

2 β -Acetoxysterigulinol 去醋酸基骨架衍生物抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究吴思敏^{†,a} 唐嘉欣^{†,b} 周于佳^{†,c} 徐学涛^{*,a}
张昊星^{*,b} 王少华^{*,c}^(a) 五邑大学生物科技与大健康学院 广东江门 529020^(b) 深圳大学生命与海洋科学学院 广东深圳 518060^(c) 兰州大学药学院 兰州 730000

摘要 合成了系列 2 β -acetoxysterigulinol 去醋酸基骨架衍生物(1~24), 并测定了其 α -葡萄糖苷酶抑制活性. 结果表明: 化合物 1~24 均有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制作用. 其中(3*R*,4*a*S,10*a*S)-6-羟基-1,1,4-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10-八氢邻蒽-3-基-4-(三氟甲基)苯甲酸酯(15)抑制 α -葡萄糖苷酶活性最强[IC₅₀=(23.91 $\pm$ 2.34) μ mol/L], 是阿卡波糖抑制活性的 23.6 倍. 构效关系分析表明三氟甲基的引入更有利于提高化合物的活性. 动力学结果显示化合物 15 为可逆非竞争性的 α -葡萄糖苷酶抑制剂. 3D 荧光结果表明化合物 15 与 α -葡萄糖苷酶的结合可改变 α -葡萄糖苷酶的构象. 分子对接结果显示化合物 15 与 α -葡萄糖苷酶 Asp68, Arg312, Tyr313 形成了氢键, 与 Phe177 和 Phe300 形成疏水作用.

关键词 2 β -acetoxysterigulinol; α -葡萄糖苷酶; 3D 荧光; 分子对接

 α -Glucosidase Inhibition Research of Derivatives Based on 2 β -Acetoxysterigulinol Scaffold Excluding Acetic Acid GroupWu, Simin^{†,a} Tang, Jiaxin^{†,b} Zhou, Yujia^{†,c} Xu, Xuetao^{*,a}
Zhang, Haoxing^{*,b} Wang, Shaohua^{*,c}^(a) School of Biotechnology and Health Sciences, Wuyi University, Jiangmen, Guangdong 529020^(b) College of Life Sciences and Oceanography, Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518060^(c) School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000

Abstract In this study, a series derivatives based on 2 β -acetoxysterigulinol scaffold excluding acetic acid group (1~24) were synthesized and their inhibitory activities on α -glucosidase were determined. The results showed that all compounds 1~24 had good α -glucosidase inhibitory activities. Among them, (3*R*,4*a*S,10*a*S)-6-hydroxy-1,1,4a-trimethyl-1,2,3,4,4*a*,9,10,10a-octahydrophenanthren-3-yl 4-(trifluoromethyl)benzoate (15) had the strongest inhibitory activity [IC₅₀=(23.91 $\pm$ 2.34) μ mol/L], about 23.6-fold more active than acarbose. The structure activity relationship analysis showed that the introduction of trifluoromethyl was more conducive to enhance its activity. The kinetic results showed that compound 15 was a reversible and non competitive α -glucosidase inhibitor. The 3D fluorescence results indicated that the binding of α -glucosidase with compound 15 could change the conformation of α -glucosidase. The molecular docking results showed that compound 15 made hydrogen bonds with Asp68, Arg312, and Tyr313, and formed hydrophobic interactions with Phe177 and Phe300.

Keywords 2 β -acetoxysterigulinol; α -glucosidase; 3D fluorescence; molecular docking

糖尿病在临床上属于一种慢性代谢性疾病, 患者需长期服用降糖药物调节机体血糖水平^[1-3]. 90%以上的糖尿病患者为2型糖尿病, 临床表现为由胰岛素分泌不足/胰岛素抵抗诱导的高血糖^[4-6]. 因此, 控制血糖是糖尿病

防治的重要策略. 研究表明抑制 α -葡萄糖苷酶等碳水化合物水解酶能明显降低餐后高血糖, 并减少糖尿病并发症风险^[7-9]. α -葡萄糖苷酶位于小肠表面, 可催化水解碳水化合物分解为可吸收的葡萄糖^[10-11]. α -葡萄糖苷酶抑

* Corresponding authors. E-mail: wyuchemxxt@126.com; zhang.haoxing@szu.edu.cn; wangshh@lzu.edu.cn

Received July 31, 2023; revised October 10, 2023; published online October 23, 2023.

Project supported by the Funds of Department of Education of Guangdong Province (Nos. 2021KCXTD044, 2021KTSCX135).

广东省教育厅基金(Nos. 2021KCXTD044, 2021KTSCX135)资助项目.

[†] 共同第一作者(These authors contributed equally to this work).

制剂可通过抑制 α -葡萄糖苷酶活性来调节血糖和餐后高血糖^[12-13]. 临床现有 α -葡萄糖苷酶抑制剂为伏格列糖和阿卡波糖等, 但长期使用导致胀气、腹泻等副作用^[14-15]. 因此, 寻找高效、安全的 α -葡萄糖苷酶抑制剂备受关注.

萜类化合物广泛存在于自然界中, 是许多药用植物的主要成分, 其不仅在植物生命活动中发挥重要作用, 还可以用来治疗疾病或作为合成药物的原料. 2β -acetoxysterriuginol (图 1) 是一种从植物 *Prumnopitys andina* 中分离得到的二萜化合物, 具有较好的抗菌活性^[16]. 前期, 我们通过金催化 1,3-酰氧基迁移/环化级联反应实现了 2β -acetoxysterriuginol 的合成^[17]. 文献报道萜类化合物多为潜在的 α -葡萄糖苷酶抑制剂. 我们发现 2β -acetoxysterriuginol 具有中等活性的 α -葡萄糖苷酶作用, 因此需要对其结构进行修饰, 提高其活性^[18-20]. 分析 2β -acetoxysterriuginol 的结构, 其 C-2 位为醋酸酯基. 我们在前期工作中合成了系列取代苯甲酸修饰的齐墩果酸衍生物(图 1), 其 α -葡萄糖苷酶抑制活性均优于母体齐墩果酸^[21]. 此外, 芳香环在生物活性分子中普遍存在, 芳香环的引入在改善理化参数或代谢, 或提高其与靶点间多样性相互作用等方面有积极的作用. 因此, 本文以天然二萜 2β -acetoxysterriuginol 分子为模板, 将其 C-2 位醋酸酯基修饰为不同取代基的苯甲酸酯基, 以期获得更好活性的 2β -acetoxysterriuginol 去醋酸基骨架类 α -葡萄糖苷酶抑制剂.

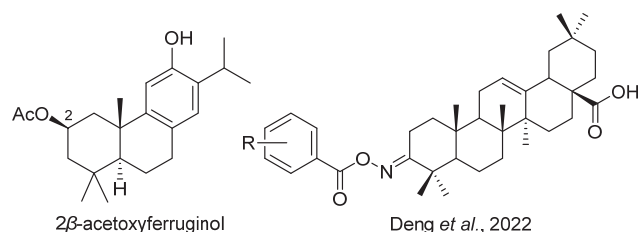


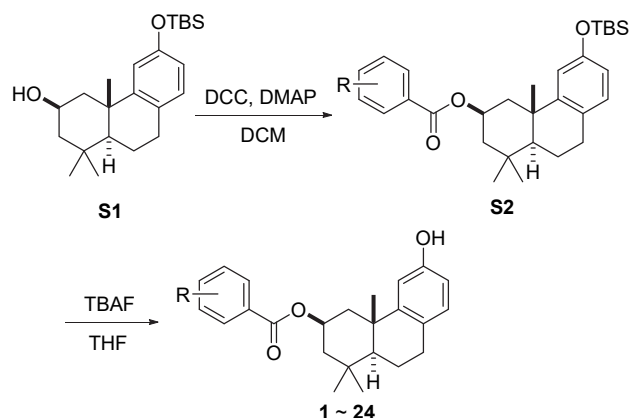
图 1 2β -Acetoxysterriuginol 和已报道苯甲酸修饰的齐墩果酸衍生物的化学结构

Figure 1 Chemical structure of 2β -acetoxysterriuginol and reported oleanolic acid derivatives modified by benzoic acid

1 结果与讨论

1.1 2β -acetoxysterriuginol 去醋酸基骨架衍生物(1~24)的合成

2β -acetoxysterriuginol 去醋酸基骨架衍生物(1~24)的合成路线如 Scheme 1 所示. 参考我们前期报道的路线^[17]合成化合物 S1, S1 与取代苯甲酸发生酯化反应合成中间体 S2, 随后水解得到目标 2β -acetoxysterriuginol 衍生物(1~24). 所合成化合物结构均经 NMR 和高分辨质谱表征确认.



图式 1 2β -Acetoxysterriuginol 去醋酸基骨架衍生物(1~24)的合成路线

Scheme 1 Synthetic route of derivatives based on 2β -acetoxysterriuginol scaffold excluding acetic acid group (1~24)

1.2 2β -Acetoxysterriuginol 去醋酸基骨架衍生物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性

以对硝基苯基- α -D-吡喃半乳糖苷(*p*-NPG)为底物测试了化合物 1~24 的酿酒酵母源 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 结果见表 1. 可以看出化合物 1~24 均具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性. 化合物 1, 2, 9, 15, 18, 19, 21 在 32 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时的抑制活性超过了 50%, 测定了这些化合物的半数抑制浓度(IC_{50}), 其中化合物 15 具有最强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性 [IC_{50} : (23.91 $\pm$ 2.34) $\mu\text{mol/L}$], 是阿卡波糖抑制活性 [IC_{50} : (564.28 $\pm$ 4.68) $\mu\text{mol/L}$] 的 23.6 倍. 结果说明, 2β -acetoxysterriuginol 去醋酸基骨架衍生化是获得 α -葡萄糖苷酶抑制剂的有效方法.

根据 α -葡萄糖苷酶抑制活性结果, 分析了化合物 1~24 的构效关系. 苯甲酸苯环上取代基不同, 其抑制活性也不同, 提示取代基与化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性密切相关. 对于氟、氯、溴、三氟甲基、氰基、甲氧基等吸电子取代基, 4-位取代的活性优于 2-和 3-位取代; 而对供电子取代基甲基, 3-位取代的活性优于 2-和 4-位. 4-位取代基对目标化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性影响的顺序为: 三氟甲基 > 氰基 > 氟 > 溴 > 氯 > 甲氧基 > 甲基. 这些分析结果也为 2β -acetoxysterriuginol 后续衍生化提供了指导.

1.3 抑制动力学

以活性最优化合物 15 为代表化合物, 分析了化合物的抑制动力学. 蛋白酶抑制剂通常包括可逆性抑制剂和不可逆性抑制剂两种. 图 2a 为不同浓度化合物 15 作用下 α -葡萄糖苷酶浓度与其活力的关系图, 可以看出在不同酶浓度下, 化合物 15 (0~32 $\mu\text{mol/L}$) 的酶反应速率曲线均交于原点, 表明化合物 15 是一种可逆性抑制

表 1 2β -Acetoxysterigulinol 去醋酸基骨架衍生物(1~24)的 α -葡萄糖苷酶抑制活性

Table 1 Anti- α -glucosidase activities of derivatives based on 2β -acetoxysterigulinol scaffold excluding acetic acid group (1~24)

Compd.	R	Inhibition rate/% at 32 $\mu\text{mol/L}$	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
1	1-Naphthalene	53.2	28.83 ± 1.41
2	2-Naphthalene	50.8	31.15 ± 1.32
3	2-Methoxy	8.9	—
4	3-Methoxy	31.8	—
5	4-Methoxy	34.3	—
6	3,4-Methoxy	30.6	—
7	2-Bromine	47.5	—
8	3-Bromine	30.2	—
9	4-Bromine	53.6	26.64 ± 1.73
10	2-Methyl	43.6	—
11	3-Methyl	43.9	—
12	4-Methyl	32.8	—
13	2-Trifluoromethyl	37.7	—
14	3-Trifluoromethyl	37.2	—
15	4-Trifluoromethyl	58.3	23.91 ± 2.34
16	3,5-Trifluoromethyl	30.6	—
17	3-Cyan	44.3	—
18	4-Cyan	57.8	26.92 ± 1.91
19	2-Fluorine	50.1	31.75 ± 1.86
20	3-Fluorine	45.8	—
21	4-Fluorine	55.8	26.62 ± 1.17
22	2-Chlorine	38.5	—
23	3-Chlorine	40.7	—
24	4-Chlorine	42.9	—
阿卡波糖			564.28 ± 4.68

剂^[22]. 也就是说化合物 15 与 α -葡萄糖苷酶的结合可以降低酶的活力, 但并不会让酶的活力丧失. 接着研究了不同浓度化合物 15 和底物作用下 α -葡萄糖苷酶的活力, 并获得了其 Lineweaver-Burk 图(图 2b). 从图中可以看出不同浓度化合物 15 (0~32 $\mu\text{mol/L}$) 的酶反应速率曲线相较于 x 轴, 同时曲线斜率随化合物 15 浓度升高而升高. 结果表明化合物 15 是一种非竞争性抑制剂^[23]. 此外, 通过化合物 15 的浓度与双倒数曲线的斜率的关系, 求得抑制常数(K_i)值为 3.5 $\mu\text{mol/L}$.

1.4 3D 荧光

α -葡萄糖苷酶蛋白含有酪氨酸和色氨酸等官能团, 具有一定的荧光特性. 因此, 采用 3D 荧光光谱监测化合物 15 对 α -葡萄糖苷酶构象的影响. 在 α -葡萄糖苷酶的 3D 荧光光谱(图 3a)中, 有两个主要特征峰, 分别为峰 1(酪氨酸和色氨酸残基的荧光光谱)和峰 2(多肽骨架结构的荧光特征光谱). 而加入化合物 15 后, α -葡萄糖苷酶 3D 荧光特征峰 1 和 2 的荧光强度分别降低了 16.1%, 28.2% (图 3b). 结果表明化合物 15 与 α -葡萄糖苷酶发生

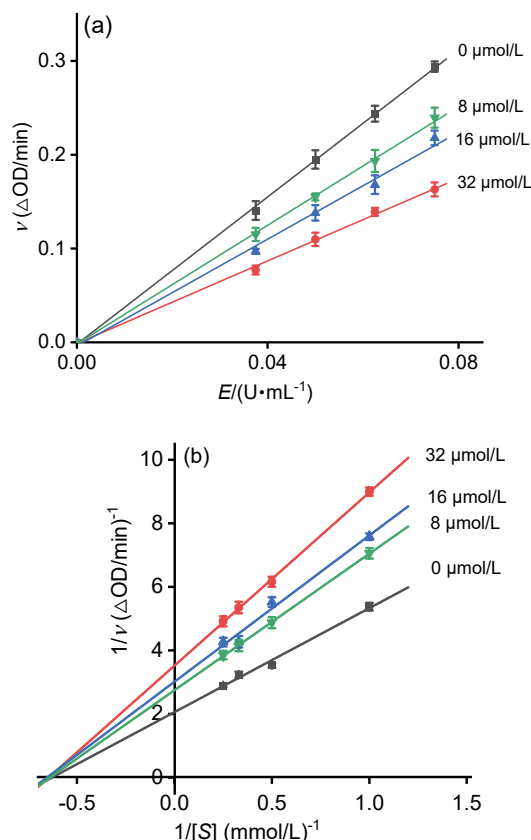


图 2 化合物 15 抑制 α -葡萄糖苷酶的动力学
Figure 2 Inhibition kinetic of compound 15 on α -glucosidase
(a) Enzyme inhibition kinetic; (b) substrate inhibition kinetic

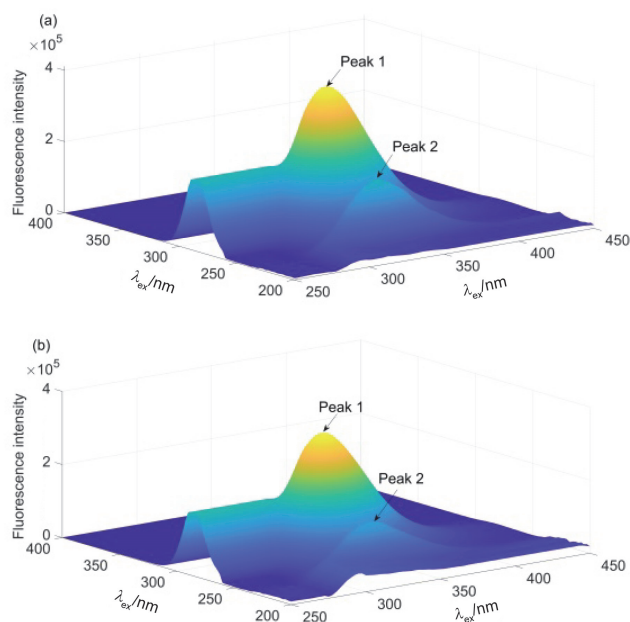


图 3 (a) α -葡萄糖苷酶的 3D 荧光光谱和(b) α -葡萄糖苷酶-化合物 15 的 3D 荧光光谱
Figure 3 (a) 3D fluorescence spectra of α -glucosidase, and (b) 3D fluorescence spectra of α -glucosidase-compound 15

了结合, 进而造成了 α -葡萄糖苷酶构象以及发色团微环

境的变化。

1.5 分子对接

用 SYBYL 软件模拟了化合物 **15** 与 α -葡萄糖苷酶的分子对接情况。由于酿酒酵母源 α -葡萄糖苷酶的结构仍未解析出来, 在对接过程中使用了 α -葡萄糖苷酶的同源模型^[24], 结果见图 4。从图 4a 可以看出, 化合物与蛋白活性口袋周围氨基酸残基形成了稳定的结合, 其中化合物苯甲酸部分在活性口袋的外边缘, 而类 2β -acetoxyl-ferruginol 的部分在口袋的内部。详细分析结果显示(图 4b), 化合物与氨基酸 Asp68, Arg312, Tyr313 形成 3 个氢键, 并与 Phe177 和 Phe300 形成疏水作用。这些化合物与酶的相互作用在稳定化合物与酶结合的同时, 也造成了酶活性区域构象的变化, 进而造成酶活力的降低。此外, 分子对接结果有助于理解化合物 **15** 与 α -葡萄糖苷酶的结合。

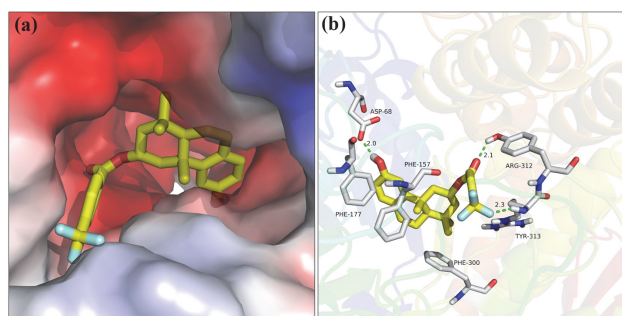


图 4 化合物 **15** 与 α -葡萄糖苷酶的分子对接

Figure 4 Molecular docking of α -glucosidase and compound **15**

2 结论

本文合成了系列 2β -acetoxylferruginol 去醋酸基骨架衍生物, 并测定了其 α -葡萄糖苷酶抑制活性。结果表明, 化合物均有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制作用。其中化合物 **15** 抑制 α -葡萄糖苷酶活性最强, IC_{50} 为 $(23.91 \pm 2.34) \mu\text{mol/L}$, 是阿卡波糖抑制活性的 23.6 倍。构效关系分析表明三氟甲基更有利于化合物活性的增强。动力学结果显示化合物 **15** 为可逆非竞争性的 α -葡萄糖苷酶抑制剂。3D 荧光结果表明化合物 **15** 与 α -葡萄糖苷酶的结合可改变 α -葡萄糖苷酶的构象。分子对接结果显示化合物 **15** 与 α -葡萄糖苷酶 Asp68, Arg312, Tyr313 形成了氢键, 与 Phe177 和 Phe300 形成疏水作用。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Bruker Advance DPX-500 MHz 核磁共振仪(以 TMS 为内标); Thermo Fisher Scientific(上海)(LCQTM) LC-MS 质谱仪; 上海仪电物理光学仪器有限公司 WRS-2C

熔点仪(温度计未经校正)。 α -葡萄糖苷酶购自 Sigma-Aldrich, 对硝基苯基- α -D-吡喃半乳糖苷(p -NPG)购自 Abcam。其他试剂均为市售分析纯。

3.2 衍生物 **1**~**24** 的合成

参考我们前期的报道^[17]合成了化合物 **S1**。将 **S1** (1 mmol)、取代苯甲酸(1 mmol)、 N,N' -二环己基碳二酰亚胺(DCC) (1.5 mmol)、4-二甲氨基吡啶(DMAP) (1 mmol)加入二氯甲烷(DCM) (5 mL)中室温反应。反应完成后加入水淬灭, 随后加入乙酸乙酯萃取。有机层经饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 减压浓缩后, 用硅胶柱层析分离得到中间体 **S2**。将 **S2** (1 mmol)和氟化四丁基铵(TBAF) (1 mmol)加入四氢呋喃(THF) (5 mL)中室温搅拌。反应完成后加入乙酸乙酯, 用饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 减压浓缩, 最后经硅胶柱层析分离得到终产物 **1**~**24**。

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-1-萘甲酸酯(**1**): 无色固体, 产率 87%。m.p. 177.5~179.0 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.03 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 8.17 (dd, $J=7.3$, 1.1 Hz, 1H), 8.02 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.66~7.62 (m, 1H), 7.58~7.48 (m, 2H), 6.74 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.62 (dd, $J=8.2$, 2.6 Hz, 1H), 5.62~5.57 (m, 1H), 2.92~2.76 (m, 2H), 2.73~2.65 (m, 1H), 2.15~2.06 (m, 1H), 1.98~1.91 (m, 2H), 1.83~1.72 (m, 1H), 1.67 (dd, $J=14.8$, 4.0 Hz, 1H), 1.51 (dd, $J=12.3$, 2.1 Hz, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.16 (s, 3H), 1.05 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 167.3, 153.7, 151.1, 133.8, 133.2, 131.4, 130.1, 129.7, 128.5, 127.7, 127.6, 126.5, 126.2, 125.8, 124.5, 112.9, 111.3, 71.5, 49.2, 43.4, 41.7, 37.4, 33.7, 32.7, 29.5, 27.1, 23.5, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 437.2087, found 437.2075。

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-2-萘甲酸酯(**2**): 白色固体, 产率 88%。m.p. 251.3~252.0 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.62 (s, 1H), 8.08 (dd, $J=8.6$, 1.5 Hz, 1H), 7.94 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.90~7.83 (m, 2H), 7.60~7.51 (m, 2H), 6.93 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.67 (dd, $J=8.2$, 2.4 Hz, 1H), 5.73 (s, 1H), 5.59~5.52 (m, 1H), 2.96~2.75 (m, 2H), 2.70 (d, $J=14.6$ Hz, 1H), 2.07 (dd, $J=15.3$, 6.8 Hz, 1H), 1.97~1.88 (m, 2H), 1.85~1.76 (m, 1H), 1.63 (dd, $J=14.8$, 3.8 Hz, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.04 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 166.8, 153.8, 151.0, 135.4, 132.4, 131.1, 130.1, 129.4, 128.3, 127.8, 127.7, 126.6, 126.4, 125.1, 113.0, 111.3, 71.9, 49.4, 43.3, 41.5, 37.3, 33.6, 32.7, 29.4, 26.9, 23.4, 18.9; HRMS (ESI-

Orbitrap) calcd for $C_{28}H_{30}O_3Na$ $[M+Na]^+$ 437.2087, found 437.2075.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-2-甲氧基苯甲酸酯(**3**): 白色固体, 产率 89%. m.p. 184.1~185.0 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.85 (dd, $J=7.9$, 1.8 Hz, 1H), 7.51~7.42 (m, 1H), 7.04~6.96 (m, 2H), 6.91 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 6.60 (dd, $J=8.2$, 2.5 Hz, 1H), 5.53~5.46 (m, 1H), 5.14 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.93~2.74 (m, 2H), 2.70~2.58 (m, 1H), 2.03~1.98 (m, 1H), 1.95~1.84 (m, 2H), 1.82~1.73 (m, 1H), 1.59 (dd, $J=14.8$, 4.0 Hz, 1H), 1.47 (dd, $J=12.3$, 2.2 Hz, 1H), 1.41 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 1.01 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 159.4, 153.8, 151.3, 133.5, 131.7, 130.0, 126.5, 120.1, 112.8, 111.9, 111.3, 71.2, 55.6, 49.4, 43.4, 41.6, 37.3, 33.7, 32.7, 29.5, 26.7, 23.1, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $C_{25}H_{30}O_4Na$ $[M+Na]^+$ 417.2036, found 417.2023.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-3-甲氧基苯甲酸酯(**4**): 白色固体, 产率 91%. m.p. 135.0~136.0 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.65 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J=2.4$, 1.5 Hz, 1H), 7.35 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.14~7.08 (m, 1H), 6.91 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.63 (dd, $J=8.2$, 2.5 Hz, 1H), 5.57 (s, 1H), 5.52~5.46 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 2.98~2.74 (m, 2H), 2.70~2.59 (m, 1H), 2.04~1.90 (m, 2H), 1.89~1.75 (m, 2H), 1.60 (dd, $J=14.9$, 3.9 Hz, 1H), 1.48 (dd, $J=12.3$, 2.1 Hz, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.02 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.4, 159.5, 153.8, 151.1, 131.9, 130.1, 129.5, 126.4, 121.9, 119.5, 114.0, 112.9, 111.2, 71.8, 55.3, 49.4, 43.4, 41.4, 37.2, 33.6, 32.7, 29.4, 26.8, 23.3, 18.8; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $C_{25}H_{30}O_4Na$ $[M+Na]^+$ 417.2036, found 417.2022.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-4-甲氧基苯甲酸酯(**5**): 白色固体, 产率 86%. m.p. 222.8~224.3 °C; 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 8.91 (s, 1H), 7.98~7.85 (m, 2H), 7.12~7.04 (m, 2H), 6.80 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.48 (dd, $J=8.2$, 2.4 Hz, 1H), 5.38~5.33 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.32 (s, 4H), 2.88~2.66 (m, 2H), 2.56 (d, $J=14.5$ Hz, 1H), 1.88 (t, $J=10.5$ Hz, 2H), 1.81~1.66 (m, 2H), 1.62 (dd, $J=14.8$, 3.8 Hz, 1H), 1.43 (dd, $J=12.2$, 1.7 Hz, 1H), 1.34 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 0.99 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 165.0, 163.1, 155.1, 150.5, 131.0, 129.6, 124.1, 122.4, 114.1, 112.8, 110.7, 70.87, 55.5, 49.0, 42.8, 40.9, 36.6, 33.4, 32.3, 28.9, 26.7, 23.1, 18.5; HRMS

(ESI-Orbitrap) calcd for $C_{25}H_{30}O_4Na$ $[M+Na]^+$ 417.2036, found 417.2024.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-3,4-二甲氧基苯甲酸酯(**6**): 白色固体, 产率 88%. m.p. 191.2~192.0 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.68 (dd, $J=8.4$, 1.9 Hz, 1H), 7.59 (d, $J=1.9$ Hz, 1H), 6.91 (dd, $J=8.3$, 4.2 Hz, 2H), 6.72 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 6.60 (dd, $J=8.2$, 2.6 Hz, 1H), 5.52~5.44 (m, 1H), 4.83 (s, 1H), 3.92 (d, $J=10.5$ Hz, 6H), 2.93~2.77 (m, 2H), 2.66 (d, $J=14.3$ Hz, 1H), 2.04~1.91 (m, 2H), 1.90~1.75 (m, 2H), 1.63~1.58 (m, 2H), 1.50 (dd, $J=12.3$, 2.2 Hz, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.03 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.1, 153.6, 152.9, 151.2, 148.6, 130.2, 126.6, 123.4, 123.3, 112.9, 112.0, 111.2, 110.4, 100.0, 71.3, 56.0, 55.9, 49.5, 43.5, 41.6, 37.3, 33.7, 32.7, 29.5, 26.8, 23.3, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $C_{26}H_{32}O_5Na$ $[M+Na]^+$ 447.2142, found 447.2129.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-2-溴苯甲酸酯(**7**): 无色油状, 产率 85%. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.78~7.72 (m, 1H), 7.69~7.63 (m, 1H), 7.40~7.28 (m, 2H), 6.90 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.62~6.59 (m, 1H), 5.52~5.45 (m, 1H), 5.15 (s, 1H), 2.91~2.74 (m, 2H), 2.70~2.59 (m, 1H), 2.11~2.00 (m, 1H), 1.98~1.86 (m, 2H), 1.82~1.70 (m, 1H), 1.62 (dd, $J=14.7$, 3.6 Hz, 1H), 1.49 (s, 1H), 1.37 (s, 3H), 1.07 (d, $J=30.2$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.0, 153.7, 151.0, 134.3, 132.8, 132.3, 130.7, 130.1, 127.2, 126.5, 121.6, 112.9, 111.4, 72.5, 49.1, 43.0, 41.6, 37.4, 33.5, 32.7, 29.5, 27.2, 23.5, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $C_{24}H_{27}BrO_3Na$ $[M+Na]^+$ 465.1036, found 465.1026.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-3-溴苯甲酸酯(**8**): 白色固体, 产率 88%. m.p. 180.0~181.1 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.19 (t, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.74~7.62 (m, 1H), 7.33 (t, $J=7.9$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.61 (dd, $J=8.2$, 2.6 Hz, 1H), 5.48 (p, $J=3.7$ Hz, 1H), 5.11 (s, 1H), 2.99~2.73 (m, 2H), 2.63 (d, $J=14.6$ Hz, 1H), 2.06~1.75 (m, 4H), 1.61 (dd, $J=14.9$, 3.9 Hz, 1H), 1.49 (dd, $J=12.3$, 2.1 Hz, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.17 (s, 3H), 1.04 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.1, 153.6, 151.0, 135.8, 132.6, 130.1, 130.0, 128.0, 126.5, 122.6, 112.9, 111.2, 72.3, 49.3, 43.3, 41.5, 37.3, 33.6, 32.7, 29.5, 27.0, 23.4, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $C_{24}H_{27}BrO_3Na$ $[M+Na]^+$ 465.1036,

found 465.1026.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-4-溴苯甲酸酯(**9**): 白色固体, 产率 90%. m.p. 143.2 ~ 144.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.96~7.91 (m, 2H), 7.70~7.65 (m, 2H), 6.85 (d, J =8.3 Hz, 1H), 6.68 (d, J =2.5 Hz, 1H), 6.54 (dd, J =8.2, 2.5 Hz, 1H), 5.48 (p, J =3.8 Hz, 1H), 4.89 (s, 2H), 2.92~2.73 (m, 2H), 2.71~2.64 (m, 1H), 2.07~1.93 (m, 2H), 1.91~1.75 (m, 2H), 1.66 (dd, J =14.9, 3.9 Hz, 1H), 1.51 (dd, J =12.3, 2.2 Hz, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.05 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 166.8, 156.2, 152.0, 133.0, 132.1, 131.1, 131.0, 129.0, 126.4, 114.0, 111.9, 73.5, 50.9, 44.4, 42.7, 38.4, 34.1, 33.6, 30.6, 27.7, 24.0, 20.2; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₄H₂₇BrO₃Na [M+Na]⁺ 465.1036, found 465.1026.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-2-甲基苯甲酸酯(**10**): 白色固体, 产率 92%. m.p. 330.0~331.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.88 (d, J =8.0 Hz, 1H), 7.44~7.34 (m, 1H), 7.26~7.22 (m, 2H), 6.90 (d, J =8.2 Hz, 1H), 6.71 (d, J =2.6 Hz, 1H), 6.60 (dd, J =8.2, 2.6 Hz, 1H), 5.48~5.41 (m, 1H), 5.22 (s, 1H), 2.94~2.74 (m, 2H), 2.65 (s, 3H), 2.63~2.58 (m, 1H), 2.04~1.87 (m, 3H), 1.80~1.71 (m, 1H), 1.61 (dd, J =14.7, 4.0 Hz, 1H), 1.48 (dd, J =12.3, 2.1 Hz, 1H), 1.39 (s, 3H), 1.14 (s, 3H), 1.03 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 167.4, 153.7, 151.2, 140.3, 131.7, 130.1, 130.1, 126.5, 125.8, 112.9, 111.4, 71.2, 49.2, 43.3, 41.8, 37.4, 33.5, 32.7, 29.5, 27.2, 23.5, 21.7, 19.0; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₅H₃₀O₃Na [M+Na]⁺ 401.2087, found 401.2078.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-3-甲基苯甲酸酯(**11**): 白色固体, 产率 90%. m.p. 189.9~191.1 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.88 (s, 1H), 7.84 (d, J =7.4 Hz, 1H), 7.40~7.31 (m, 2H), 6.92 (d, J =8.2 Hz, 1H), 6.71 (d, J =2.6 Hz, 1H), 6.60 (dd, J =8.2, 2.6 Hz, 1H), 5.49 (p, J =3.9 Hz, 1H), 4.80 (s, 1H), 2.95~2.75 (m, 2H), 2.66 (dt, J =14.5, 2.4 Hz, 1H), 2.41 (s, 3H), 2.05~1.75 (m, 4H), 1.59 (d, J =3.9 Hz, 1H), 1.50 (dd, J =12.3, 2.3 Hz, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.03 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 166.6, 153.6, 151.2, 138.2, 133.6, 130.6, 130.2, 130.1, 128.3, 126.7, 126.6, 112.8, 111.3, 71.5, 49.4, 43.4, 41.6, 37.3, 33.7, 32.7, 29.5, 26.9, 23.4, 21.3, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₅H₃₀O₃Na [M+Na]⁺ 401.2087, found 401.2077.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,

10*a*-八氢菲-3-基-4-甲基苯甲酸酯(**12**): 白色固体, 产率 92%. m.p. 192.1~193.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.95 (d, J =8.1 Hz, 2H), 7.25 (d, J =8.4 Hz, 2H), 6.92 (d, J =8.2 Hz, 1H), 6.72 (d, J =2.5 Hz, 1H), 6.62 (dd, J =8.2, 2.5 Hz, 1H), 5.50 (p, J =3.5 Hz, 1H), 2.97~2.75 (m, 2H), 2.65 (d, J =14.5 Hz, 1H), 2.41 (s, 3H), 2.04~1.91 (m, 2H), 1.89~1.75 (m, 2H), 1.60 (dd, J =14.8, 3.9 Hz, 1H), 1.49 (dd, J =12.3, 1.9 Hz, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.03 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 166.6, 153.6, 151.2, 138.2, 133.6, 130.6, 130.2, 130.1, 128.3, 126.7, 126.6, 112.8, 111.3, 71.5, 49.4, 43.4, 41.6, 37.3, 33.7, 32.7, 29.5, 26.9, 23.4, 21.3, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₅H₃₀O₃Na [M+Na]⁺ 401.2087, found 401.2078.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-2-三氟甲基苯甲酸酯(**13**): 黄色固体, 产率 95%. m.p. 113.6~115.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.79~7.70 (m, 2H), 7.64~7.56 (m, 2H), 6.91 (d, J =8.2 Hz, 1H), 6.72 (d, J =2.6 Hz, 1H), 6.60 (dd, J =8.2, 2.6 Hz, 1H), 5.48 (p, J =4.3 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 2.90~2.74 (m, 2H), 2.64 (dd, J =14.5, 2.5 Hz, 1H), 2.08~1.87 (m, 3H), 1.79~1.68 (m, 1H), 1.63 (dd, J =14.7, 4.0 Hz, 1H), 1.48 (dd, J =12.3, 2.1 Hz, 1H), 1.33 (s, 3H), 1.05 (d, J =11.4 Hz, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 166.7, 153.6, 151.0, 132.0 (q, J_{C-F} =2.0 Hz), 131.8, 130.9, 130.1, 129.4, 128.5 (q, J_{C-F} =32.0 Hz), 126.7 (q, J_{C-F} =5.0 Hz), 126.5, 123.4 (q, J_{C-F} =272.0 Hz), 112.9, 111.4, 49.0, 42.8, 41.5, 37.5, 33.4, 32.7, 29.5, 27.1, 23.4, 19.0; ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ : -59.00; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₅H₂₇F₃O₃Na [M+Na]⁺ 455.1805, found 455.1794.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-3-三氟甲基苯甲酸酯(**14**): 无色油状, 产率 90%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.34 (s, 1H), 8.22 (d, J =7.8 Hz, 1H), 7.82 (d, J =7.8 Hz, 1H), 7.60 (t, J =7.8 Hz, 1H), 6.92 (d, J =8.2 Hz, 1H), 6.77~6.54 (m, 2H), 5.52 (q, J =3.9 Hz, 1H), 4.91 (d, J =8.0 Hz, 1H), 2.99~2.75 (m, 2H), 2.72~2.60 (m, 1H), 2.11~1.89 (m, 3H), 1.86~1.75 (m, 1H), 1.64 (dd, J =14.9, 3.9 Hz, 1H), 1.51 (dd, J =12.3, 2.2 Hz, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.05 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 165.1, 153.6, 151.0, 132.6, 131.6, 131.2 (q, J_{C-F} =33.0 Hz), 130.2, 129.4 (q, J_{C-F} =3.0 Hz), 129.2, 126.6, 126.5 (q, J_{C-F} =4.0 Hz), 123.6 (q, J_{C-F} =271.0 Hz), 112.9, 111.2, 49.3, 43.3, 41.6, 37.3, 33.6, 32.7, 29.5, 27.0, 23.4, 18.9; ¹⁹F NMR (376

MHz, CDCl₃) δ : -62.86; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₅H₂₇F₃O₃Na [M+Na]⁺ 455.1805, found 455.1793.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-4-三氟甲基苯甲酸酯(**15**): 无色油状, 产率 89%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.17 (d, *J*=8.2 Hz, 2H), 7.73 (d, *J*=8.3 Hz, 2H), 5.53 (p, *J*=3.7 Hz, 1H), 5.19 (s, 1H), 2.95~2.76 (m, 2H), 2.67 (d, *J*=14.6 Hz, 1H), 2.07~1.87 (m, 3H), 1.87~1.74 (m, 1H), 1.63 (dd, *J*=14.9, 3.9 Hz, 1H), 1.51 (dd, *J*=12.3, 1.9 Hz, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.04 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 165.3, 153.7, 150.9, 134.4 (q, *J*_{C-F}=32.0 Hz), 133.9, 130.2, 129.9, 126.5, 125.5 (q, *J*_{C-F}=3.0 Hz), 123.6 (q, *J*_{C-F}=271.0 Hz), 113.0, 111.2, 72.5, 49.4, 43.3, 41.5, 37.3, 33.6, 32.7, 29.4, 26.9, 23.4, 18.9; ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ : -63.06; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₅H₂₇F₃O₃Na [M+Na]⁺ 455.1805, found 455.1794.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-3,5-三氟甲基苯甲酸酯(**16**): 无色油状, 产率 85%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.50 (s, 2H), 8.08 (s, 1H), 6.92 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 6.70 (d, *J*=2.5 Hz, 1H), 6.60 (dd, *J*=8.2, 2.5 Hz, 1H), 5.57~5.50 (m, 1H), 4.83 (s, 1H), 3.00~2.74 (m, 2H), 2.72~2.58 (m, 1H), 2.15~1.92 (m, 3H), 1.86~1.77 (m, 1H), 1.67 (dd, *J*=14.8, 3.8 Hz, 1H), 1.53 (dd, *J*=12.3, 2.0 Hz, 1H), 1.43 (d, *J*=5.5 Hz, 3H), 1.18 (d, *J*=5.4 Hz, 3H), 1.07 (d, *J*=5.4 Hz, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ : 163.6, 153.6, 150.8, 132.9, 132.3 (q, *J*_{C-F}=34.0 Hz), 130.2, 129.6, 126.6, 126.3, 122.8 (q, *J*_{C-F}=272.0 Hz), 113.0, 111.3, 73.3, 49.1, 43.1, 41.6, 37.4, 33.4, 32.7, 29.4, 27.1, 23.4, 19.0; ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ : -63.04; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₅H₂₇F₆O₃Na [M+Na]⁺ 523.1678, found 523.1687.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-3-氟苯甲酸酯(**17**): 白色固体, 产率 82%. m.p. 128.3~129.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.31 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 8.28~8.25 (m, 1H), 7.86~7.84 (m, 1H), 7.61 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 6.92 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 6.70 (d, *J*=2.6 Hz, 1H), 6.61 (dd, *J*=8.2, 2.6 Hz, 1H), 5.56~5.48 (m, 1H), 4.97 (s, 1H), 3.00~2.75 (m, 2H), 2.67~2.62 (m, 1H), 2.06~1.89 (m, 3H), 1.85~1.75 (m, 1H), 1.63 (dd, *J*=14.9, 3.9 Hz, 1H), 1.51 (dd, *J*=12.3, 2.2 Hz, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.17 (s, 3H), 1.04 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 164.4, 153.6, 150.8, 136.0, 133.6, 133.1, 132.0, 130.2, 129.6, 126.6, 117.9, 113.0, 111.2, 72.8, 49.2, 43.2, 41.5, 37.3, 33.5, 32.7, 29.4, 27.1,

23.5, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₅H₂₇NO₃Na [M+Na]⁺ 412.1883, found 412.1873.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-4-氰基苯甲酸酯(**18**): 白色固体, 产率 87%. m.p. 229.1~230.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.14 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.76 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 6.92 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 6.70 (d, *J*=2.6 Hz, 1H), 6.61 (dd, *J*=8.2, 2.6 Hz, 1H), 5.52 (p, *J*=3.8 Hz, 1H), 5.11 (s, 1H), 2.96~2.75 (m, 2H), 2.65 (d, *J*=13.8 Hz, 1H), 2.04~1.87 (m, 3H), 1.85~1.74 (m, 1H), 1.63 (dd, *J*=14.9, 3.9 Hz, 1H), 1.50 (dd, *J*=12.3, 2.1 Hz, 1H), 1.41 (s, 3H), 1.16 (s, 3H), 1.04 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 164.7, 153.6, 150.8, 134.5, 132.4, 130.2, 130.0, 126.5, 118.0, 116.3, 113.0, 111.2, 72.8, 49.3, 43.2, 41.4, 37.2, 33.5, 32.7, 29.4, 27.0, 23.4, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₅H₂₇NO₃Na [M+Na]⁺ 412.1883, found 412.1874.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-2-氟苯甲酸酯(**19**): 黄色固体, 产率 82%. m.p. 222.3~223.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.98~7.94 (m, 1H), 7.57~7.46 (m, 1H), 7.23~7.19 (m, 1H), 7.17~7.10 (m, 1H), 6.91 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 6.72 (d, *J*=2.5 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J*=8.2, 2.5 Hz, 1H), 5.51 (p, *J*=3.8 Hz, 1H), 5.36 (d, *J*=31.6 Hz, 1H), 2.94~2.74 (m, 2H), 2.65 (d, *J*=14.5 Hz, 1H), 2.04~1.76 (m, 4H), 1.61 (dd, *J*=14.9, 4.0 Hz, 1H), 1.47 (dd, *J*=12.3, 2.1 Hz, 1H), 1.40 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 1.02 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 164.2 (d, *J*_{C-F}=4.0 Hz), 163.3, 160.7, 153.7, (d, *J*_{C-F}=1.0 Hz), 151.1, 134.4 (d, *J*_{C-F}=9.0 Hz), 132.0, 130.1, 126.5 (d, *J*_{C-F}=2.0 Hz), 124.0 (d, *J*_{C-F}=4.0 Hz), 119.1 (d, *J*_{C-F}=9.0 Hz), 117.0 (d, *J*_{C-F}=23.0 Hz), 112.9, 111.3, 72.1, 49.4, 43.3, 41.5, 37.2, 33.6, 32.6, 29.5, 26.7, 23.1, 18.9; ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ : -109.02; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for C₂₄H₂₇FO₃Na [M+Na]⁺ 405.1836, found 405.1829.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-3-氟苯甲酸酯(**20**): 黄色固体, 产率 88%. m.p. 191.9~192.8 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.84 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.77~7.67 (m, 1H), 7.45~7.04 (m, 1H), 7.30~7.22 (m, 1H), 6.92 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 6.71 (d, *J*=2.5 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J*=8.2, 2.5 Hz, 1H), 5.50 (p, *J*=3.7 Hz, 1H), 5.28 (d, *J*=11.0 Hz, 1H), 2.98~2.74 (m, 2H), 2.64 (d, *J*=14.6 Hz, 1H), 2.03~1.76 (m, 4H), 1.61 (dd, *J*=14.9, 3.9 Hz, 1H), 1.51 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.17 (s, 3H), 1.03 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 165.3 (d, *J*_{C-F}=3.0 Hz), 161.6 (d,

$J_{\text{C-F}}=246.0$ Hz), 153.7, 151.0, 132.91 (d, $J_{\text{C-F}}=7.0$ Hz), 130.1 (d, $J_{\text{C-F}}=7.0$ Hz), 126.6, 125.2 (d, $J_{\text{C-F}}=2.0$ Hz) 120.0 (d, $J_{\text{C-F}}=21.0$ Hz), 116.4 (d, $J_{\text{C-F}}=23.0$ Hz), 113.0, 111.2, 72.2, 49.4, 43.3, 41.6, 37.3, 33.6, 32.7, 29.5, 26.9, 23.4, 18.9; ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ : -112.02; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{FO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 405.1836, found 405.1827.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-4-氟苯甲酸酯(**21**): 黄色油状, 产率 85%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.08~8.04 (m, 2H), 7.12 (t, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.92 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.62 (dd, $J=8.2, 2.5$ Hz, 1H), 5.49 (p, $J=3.7$ Hz, 1H), 5.31 (d, $J=26.2$ Hz, 1H), 2.96~2.75 (m, 2H), 2.64 (d, $J=14.5$ Hz, 1H), 2.04~1.75 (m, 4H), 1.61 (dd, $J=14.9, 3.9$ Hz, 1H), 1.52~1.47 (m, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.03 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.7 (d, $J_{\text{C-F}}=253.0$ Hz), 165.6, 153.7, 151.0, 132.0 (d, $J_{\text{C-F}}=10.0$ Hz), 130.1, 126.9 (d, $J_{\text{C-F}}=3.0$ Hz), 126.5, 115.6 (d, $J_{\text{C-F}}=22.0$ Hz), 113.0, 111.2, 71.9, 49.4, 43.4, 41.6, 37.3, 33.6, 32.7, 29.5, 26.9, 23.4, 18.9; ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ : -105.55; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{FO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 405.1836, found 405.1826.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-2-氯苯甲酸酯(**22**): 无色油状, 产率 92%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.80 (dd, $J=7.7, 1.6$ Hz, 1H), 7.49~7.39 (m, 2H), 7.34~7.30 (m, 1H), 6.91 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.61 (dd, $J=8.2, 2.6$ Hz, 1H), 5.53~5.46 (m, 1H), 5.17 (s, 1H), 2.94~2.73 (m, 2H), 2.71~2.57 (m, 1H), 2.08~2.00 (m, 1H), 1.92 (dd, $J=14.3, 4.8$ Hz, 2H), 1.85~1.69 (m, 1H), 1.62 (dd, $J=14.8, 3.9$ Hz, 1H), 1.48 (dd, $J=12.3, 2.1$ Hz, 1H), 1.37 (s, 3H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.5, 153.6, 151.0, 133.6, 132.4, 131.1, 130.8, 130.6, 130.1, 126.6, 126.5, 112.9, 111.3, 77.3, 49.1, 43.1, 41.5, 37.4, 33.5, 32.7, 29.5, 27.1, 23.5, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{ClO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 421.1541, found 421.1531.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-3-氯苯甲酸酯(**23**): 白色固体, 产率 86%. m.p. 195.2~196.0 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.02 (t, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.94~7.91 (m, 1H), 7.55~7.52 (m, 1H), 7.39 (t, $J=7.9$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 6.61 (dd, $J=8.2, 2.6$ Hz, 1H), 5.49 (p, $J=3.8$ Hz, 1H), 2.99~2.75 (m, 2H), 2.64 (d, $J=$

14.3 Hz, 1H), 2.05~1.74 (m, 4H), 1.61 (dd, $J=14.9, 3.9$ Hz, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.17 (s, 3H), 1.03 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.2, 153.6, 151.0, 134.6, 132.9, 132.4, 130.1, 129.8, 129.7, 127.6, 126.6, 112.9, 111.2, 72.2, 49.3, 43.2, 41.5, 37.3, 33.6, 32.7, 29.5, 27.0, 23.4, 18.9; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{ClO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 421.1541, found 421.1529.

(3*R*,4*aS*,10*aS*)-6-羟基-1,1,4*a*-三甲基-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-八氢菲-3-基-4-氯苯甲酸酯(**24**): 无色油状, 产率 94%. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.04~7.90 (m, 2H), 7.55~7.41 (m, 2H), 6.81 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.51 (dd, $J=8.2, 2.5$ Hz, 1H), 5.43 (p, $J=3.6$ Hz, 1H), 2.86~2.71 (m, 2H), 2.67~2.62 (m, 1H), 2.06~1.88 (m, 2H), 1.84~1.72 (m, 2H), 1.61 (dd, $J=14.9, 3.9$ Hz, 1H), 1.45 (dd, $J=12.3, 2.0$ Hz, 1H), 1.39 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 1.01 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 166.6, 156.2, 151.9, 140.4, 132.0, 131.0, 130.6, 130.1, 126.4, 114.0, 111.9, 73.5, 50.9, 44.3, 42.6, 38.4, 34.1, 33.6, 30.6, 27.7, 23.9, 20.1; HRMS (ESI-Orbitrap) calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{ClO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 421.1541, found 421.1529.

3.3 α -葡萄糖苷酶抑制及动力学测定

参照课题组前期方法^[23-24]测定化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性. 10 μL α -葡萄糖苷酶和 10 μL 待测化合物加入 130 μL 磷酸盐缓冲溶液(PBS)(0.1 mol/L, pH 6.8)中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 10 min, 随后加入 50 μL 的 *p*-NPG, 在 405 nm 下测定吸光度的变化. 计算化合物的活性.

酶动力学^[25]: 固定底物浓度, 测定化合物 **15** (0~32 $\mu\text{mol/L}$)在不同酶浓度(0.075~0.15 U/mL)下, 405 nm 处吸光度值的变化率.

底物动力学^[26]: 固定酶浓度, 测定化合物 **15** (0~32 $\mu\text{mol/L}$)在不同底物浓度(1~4 mmol/L)下 405 nm 处吸光度值的变化率.

3.4 3D 荧光光谱

参照课题组前期方法^[27-28]测定 α -葡萄糖苷酶在 200~600 nm 波长下的 3D 荧光光谱. 然后加入 10 μL 的化合物 **15**, 25 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 5 min, 记录 α -葡萄糖苷酶-化合物 **15** 的 3D 荧光数据.

3.5 分子对接

参照前期方法^[29-31], 用 SYBYL 软件模拟 α -葡萄糖苷酶与化合物 **15** 的对接. 首先化合物 **15** 进行加氢和能量最小化处理, 接着对蛋白进行加氢优化, 完成后进行对接模拟.

辅助材料(Supporting Information) 提供了化合物 **1**~

24 的 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HRMS 谱图。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Rohm, T. V.; Meier, D. T.; Olefsky, J. M.; Donath, M. Y. *Immunity* **2022**, 55, 31.
- [2] Cole, J. B.; Florez, J. C. *Nat. Rev. Nephrol.* **2020**, 16, 377.
- [3] Chiba, S. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1997**, 61, 1233.
- [4] Zhang, Z.; Dai, C.; Wu, H.; Li, J.; Nan, F. *Chin. J. Org. Chem.* **2021**, 41, 3204 (in Chinese).
(张正, 戴成球, 吴红红, 李静雅, 南发俊, 有机化学, **2021**, 41, 3204.)
- [5] Kong, Y.; Yang, B.; Zhuang, Y.; Zhang, J.; Sun, D.; Dong, C. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, 42, 770 (in Chinese).
(孔媛芳, 杨彬, 庄严, 张京玉, 孙德梅, 董春红, 有机化学, **2022**, 42, 770.)
- [6] Liu, G.; Li, J.; Shi, L.; Liu, M.; Cai, B. *Chin. J. Org. Chem.* **2021**, 41, 2974 (in Chinese).
(刘改枝, 李金鑫, 史礼君, 刘萌芽, 蔡邦荣, 有机化学, **2021**, 41, 2974.)
- [7] Arunagirinathan, G.; Khwaja, N. U. D. *Curr. Drug Saf.* **2021**, 16, 122.
- [8] Eguchi, K.; Komori, T.; Saito, T.; Hoshide, S.; Kario, K. *J. Electrocardiol.* **2018**, 51, 21.
- [9] Lin, F.; Wang, Z.; Dai, D.; Zhou, X.; Wu, L. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, 42, 1248 (in Chinese).
(林芳霞, 王治鸿, 代德财, 周学明, 吴禄勇, 有机化学, **2022**, 42, 1248.)
- [10] Dirir, A. M.; Daou, M.; Yousef, A. F.; Yousef, L. F. *Phytochem. Rev.* **2022**, 21, 1049.
- [11] Ichale, R.; Kanhed, A. M.; Vora, A. *Mol. Divers.* **2023**, 23, 32013.
- [12] Kim, S. D. *Food Chem.* **2013**, 13, 297.
- [13] Lin, J.; Xiao, D.; Lu, L.; Liang, B.; Xiong, Z.; Xu, X. T. *J. Mol. Struct.* **2023**, 34, 234.
- [14] Khan, H.; Zafar, M.; Patel, S.; Shah, S. M.; Bishayee, A. *Food Chem. Toxicol.* **2019**, 130, 207.
- [15] Khan, S.; Ullah, H.; Rahim, F.; Nawaz, M.; Hussain, R.; Rasheed, L. *J. Mol. Struct.* **2022**, 1269, 231.
- [16] Xu, X. T.; Deng, X. Y.; Chen, J.; Liang, Q. M.; Zhang, K.; Li, D. L.; Wu, P. P.; Zheng, X.; Zhou, R. P.; Jiang, Z. Y.; Ma, A. J.; Chen, W. H.; Wang, S. H. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 189, 45.
- [17] Zhang, X.; Zheng, Y. Y.; Hu, C. M.; Wu, X. Z.; Lin, J.; Xiong, Z.; Zhang, K.; Xu, X. T. *Arab. J. Chem.* **2022**, 15, 231.
- [18] Fan, M. Y.; Yang, W.; Peng, Z. Y.; He, Y.; Wang, G. C. *Bioorg. Chem.* **2023**, 131, 456.
- [19] Zhong, X.; Yang, S.; Liu, T.; Ji, S.; Hu, J.; Li, H. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 150, 841.
- [20] Hu, C. M.; Wang, W. J.; Ye, Y. N.; Kang, Y.; Lin, J.; Wu, P. P.; Li, D. L.; Bai, L. P.; Xu, X. T.; Li, B. Q.; Zhang, K. *Bioorg. Chem.* **2021**, 116, 105291.
- [21] Deng, X. Y.; Ke, J. J.; Zheng, Y. Y.; Li, D. L.; Zhang, K.; Zheng, X.; Wu, J. Y.; Xiong, Z.; Wu, P. P.; Xu, X. T. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2022**, 37, 451.
- [22] Xiao, D.; Lu, L.; Liang, B.; Xiong, Z.; Xu, X. T.; Chen, W. H. *Eur. J. Med. Chem.* **2023**, 261, 115795.
- [23] Min, X.; Lu, L.; Xu, X. T.; Wen, Y.; Zheng, X. *Int. J. Biol. Macromol.* **2023**, 253, 126962.
- [24] Wang, G.; Wang, J.; Xie, Z.; Chen, M.; Li, L.; Peng, Y.; Chen, S.; Li, W.; Deng, B. *Bioorg. Chem.* **2017**, 72, 228.
- [25] Wang, G.; Peng, Z.; Wang, J.; Li, X.; Li, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 125, 423.
- [26] Wang, G.; Peng, Z.; Gong, Z.; Li, Y. *Bioorg. Chem.* **2018**, 78, 195.
- [27] Leong, S. W.; Abas, F.; Lam, K. W.; Yusoff, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, 28, 302.
- [28] Li, S.; Yin, L.; Yi, J.; Zhang, L. M.; Yang, L. *J. Food Biochem.* **2021**, 45, e13550.
- [29] Narender, T.; Madhur, G.; Jaiswal, N.; Agrawal, M.; Maurya, C. K.; Rahuja, N.; Srivastava, A. K.; Tamrakar, A. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 63, 162.
- [30] Putta, S.; Sastry Yarla, N.; Kumar Kilari, E.; Surekha, C.; Aliev, G.; Basavaraju Divakara, M.; Sridhar Santosh, M.; Ramu, R.; Zameer, F.; Prasad, N.; Chintala, R. *Curr. Top. Med. Chem.* **2016**, 16, 2532.
- [31] Wu, X.; Zhu, W.; Lu, L.; Hu, C.; Zheng, Y.; Zhang, X.; Lin, J.; Wu, J.; Xiong, Z.; Zhang, K.; Xu, X. *Arab. J. Chem.* **2023**, 16, 104659.

(Cheng, F.)