s, 2H), 5.34 (s, 2H), 4.53~4.58 (m, 1H), 2.54~2.65 (m, 2H), 2.10~2.15 (m, 2H), 2.07 (s, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 182.9, 180.9, 173.4, 164.6, 157.8, 157.7, 138.7, 136.8, 136.7, 134.4, 134.3, 134.2, 128.3, 127.6, 127.6, 126.9, 126.8, 125.6, 123.9, 120.5, 118.7, 117.4, 70.4, 70.2, 52.3, 30.5, 30.2, 14.6. HRMS calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{NO}_7\text{S}$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 594.1592, found 594.1588.

3.2.6 化合物 **6aa**~**6ed** 的合成

取 1 mmol **5aa**~**5ed**、1 mol/L 的 NaOH 水溶液(1 mL)和 5 mL 无水乙醇加入到 25 mL 圆底烧瓶中, 室温搅拌过夜, 反应完成后, 减压蒸馏即可得到大黄酸-氨基酸缀合物钠盐 **6aa**~**6ed**.

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸钠

(**6aa**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.91 (t, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.95 (dd, $J=1.6, 8.0$ Hz, 2H), 7.70 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.58 (dd, $J=1.2, 8.0$ Hz, 1H), 7.52 (dd, $J=1.2, 8.0$ Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.58 (d, $J=5.2$ Hz, 2H).

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸钠(**6ab**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 °C) δ : 8.36 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.76 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.69 (dd, $J=1.2, 7.6$ Hz, 1H), 7.56 (dd, $J=1.2, 8.4$ Hz, 1H), 4.11~4.15 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 1.54~1.75 (m, 3H), 0.87~0.92 (m, 6H).

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸钠(**6ac**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 °C) δ : 8.43 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.30 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 7.17 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.07~7.11 (m, 1H), 4.24~4.28 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.23 (d, $J=4.4$ Hz, 1H), 3.08 (dd, $J=7.2, 13.2$ Hz, 1H).

2-(4,5-二甲氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸钠(**6ad**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 °C) δ : 8.47 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.75 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.08~4.13 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 2.44~2.57 (m, 2H), 1.93~2.12 (m, 2H), 2.00 (s, 3H).

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸钠(**6ba**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.65 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.20~4.29 (m, 4H), 3.57 (d, $J=4.8$ Hz, 2H), 1.41~1.44 (m, 6H).

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸钠(**6bb**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 30 °C) δ : 8.39 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.73 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.27 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 4.22 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 4.11~4.16 (m, 1H), 1.55~1.72 (m, 3H), 1.42 (q, $J=6.8$ Hz, 6H), 0.88~0.90 (m, 6H).

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸钠(**6bc**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 °C) δ : 8.25 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.66~7.73 (m, 3H), 7.52 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.15~7.22 (m, 4H), 7.10 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.20~4.29 (m, 5H), 3.22

(d, $J=4.8$ Hz, 1H), 3.07 (dd, $J=6.8$, 13.2 Hz, 1H), 1.40~1.44 (m, 6H).

2-(4,5-二乙氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸钠(**6bd**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 30 $^\circ\text{C}$) δ : 8.46 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.73 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.67 (dd, $J=1.2$, 7.6 Hz, 1H), 7.53 (dd, $J=5.2$, 8.4 Hz, 1H), 4.28 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 4.22 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 4.07~4.11 (m, 1H), 2.42~2.48 (m, 2H), 1.93~2.12 (m, 2H), 2.02 (s, 3H), 1.40~1.45 (m, 6H).

2-(3,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸钠(**6ca**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 $^\circ\text{C}$) δ : 8.32 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.73 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.68 (dd, $J=1.2$, 7.2 Hz, 1H), 7.53 (dd, $J=1.2$, 8.0 Hz, 1H), 4.17 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.11 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.55 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 1.78~1.85 (m, 4H), 1.06~1.10 (m, 6H).

2-(4,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸钠(**6cb**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 30 $^\circ\text{C}$) δ : 8.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.72 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.15~4.17 (m, 3H), 4.10 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 1.77~1.83 (m, 4H), 1.56~1.68 (m, 3H), 1.05~1.09 (m, 6H), 0.88~0.90 (m, 6H).

2-(4,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸钠(**6cc**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.35 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.71 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.15~7.21 (m, 4H), 7.09 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.22 (q, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.08~4.15 (m, 4H), 3.22 (dd, $J=4.4$, 13.2 Hz, 1H), 3.05 (dd, $J=7.2$, 13.2 Hz, 1H), 1.77~1.83 (m, 4H), 1.04~1.09 (m, 6H).

2-(3,5-二丙氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸钠(**6cd**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 $^\circ\text{C}$) δ : 8.38 (d, $J=6.8$ Hz, 0.5H), 8.32 (d, $J=6.8$ Hz, 0.5H), 8.03~8.04 (m, 1H), 7.84~7.86 (m, 1H), 7.70~7.76 (m, 2H), 7.54 (dd, $J=1.6$, 7.6 Hz, 1H), 4.18 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.12 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 4.02~4.07 (m, 1H), 2.71~2.88 (m, 2H), 2.10~2.43 (m, 2H), 2.02 (s, 3H), 1.78~1.85 (m, 4H), 1.06~1.10 (m, 6H).

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸钠(**6da**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 $^\circ\text{C}$) δ : 8.37 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.67 (dd, $J=1.2$, 8.0 Hz, 1H), 7.52 (dd, $J=1.2$, 8.0 Hz, 1H), 4.20 (t,

$J=6.4$ Hz, 2H), 4.14 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.56 (d, $J=4.8$ Hz, 2H), 1.74~1.82 (m, 4H), 1.52~1.62 (m, 4H), 0.98 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 0.97 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸钠(**6db**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 30 $^\circ\text{C}$) δ : 8.38 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.67 (dd, $J=1.2$, 7.6 Hz, 1H), 7.52 (dd, $J=1.2$, 8.0 Hz, 1H), 4.19 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 4.12~4.15 (m, 3H), 1.75~1.79 (m, 4H), 1.64~1.70 (m, 2H), 1.53~1.59 (m, 5H), 0.95~0.99 (m, 6H), 0.88~0.90 (m, 6H).

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸钠(**6dc**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 $^\circ\text{C}$) δ : 8.19 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.66~7.74 (m, 3H), 7.52 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.08~7.20 (m, 5H), 4.12~4.22 (m, 5H), 3.22 (d, $J=4.8$ Hz, 1H), 3.08 (dd, $J=6.4$, 13.2 Hz, 1H), 1.73~1.81 (m, 4H), 1.53~1.59 (m, 4H), 0.95~0.99 (m, 6H).

2-(4,5-二丁氧基-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲硫基丁酸钠(**6dd**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 $^\circ\text{C}$) δ : 8.48 (dd, $J=3.2$, 7.2 Hz, 1H), 8.02~8.04 (m, 1H), 7.87~7.88 (m, 1H), 7.66~7.74 (m, 2H), 7.52 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.09~4.22 (m, 5H), 2.62~2.89 (m, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.04~2.25 (m, 2H), 1.74~1.82 (m, 4H), 1.54~1.60 (m, 4H), 0.96~1.00 (m, 6H).

2-(4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)乙酸钠(**6ea**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 30 $^\circ\text{C}$) δ : 8.91 (t, $J=5.2$ Hz, 1H), 8.11 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.61~7.74 (m, 7H), 7.37~7.45 (m, 6H), 5.37 (s, 2H), 5.34 (s, 2H), 3.61 (d, $J=5.2$ Hz, 2H).

2-(4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-甲基戊酸钠(**6eb**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 $^\circ\text{C}$) δ : 8.51 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 8.06 (s, 2H), 7.63~7.78 (m, 7H), 7.36~7.44 (m, 6H), 5.40 (s, 2H), 5.34 (s, 2H), 4.14~4.19 (m, 1H), 1.60~1.74 (m, 3H), 0.91 (d, $J=6.0$ Hz, 6H).

2-(4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-羧酰氨基)-3-苯基丙酸钠(**6ec**): 黄色固体. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 40 $^\circ\text{C}$) δ : 8.41 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.63~7.77 (m, 7H), 7.36~7.44 (m, 6H), 7.09~7.22 (m, 5H), 5.37 (s, 2H), 5.34 (s, 2H), 4.22~4.27 (m, 1H), 3.23 (d, $J=4.4$ Hz, 1H), 3.10 (dd, $J=6.4$, 13.2 Hz, 1H).

2-(4,5-双(苄氧基)-9,10-蒽醌-2-甲酰氨基)-4-(甲硫基)丁酸钠(**6ed**): 黄色固体. ^1H NMR (CD₃OD, 400 MHz)

δ : 8.26 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.79 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.65~7.69 (m, 3H), 7.62 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.32~7.41 (m, 6H), 5.38 (s, 2H), 5.30 (s, 2H), 4.63 (dd, $J=4.4, 7.6$ Hz, 1H), 2.61~2.68 (m, 2H), 2.28~2.34 (m, 1H), 2.15~2.19 (m, 1H), 2.13 (s, 1H).

3.3 体外抗肿瘤活性测试

将细胞以约 10^5 个/mL 的密度接种于 96 孔板, 每孔接种 100 μ L, 置 CO₂ 培养箱中培养至对数生长期. 然后按预设的浓度梯度加入待测样品, 每一梯度 3 个重复. 对照组加入等体积的溶解样品用的溶剂. 培养 48 h 后, 每孔加入 20 μ L 的 MTT (5 mg/mL), 然后置于 37 $^{\circ}$ C 温育 4 h. 除去上清后, 每孔加入 100 μ L 的 DMSO, 振荡 10 min 溶解沉淀, 随后用酶标仪检测 OD 值, 波长 490 nm. 用下式求出样品一定浓度下的细胞存活率:

$$\text{存活率}(\%) = \frac{\text{样品组平均 OD 值}}{\text{对照组平均 OD 值}} \times 100\%$$

以细胞存活率对药物浓度对数作图, 按作图法求出每个样品的 IC₅₀ 值.

3.4 化合物与 DNA 相互作用的荧光光谱研究

用 pH7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液配制化合物的待测溶液, 浓度为 1×10^{-5} mol/L, 向此化合物中加入不同体积的 ct-DNA 溶液, 使 DNA 浓度分别为 0、8、16、24、32 和 40 μ mol/L, 在激发波长为 260 nm 时, 依次测试溶液的荧光发射光谱, 得到化合物与 DNA 相互作用的荧光光谱图.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 4aa~4ed 的 ¹H NMR 谱图, 5aa~5ed 的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 谱图, 以及 6aa~6ed 的 ¹H NMR 谱图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Dikshit, R.; Eser, S.; Mathers, C.; Rebelo, M.; Parkin, D. M.; Forman, D.; Bray, F. *Int. J. Cancer* **2015**, *136*, E359.
- [2] Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 461.
- [3] Liu, X.; Cheng, J.; Zheng, X. C.; Chen, Y. G.; Wu, C.; Li, B.; Fu, J. F.; Cao, H. W.; Lu, Y. L.; Li, J.; Zheng, J.; Zhou, H. *Int. Immunopharmacol.* **2009**, *9*, 1021.
- [4] Chung, J. G.; Tsou, M. F.; Wang, H. H.; Lo, H. H.; Hsieh, S. E.; Yen, Y. S.; Wu, L. T.; Chang, S. H.; Ho, C. C.; Hung, C. F. *J. Appl. Toxicol.* **1998**, *18*, 117.
- [5] Hao, K.; Qi, Q.; Wan, P.; Zhang, J. W.; Hao, H. P.; Liang, Y.; Xie, L.; Wang, G. J.; Sun, J. G. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **2014**, *114*, 160.
- [6] Yu, L.; Xiang, H.; Fan, J. W.; Wang, D. C.; Yang, F.; Guo, N.; Jin, Q.; Deng, X. M. *J. Biotechnol.* **2008**, *135*, 304.
- [7] Gao, Q.; Qin, W. S.; Jia, Z. H.; Zheng, J. M.; Zeng, C. H.; Li, L. S.; Liu, Z. H. *Planta Med.* **2010**, *76*, 27.
- [8] Peng, L. L.; Yang, J. Y.; Ning, C.; Zhang, J.; Xiao, X. C.; He, D.; Wang, X. Y.; Li, Z. P.; Fu, S. S.; Ning, J. P. *Biol. Pharm. Bull.* **2012**, *35*, 1676.
- [9] Yadav, A.; Bhardwaj, R.; Sharma, R. A. *Res. J. Med. Plant* **2013**, *7*, 150.
- [10] Ip, S. W.; Weng, Y. S.; Lin, S. Y.; Yang, M. D.; Tang, N. Y.; Su, C. C.; Chung, J. G. *Anticancer Res.* **2007**, *27*, 379.
- [11] Fernand, V. E.; Losso, J. N.; Truax, R. E.; Villar, E. E.; Bwambok, D. K.; Fakayode, S. O.; Lowry, M.; Warner, I. M. *Chem. Biol. Interact.* **2011**, *192*, 220.
- [12] Badria, F. A.; Ibrahim A. S. *Drug Discoveries Ther.* **2013**, *7*, 84.
- [13] Wang, Q.; Zhang, N. N.; Li, H. Y.; Jiang, M.; Gao, J.; Bai, G. *Acta Pharm. Sin.* **2012**, *47*, 1618 (in Chinese).
(王倩, 张楠楠, 李红艳, 姜民, 高洁, 白钢, 药学报, **2012**, *47*, 1618.)
- [14] Hsia, T. C.; Yang, J. S.; Chen, G. W.; Chiu, T. H.; Lu, H. F.; Yang, M. D.; Yu, F. S.; Liu, K. C.; Lai, K. C.; Lin, C. C.; Chung, J. G. *Anticancer Res.* **2009**, *29*, 309.
- [15] Chang, C. Y.; Chan, H. L.; Lin, H. Y.; Way, T. D.; Kao, M. C.; Song, M. Z.; Lin, Y. J.; Lin, C. W. *J. Evidence-Based Complementary Alterna. Med.* **2012**, *45*, 1052.
- [16] Lai, W. W.; Yang, J. S.; Lai, K. C.; Kuo, C. L.; Hsu, C. K.; Wang, C. K.; Chang, C. Y.; Lin, J. J.; Tang, N. Y.; Chen, P. Y.; Huang, W. W.; Chung, J. G. *In Vivo* **2009**, *23*, 309.
- [17] Gan, Y.; He, L. H.; Zhang, Y. H.; Wang, J. H.; Zhao, J. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, *34*, 589 (in Chinese).
(甘莹, 何利华, 张亚宏, 王建红, 赵瑾, 有机化学, **2014**, *34*, 589.)
- [18] Marković, V.; Debeljak, N.; Stanojković, T.; Kolundzija, B.; Sladić, D.; Vujčić, M.; Janović, B.; Tanić, N.; Perović, M.; Tesić, V.; Antić, J.; Joksović, M. D. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *89*, 401.
- [19] Igarashi, Y.; Trujillo, M. E.; Martínez-Molina, E.; Yanase, S.; Miyayana, S.; Obata, T.; Sakurai, H.; Saiki, I.; Fujita, T.; Furumai, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3702.
- [20] Barthel, B. L.; Mooz, E. L.; Wiener, L. E.; Koch, G. G.; Koch, T. H. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 2205.
- [21] Zhu, X.; Ye, X.; Song, L.; Luo, Y.; Tang, Q.; Jin, Y.; Li, X. *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 2228.
- [22] Yuan, Y.-F.; Hu, X.-Y.; He, Y.; Deng, J.-G. *Nat. Prod. Commun.* **2012**, *7*, 207.
- [23] Viayna, E.; Sola, I.; Bartolini, M.; Simone, A. D.; Tapia-Rojas, C.; Serrano, F. G.; Sabaté, R.; Juárez-Jiménez, J.; Pérez, B.; Luque, F. J.; Andrisano, V.; Clos, M. V.; Inestrosa, N. C.; Muñoz-Torrero, D. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 2549.
- [24] Li, S.-Y.; Jiang, N.; Xie, S.-S.; Wang, X.-B.; Kong, L.-Y. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 801-814.
- [25] Yao, G.-Y.; Ye, M.-Y.; Huang, R.-Z.; Li, Y.-J.; Pan, Y.-M.; Xu, Q.; Liao, Z.-X.; Wang, H.-S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 501.
- [26] Liang Y.-K.; Yue, Z.-Z.; Li, J.-X.; Tan, C.; Miao, Z.-H.; Tan, W.-F.; Yang, C.-H. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *84*, 505.
- [27] Sirajuddin, M.; Ali, S.; Badshah, A. *J. Photochem. Photobiol., B* **2013**, *124*, 1.

(Li, L.; Lu, Z.)