

$\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯类 GPR52 拮抗剂的设计与合成研究沈冬杭<sup>†,a,b,c</sup> 李 鑫<sup>†,a,b</sup> 郭世猛<sup>a,b</sup> 谢 欣<sup>\*,a,b,c</sup> 南发俊<sup>\*,a,b,c</sup>( <sup>a</sup> 中国科学院大学 北京 100049)( <sup>b</sup> 中国科学院上海药物研究所 上海 201203)( <sup>c</sup> 杭州高等研究院 杭州 310024)

**摘要** GPR52 是一种孤儿 G 蛋白偶联受体,在纹状体中高度表达,与神经退行性疾病亨廷顿舞蹈症(HD)的发生相关.变异亨廷顿蛋白(mHTT)的蓄积是亨廷顿舞蹈症的主要发病原因.通过拮抗 GPR52 活性降低 mHTT 的水平是一种有潜力的新型治疗手段.通过高通量筛选,发现天然产物 **E7** 作为共价拮抗剂对 GPR52 具有一定的抑制作用( $IC_{50}=12.0\ \mu\text{mol/L}$ ).本工作通过保留关键母核  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯,对 **E7** 进行结构简化并改造,设计合成了 34 个新型  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯衍生物,其中(±)-4-甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10m**)对 GPR52 具有较好的拮抗活性( $IC_{50}=0.58\ \mu\text{mol/L}$ ).同时,初步确定了此类新型 GPR52 拮抗剂的构效关系,并验证了  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯母核的必要性.

**关键词** 亨廷顿舞蹈症; G 蛋白偶联受体; GPR52;  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯; 拮抗剂

Design and Synthesis Studies of  $\alpha$ -Methylene- $\gamma$ -butyrolactones Antagonists of GPR52Shen, Donghang<sup>†,a,b,c</sup> Li, Xin<sup>†,a,b</sup> Guo, Shimeng<sup>a,b</sup> Xie, Xin<sup>\*,a,b,c</sup> Nan, Fajun<sup>\*,a,b,c</sup>( <sup>a</sup> University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)( <sup>b</sup> Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203)( <sup>c</sup> Hangzhou Institute for Advanced Study, Hangzhou 310024)

**Abstract** GPR52 is an orphan G protein-coupled receptor, which is highly expressed in the striatum and associated with Huntington's disease (HD), a neurodegenerative disease. HD is caused by the accumulation of mutant Huntingdon's protein (mHTT). Reduction of mHTT level by inhibition of GPR52 is a novel potential method of HD therapy. Through high throughput screening, the natural product **E7** was found as a covalent antagonist against GPR52 ( $IC_{50}=12.0\ \mu\text{mol/L}$ ). In this study, the structure of **E7** was simplified and the  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone moiety was retained. And 34 novel  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone derivatives were designed and synthesized, of which (±)-((2*S*,3*R*)-4-methylene-5-oxo-2-(thiophen-2-yl)-tetrahydrofuran-3-yl)methyl 4-methoxybenzoate (**10m**) showed most potent antagonistic activity against GPR52 ( $IC_{50}=0.58\ \mu\text{mol/L}$ ). Meanwhile, the structure-activity relationship was determined preliminarily and the necessary of  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone moiety was verified.

**Keywords** Huntington's disease; G protein-coupled receptor; GPR52;  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactones; antagonist

亨廷顿舞蹈症(Huntingdon's disease, HD)是一种遗传性神经退行性疾病.其发病机制为 4 号染色体上亨廷顿基因中 CAG 密码子的过度复制导致表达出 C 端谷氨酰胺多聚的变异亨廷顿蛋白(mutant Huntingdon protein, mHTT),该变异蛋白难以被降解,而 mHTT 的蓄积将导致纹状体中的中型棘状神经元功能失调,最终导致疾病发生<sup>[1-2]</sup>.目前研究发现,通过直接沉默亨廷顿基因的方

式(如小干扰 RNA、短发卡 RNA、反义寡核苷酸等<sup>[3-7]</sup>)可以降低神经元中 mHTT 的水平,从而改善 HD 相关的表型<sup>[8-9]</sup>.但由于该方法药物递送效率较低,因此难以应用于临床.目前,有多个信号通路能够调节 mHTT 水平<sup>[10-11]</sup>,其中, GPR52 被证明能在多种模型中降低 mHTT 水平<sup>[12]</sup>. GPR52 是一种 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR),其内源性配体仍未发现,

\* Corresponding authors. E-mail: fjan@simm.ac.cn; xxie@simm.ac.cn

Received March 2, 2023; revised May 25, 2023; published online July 5, 2023.

\* 共同第一作者(These authors contributed equally to this work).

高度保守, 且在大脑尤其是纹状体中大量表达. 在纹状体神经元中, GPR52 可能起到对 mHTT 的稳定作用, 通过抑制 GPR52 活性, 降低 cAMP 的水平直接导致 mHTT 通过蛋白酶体降解<sup>[12]</sup>. 在 HD 模型小鼠中, GPR52 的敲除能显著改善其 HD 表型, 并且在野生型和 HD 表型小鼠中, 未发现 GPR52 敲除对动物大小、体重、主要器官形态和行为状态的影响. 靶向 GPR52 的小分子化合物对 HD 治疗具有极大的潜力, 然而 GPR52 拮抗剂仍鲜有报道. 天然产物 **E7** (**1**, 图 1) 是第一个通过高通量筛选得到的 GPR52 拮抗剂 ( $IC_{50}=12.0 \mu\text{mol/L}$ )<sup>[13]</sup>. 在体内实验中, 通过脑室注射给药, HD 模型小鼠和野生型小鼠纹状体神经元中的 mHTT 水平均显著降低. 随后通过高通量筛选得到另一苗头化合物 **F11**, 经过构效关系研究得到 **Comp-43** (**2**, 图 1). **2** 具有良好的 GPR52 拮抗活性 ( $IC_{50}=0.63 \mu\text{mol/L}$ ), 并且可以通过腹腔注射或脑室注射给药, 降低 mHTT 水平并改善 HD 相关表型<sup>[14]</sup>.

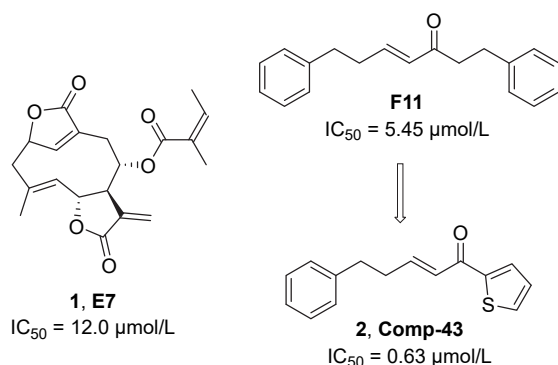


图 1 GPR52 小分子拮抗剂

Figure 1 Small antagonists against GPR52

通过靶向蛋白组学与亲和质谱研究发现, **E7** 与 GPR52 中的位于 N-端的 Cys27、跨膜区域的 Cys114 和 Cys156 共价结合发挥其拮抗作用, 其中 Cys156 被鉴定为是最主要的结合位点<sup>[15]</sup>. **E7** 结构中有三个 Michael 受体可以与半胱氨酸反应, 其中的  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯部分由于具有独特的环外双键, 该结构活性较高, 可能作为关键的药效团发挥作用<sup>[16]</sup>. 因此, 本工作通过保留  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯结构, 对天然产物 **E7** 进行结构简化, 进一步修饰后得到苗头化合物 **7b**. 通过对酯基部分的考

察, 得到了活性较好的化合物 **10m** ( $IC_{50}=0.58 \mu\text{mol/L}$ ). 最后通过对  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯进行氢化, 验证了  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯母核的必要性.

## 1 结果与讨论

### 1.1 合成路线设计

$\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯类化合物的合成路线见 Scheme 1, 化合物 **3** 和不同的芳香醛在四氢呋喃/饱和氯化铵混合溶液中, 在活化锌粉存在下发生 Barbier 偶联得到反式醇 **5**. 但是在该条件下, 若以脂肪醛为原料, 中间体 **5** 的非对映异构体比例降低. 因此, 筛选条件后通过  $\text{CrCl}_2$  介导的 Nozaki-Hiyama-Kishi 反应得到反式比例较高的中间体 **5**. 由于 (*Z*)-2-甲基丁-2-烯酸在碱性条件下易发生异构化得到 (*E*)-2-甲基丁-2-烯酸酯产物, 因此通过过量的酸和与酸等物质的量的草酰氯反应制备酰氯, 与中间体 **5** 反应得到化合物 **8a~8d**. 中间体 **5** 通过水解, 随后在酸性条件下重新内酯化得到酯交换产物 **6**. 中间体 **6** 与 (*Z*)-2-甲基丁-2-烯酸酯化通过光延反应制备得到 **7a~7d**. **10a~10x** 则通过中间体 **6** 与不同的酸在 1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐 (EDCI)、4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 催化下酯化得到. 中间体 **6b** 通过硼氢化钠还原不饱和酯基得到中间体 **11**. **11** 与不同的酸在 EDCI、DMAP 催化下酯化得到 **12a** 和 **12b**. 中间体 **6b** 与  $\text{Cl}_3\text{CC}(=\text{NH})\text{OPMB}$  试剂在 **10-CSA** 催化下生成对甲氧基苄基醚衍生物 **13**. 与此同时, 以 **5b** 为原料, 经过分子内酯交换反应以及甲醇对双键的 Michael 加成得到中间体 **14**, 随后制成磺酸酯 **15**, **15** 与叠氮化钠发生取代反应得到叠氮中间体 **16**. **16** 经过三苯基膦还原得到胺 **17**, 随后 **17** 与对甲氧基苯甲酸通过酰胺缩合得到酰胺 **18**, 最后通过 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯 (DBU) 将甲醇消除得到酰胺衍生物 **19**.

### 1.2 GPR52 拮抗活性的测定

首先, 尝试保留  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯结构, 对 **E7** 进行结构简化, 以设计出活性更优的化合物, 并解决 **E7** 在植物中含量较低且难提纯等问题. 以  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯为关键母核, 设计了两种简化策略 (图 2), 断裂 3-C—

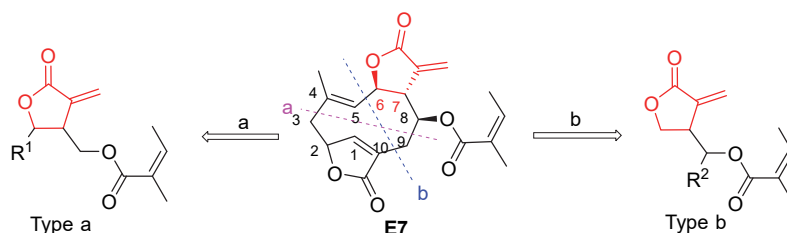
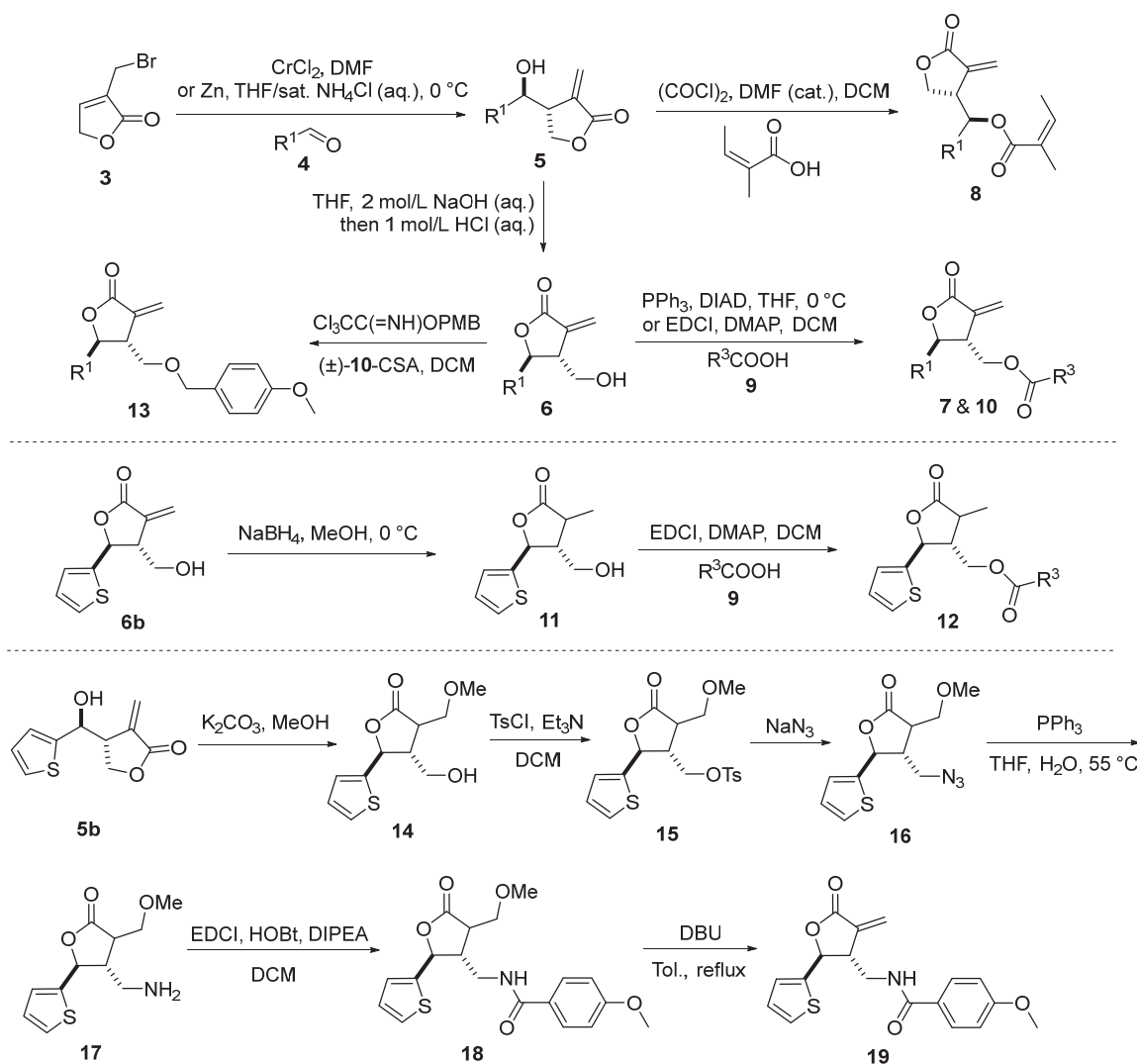


图 2 **E7** 的简化策略

Figure 2 Simplification strategies of **E7**



图示 1  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯衍生物的合成

Scheme 1 Synthesis of  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone derivatives

4-C 和 8-C—9-C(策略 a)或 5-C—6-C(策略 b)分别得到  $\beta,\gamma$ -双取代(Type-a)和  $\beta$ -单取代(Type-b)的  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯类衍生物. 合成了一侧保留当归酸酯, 另一侧为不同的芳基或烯基的化合物 **7a~7d**、**8a~8d**.

化合物 **7a~7d** 和 **8a~8d** 对 GPR52 的拮抗活性结果见表 1. 结果显示, 除了苯乙烯衍生物(**7c**、**8c**),  $\beta,\gamma$ -双取代衍生物(Type a)相较于  $\beta$ -单取代衍生物(Type b)具有更好的活性, 并且与 **E7** 相比活性明显提升. 2-噻吩基衍生物(**7b**)活性较好( $IC_{50}=0.67\text{ }\mu\text{mol/L}$ ), 相较于 **E7** 活性提升约 20 倍, 因此后续将基于该结构进行改造.

随后保留 2-噻吩基部分对酯基部分进行考察, 结果见表 2. 结果显示, 烷基取代的 **10a~10d** 活性均有明显下降, 而烯烃衍生物 **10e~10i** 活性相对较好, 但仍较 **7b** 下降了 2~5 倍, 其中具有较大亲脂性的环己烯化合物 **10h** 活性最好( $IC_{50}=1.66\text{ }\mu\text{mol/L}$ ).

考察了苯、富电子苯环和缺电子苯环的化合物

**10j~10m**, 其中无取代的苯基化合物 **10j** 表现出中等拮抗活性( $IC_{50}=5.33\text{ }\mu\text{mol/L}$ ), 缺电子基团对氟(**10k**)、对三氟甲基(**10l**)取代的苯环与 **10j** 活性相似, 仅有细微提升. 甲氧基取代的富电子芳环化合物 **10m** 表现出较 **7b** 更好的活性( $IC_{50}=0.58\text{ }\mu\text{mol/L}$ ), 因此推测给电子基取代芳环有利于活性提高. 继续考察了甲氧基取代位置对活性的影响, 其中邻、间位取代分别导致活性下降了 3 倍和 6 倍, 可能由于邻对位取代对酯基存在给电子共轭效应, 而邻位由于存在位阻效应导致共轭效应下降, 从而活性降低, 而间位取代只存在给电子诱导效应, 因此活性降低较多.

用三氟甲氧基(**10p**)、异丙氧基(**10q**)替换对甲氧基, 均使拮抗活性大幅下降, 而在苯环与酯基间插入亚甲基破坏了共轭(**10r**), 也导致活性下降 1 倍. 保留对甲氧基, 考察了二甲氧基和三甲氧基取代的化合物(**10s~10v**), 其中 **10s** 较 **10o** 活性略有上升, 但仍不如 **10m**, 说明邻

表 1 化合物 7a~7d 和 8a~8d 对 GPR52 的拮抗活性  
Table 1 Antagonist activity of compounds 7a~7d and 8a~8d against GPR52

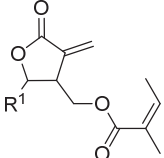
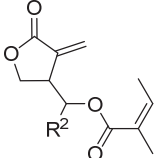
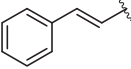
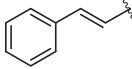
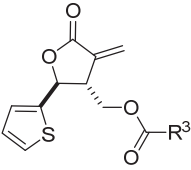
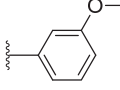
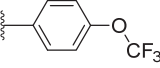
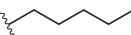
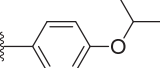
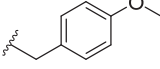
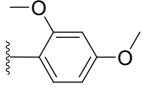
| <br>Type a |                                                                                   |                                           | <br>Type b |                                                                                     |                                           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Compd.                                                                                      | R <sup>1</sup> (Type a)                                                           | IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> ) | Compd.                                                                                        | R <sup>2</sup> (Type b)                                                             | IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> ) |
| 7a                                                                                          |  | 1.73 ± 0.09                               | 8a                                                                                            |  | 3.77 ± 0.15                               |
| 7b                                                                                          |  | 0.67 ± 0.18                               | 8b                                                                                            |  | 2.20 ± 0.35                               |
| 7c                                                                                          |  | 3.99 ± 0.35                               | 8c                                                                                            |  | 1.55 ± 0.22                               |
| 7d                                                                                          |  | 1.53 ± 0.22                               | 8d                                                                                            |  | 3.95 ± 0.31                               |
| E7                                                                                          |                                                                                   | 11.89                                     |                                                                                               |                                                                                     |                                           |

表 2 化合物 10a~10x 对 GPR52 的拮抗活性  
Table 2 Antagonist activity of compounds 10a~10x against GPR52

| <br> |                                                                                     |                                           |        |                                                                                       |                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|--------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Compd.                                                                                  | R <sup>3</sup>                                                                      | IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> ) | Compd. | R <sup>3</sup>                                                                        | IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> ) |
| 7b                                                                                      |  | 0.67 ± 0.18                               | 10m    |  | 0.58 ± 0.09                               |
| 10a                                                                                     |  | 20.8 ± 2.4                                | 10n    |  | 3.79 ± 0.82                               |
| 10b                                                                                     |  | 19.5 ± 3.3                                | 10o    |  | 2.02 ± 0.48                               |
| 10c                                                                                     |  | 6.50 ± 0.91                               | 10p    |  | 3.75 ± 0.29                               |
| 10d                                                                                     |  | 10.4 ± 1.8                                | 10q    |  | 4.55 ± 1.20                               |
| 10e                                                                                     |  | 3.54 ± 0.92                               | 10r    |  | 1.33 ± 0.22                               |
| 10f                                                                                     |  | 4.00 ± 1.1                                | 10s    |  | 1.44 ± 0.20                               |

续表

| Compd. | R <sup>3</sup> | IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> ) | Compd. | R <sup>3</sup> | IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> ) |
|--------|----------------|-------------------------------------------|--------|----------------|-------------------------------------------|
| 10g    |                | 1.44 ± 0.21                               | 10t    |                | 4.85 ± 0.59                               |
| 10h    |                | 1.66 ± 0.42                               | 10u    |                | 2.43 ± 0.09                               |
| 10i    |                | 2.35 ± 0.17                               | 10v    |                | 5.15 ± 0.31                               |
| 10j    |                | 5.33 ± 0.63                               | 10w    |                | 3.76 ± 1.10                               |
| 10k    |                | 4.72 ± 0.28                               | 10x    |                | 8.59 ± 1.00                               |
| 10l    |                | 5.03 ± 0.26                               | E7     | —              | 11.89                                     |

甲氧基和间甲氧基对活性均存在不利影响. 用富电子芳环苯并呋喃(**10w**)、苯并噻吩(**10x**)替换苯环也导致活性有一定降低.

为了进一步考察可能的作用方式和  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯的必要性, 将 **7b**、**10m** 的环外双键还原得到 **12a** 和 **12b**, 表 3 结果显示, 将环外双键还原后活性也随之消

表 3 化合物 **12a** 和 **12b** 对 GPR52 的拮抗活性

Table 3 Antagonist activity of compounds **12a** and **12b** against GPR52

| Comp. | X | R <sup>3</sup> | IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> ) |
|-------|---|----------------|-------------------------------------------|
| 7b    |   |                | 0.67 ± 0.18                               |
| 12a   |   |                | NA                                        |
| 10m   |   |                | 0.58 ± 0.09                               |
| 12b   |   |                | NA                                        |

NA: no activity.

失, 说明  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯是必不可缺的, 并且此类 GPR52 拮抗剂可能通过共价结合发挥活性, 这也进一步证明当归酸酯对发挥拮抗活性不是必要的.

由于酯键在血浆中较不稳定, 易水解, 为了提高血浆稳定性, 将酯键部分用较为稳定的醚键和酰胺键替换, 得到了化合物 **13** 和 **19**. 表 4 结果显示, 将酯键替换为醚键后活性下降了 10 倍, 替换为酰胺键则下降了 30 倍, 说明酯键在此类拮抗剂中发挥了重要的作用. 同时, 为了验证这类拮抗剂是否作为前药, 对其水解产物 **6b** 的活性进行了考察, 结果显示化合物 **6b** 活性基本丧失,

表 4 化合物 **6b**、**13** 和 **19** 对 GPR52 的拮抗活性

Table 4 Antagonist activity of compounds **6b**, **13** and **19** against GPR52

| Compd. | R <sup>4</sup> | IC <sub>50</sub> /(μmol·L <sup>-1</sup> ) |
|--------|----------------|-------------------------------------------|
| 10m    |                | 0.58 ± 0.09                               |
| 6b     |                | >30                                       |
| 13     |                | 5.09 ± 0.78                               |
| 19     |                | 15.9 ± 1.6                                |

因此我们认为  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯类 GPR52 拮抗剂并非作为前药发挥拮抗活性。

经过结构优化,得到了一系列  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯类 GPR52 拮抗剂,为了进一步考察这类新型拮抗剂对 GPR52 的特异性,检测了化合物 **7b** 和 **10m** 对  $\beta$ 2AR、GLP-1R、GHSR 的拮抗活性,并分别以 Propranolol、Exendin (9-39)、Substance P 作为对照. 表 5 结果显示, **7b** 和 **10m** 对  $\beta$ 2AR、GLP-1R、GHSR 拮抗活性都较弱,说明 **7b** 和 **10m** 对 GPR52 具有较好的选择性。

表 5 化合物 **7b** 和 **10m** 的选择性  
Table 5 Selectivity of compounds **7b** and **10m**

| Compd.         | IC <sub>50</sub> /( $\mu$ mol·L <sup>-1</sup> ) |             |        |       |
|----------------|-------------------------------------------------|-------------|--------|-------|
|                | GPR52                                           | $\beta$ 2AR | GLP-1R | GHSR  |
| Propranolol    | —                                               | 0.057       | —      | —     |
| Exendin (9-39) | —                                               | —           | 0.136  | —     |
| Substance P    | —                                               | —           | —      | 0.458 |
| <b>7b</b>      | 0.67 $\pm$ 0.18                                 | >100        | >100   | >100  |
| <b>10m</b>     | 0.58 $\pm$ 0.09                                 | >100        | >100   | >10   |

为了进一步验证  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯衍生物与 GPR52 的相互作用,将化合物 **10m** 与 GPR52 进行了分子对接模拟<sup>[17]</sup>. 如图 3 所示, (2*S*,3*R*)-**10m** 结构中的对甲氧基苯基部分伸入由 Ile47、Leu50、Phe117、Ile121 和 Ile307 组成的疏水性空腔. 而 (2*R*,3*S*)-**10m** 的对接结果具有较大的不同,其对甲氧基苯基部分可能位于结合口袋外侧,与 *N*-端结构域和胞外环 2 形成相互作用,结合能力相对较差. 初步对接结果表明,在两个构型中, (2*R*,3*S*)-**10m** 与 GPR52 的结合更紧密,可能具有更好的活性。

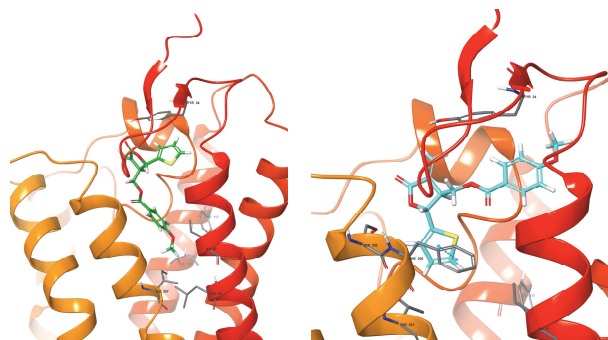


图 3 **10m** 与 GPR52 的分子对接模型

Figure 3 Molecular docking of **10m** and GPR52

Left: (2*S*,3*R*)-**10m**, green; right: (2*R*,3*S*)-**10m**, blue; PDB: 6L10.

## 2 结论

综上所述,通过对天然产物 **E7** 进行结构简化并修饰,合成了 34 个新型  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯类衍生物,并筛选得到了活性较好的 **7b** 和 **10m** 两个化合物, IC<sub>50</sub> 分别为 0.67 和 0.58  $\mu$ mol/L. 同时,总结了该类化合物的构效关系: (1)  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯部分是发挥其拮抗活性所必

须的; (2) 酯基对活性的影响较大,对于脂肪酸酯,不饱和酯基对活性有利,而对于芳香酯,富电子取代特别是对甲氧基取代芳环对活性有所提高. 初步的构效关系研究表明,作为一类结构新颖的  $\alpha$ -亚甲基- $\gamma$ -丁内酯 GPR52 拮抗剂值得进一步深入研究。

## 3 实验部分

### 3.1 仪器与试剂

<sup>1</sup>H NMR 和 <sup>13</sup>C NMR 谱图数据由 Bruker Avance 400 MHz 核磁共振波谱仪(氘代氯仿为溶剂, TMS 为内标), 高分辨质谱数据由 Bruker Daltonics microTOF-QII 质谱仪测定. 合成过程中用到的仪器有: 德国 Heidolph-MR3001 型恒温加热磁力搅拌器, 瑞士 Büchi R-200 型旋转蒸发仪、德国 Sartorius 电子天平、DLSB 低温冷却循环泵、SHZ-D(III) 循环水式真空泵、70-1 型远红外线干燥箱、ZK-82BB 型电热真空干燥箱和 KQ-100DZ 型数控超声波清洗仪等; 柱层析所用硅胶及薄层层析色谱 (TLC) 所用硅胶板为青岛海洋化工有限公司生产, 型号 200~300 目. 所使用石油醚沸程为 60~90 °C; 其它试剂和溶剂如无特殊说明, 均为分析纯或化学纯。

### 3.2 实验方法

#### 3.2.1 中间体 **5a**~**5b** 的合成

在 0 °C 下, 向 **3** (1.0 g, 5.65 mmol) 和醛 **4** (11.30 mmol) 的四氢呋喃 (7 mL)/饱和氯化铵溶液 (3.5 mL) 中加入 Zn 粉 (1.11 g, 16.95 mmol), 搅拌 45 min, 乙酸乙酯和水稀释, 升至室温, 乙酸乙酯萃取 (20 mL  $\times$  3), 合并有机相, 用 1 mol/L 盐酸、水、饱和食盐水洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化 [*V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=2:1] 得到中间体 **5a**~**5b**。

( $\pm$ )-(4*R*)-4-[(*S*)-羟基苯基甲基]-3-甲亚基四氢呋喃-2-酮(**5a**): 无色液体, 产率 51%. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.41~7.25 (m, 5H), 6.25 (d, *J*=2.2 Hz, 1H), 5.67 (d, *J*=1.7 Hz, 1H), 4.66 (dd, *J*=7.2, 2.4 Hz, 1H), 4.17~3.98 (m, 2H), 3.41~3.31 (m, 1H), 3.21 (d, *J*=3.0 Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 170.98, 140.69, 134.91, 128.82, 128.58, 126.59, 125.53, 75.50, 67.71, 45.43; HRMS (ESI positive) calcd for C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>NaO<sub>3</sub> [*M*+Na]<sup>+</sup> 227.0679, found 227.0680.

( $\pm$ )-(4*R*)-4-[(*S*)-羟基(噻吩-2-基)甲基]-3-甲亚基四氢呋喃-2-酮(**5b**): 无色液体, 产率 74%. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.33 (dd, *J*=5.0, 1.1 Hz, 1H), 7.01 (dt, *J*=4.9, 3.3 Hz, 2H), 6.40 (d, *J*=2.2 Hz, 1H), 5.92 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 4.98 (dd, *J*=7.8, 3.6 Hz, 1H), 4.27 (dd, *J*=9.7, 8.4 Hz, 1H), 4.11 (dd, *J*=9.8, 4.4 Hz, 1H), 3.52~3.44 (m, 1H), 2.57 (s, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :

170.50, 144.28, 134.66, 127.01, 126.01, 125.96, 125.40, 71.68, 67.39, 45.90; HRMS (ESI positive) calcd for  $C_{10}H_{10}NaO_3S$   $[M+Na]^+$  233.0243, found 233.0242.

### 3.2.2 中间体 5c~5d 的合成

在 0 °C 下, 向 **3** (200 mg, 1.13 mmol) 和醛 **4** (2.26 mmol) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF) (4 mL) 溶液中, 加入  $CrCl_2$  (420 mg, 3.39 mmol), 反应液呈绿色, 升至室温, 继续搅拌 3 h, 乙酸乙酯(40 mL) 稀释, 依次用水(15 mL $\times$ 3)、饱和食盐水洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化 [*V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=2:1] 得到中间体 **5c~5d**.

(±)-(4*R*)-4-[(1*R*,2*E*)-1-羟基-3-苯基丙-2-烯基]-3-甲亚基四氢呋喃-2-酮(**5c**): 无色液体, 产率 62%.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.41~7.27 (m, 5H), 6.67 (d,  $J=15.9$  Hz, 1H), 6.40 (d,  $J=2.3$  Hz, 1H), 6.15 (dd,  $J=15.9$ , 6.9 Hz, 1H), 5.90 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 4.43~4.25 (m, 3H), 3.31 (dt,  $J=10.5$ , 4.3, 2.2 Hz, 1H), 2.12 (s, 1H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 171.02, 135.84, 134.71, 133.40, 128.74, 128.31, 127.28, 126.68, 125.19, 74.30, 67.60, 44.26; HRMS (ESI positive) calcd for  $C_{14}H_{14}NaO_3$   $[M+Na]^+$  253.0835, found 253.0837.

(±)-(4*R*)-4-[(1*R*)-1-羟基-3-甲基丁-2-烯基]-3-甲亚基四氢呋喃-2-酮(**5d**): 无色液体, 产率 55%.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.33 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.18 (d,  $J=9.2$  Hz, 1H), 4.41 (t,  $J=8.3$  Hz, 1H), 4.31 (t,  $J=8.8$  Hz, 1H), 4.15 (dd,  $J=9.6$ , 3.8 Hz, 1H), 3.18 (s, 1H), 2.04 (s, 1H), 1.73 (d,  $J=21.1$  Hz, 6H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 170.78, 139.12, 135.38, 124.61, 123.39, 69.74, 67.33, 44.70, 25.97, 18.62; HRMS (ESI positive) calcd for  $C_{10}H_{14}NaO_3$   $[M+Na]^+$  205.0836, found 205.0836.

### 3.2.3 中间体 6 的合成

向 **3** (930 mg, 4.42 mmol) 的四氢呋喃(10 mL) 中加入 2 mol/L 氢氧化钠溶液(4.5 mL), 室温下搅拌 3 h, 随后用 1 mol/L 盐酸调节 pH 至 1, 继续搅拌过夜. 二氯甲烷萃取(15 mL $\times$ 3), 合并有机相, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化 [*V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=2:1] 得到中间体 **6**.

(±)-(4*R*,5*S*)-4-(羟基甲基)-3-甲亚基-5-苯基四氢呋喃-2-酮(**6a**): 无色液体, 产率 42%.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.45~7.29 (m, 5H), 6.41 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.76 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.43 (d,  $J=4.8$  Hz, 1H), 3.88 (ddd,  $J=15.6$ , 10.5, 5.3 Hz, 2H), 3.16 (tdt,  $J=7.7$ , 5.2, 2.5 Hz, 1H), 2.05 (t,  $J=13.4$  Hz, 1H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 170.16 (s), 139.52 (s), 135.53 (s), 128.90 (s), 128.62 (s), 125.56 (s), 124.01 (s), 80.98 (s), 63.38 (s),

50.05 (s); HRMS (ESI positive) calcd for  $C_{12}H_{12}NaO_3$   $[M+Na]^+$  227.0679, found 227.0679.

(±)-(4*R*,5*S*)-4-(羟基甲基)-3-甲亚基-5-(噻吩-2-基)四氢呋喃-2-酮(**6b**): 无色液体, 产率 47%.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.34 (dd,  $J=5.1$ , 1.1 Hz, 1H), 7.12 (d,  $J=3.5$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.42 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 5.80 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.66 (d,  $J=5.2$  Hz, 1H), 3.98~3.82 (m, 2H), 3.41~3.27 (m, 1H), 2.02 (s, 1H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 169.38, 141.84, 135.32, 127.13, 126.49, 126.21, 124.07, 77.06, 62.85, 50.01; HRMS (ESI positive) calcd for  $C_{10}H_{10}NaO_3S$   $[M+Na]^+$  233.0243, found 233.0242.

(±)-(4*R*,5*R*)-4-(羟基甲基)-3-甲亚基-5-[(1*E*)-2-苯基乙烯基]四氢呋喃-2-酮(**6c**): 无色液体, 产率 44%.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.43~7.28 (m, 5H), 6.72 (d,  $J=15.8$  Hz, 1H), 6.40 (s, 1H), 6.21 (dd,  $J=15.8$ , 6.9 Hz, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.03 (t,  $J=5.8$  Hz, 1H), 3.87 (p,  $J=10.8$  Hz, 2H), 3.06 (s, 1H), 1.86 (s, 1H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 169.80, 135.56, 135.52, 133.25, 128.73, 128.48, 126.79, 126.16, 123.71, 80.39, 62.93, 47.86; HRMS (ESI positive) calcd for  $C_{14}H_{14}NaO_3$   $[M+Na]^+$  253.0836, found 253.0835.

(±)-(4*R*,5*R*)-4-(羟基甲基)-3-甲亚基-5-(2-甲基丙-1-烯基)四氢呋喃-2-酮(**6d**): 无色液体, 产率 44%.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.31 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H), 5.73 (s, 1H), 5.22 (d,  $J=9.2$  Hz, 1H), 5.13 (dd,  $J=8.9$ , 5.6 Hz, 1H), 3.89~3.68 (m, 2H), 2.98~2.84 (m, 1H), 2.50 (s, 1H), 1.78 (s, 6H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 170.47, 140.58, 136.39, 122.93, 122.43, 62.46, 48.42, 25.83, 18.43; HRMS (ESI positive) calcd for  $C_{10}H_{14}NaO_3$   $[M+Na]^+$  205.0836, found 205.0833.

### 3.2.4 目标产物 7 的合成

在 0 °C 下, 向 **6** (20 mg, 0.095 mmol)、当归酸(19 mg, 0.19 mmol)、三苯基膦(50 mg, 0.19 mmol) 的四氢呋喃(1 mL) 溶液中逐滴加入偶氮二甲酸二异丙酯(DIAD) (40  $\mu$ L, 0.19 mmol), 0 °C 下继续搅拌 30 min. 加水淬灭, 乙酸乙酯萃取(5 mL $\times$ 3), 合并有机相, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化 [*V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=5:1] 得到目标产物 **7**.

(±)-(2*Z*)-2-甲基丁-2-烯酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-苯基四氢呋喃-3-基]甲基酯(**7a**): 无色液体, 产率 75%.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.45~7.34 (m, 3H), 7.32 (dd,  $J=6.6$ , 5.1 Hz, 2H), 6.45 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 6.13 (qd,  $J=7.2$ , 1.3 Hz, 1H), 5.79 (d,  $J=2.4$  Hz,

1H), 5.34 (d,  $J=5.2$  Hz, 1H), 4.41 (t,  $J=5.8$  Hz, 2H), 3.41~3.33 (m, 1H), 1.97 (dd,  $J=7.3, 1.4$  Hz, 3H), 1.90~1.82 (m, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 169.35, 167.33, 139.96, 138.91, 135.10, 128.96, 128.86, 126.92, 125.61, 124.32, 81.16, 63.82, 47.12, 20.47, 15.88; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{NaO}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  309.1097, found 309.1098.

(±)-(2Z)-2-甲基丁-2-烯酸-[(2S,3R)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-苯基四氢呋喃-3-基]甲基酯(**7b**): 无色液体, 产率 19%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.38~7.32 (m, 1H), 7.11 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=4.9, 3.7$  Hz, 1H), 6.45 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 6.13 (dd,  $J=7.3, 1.1$  Hz, 1H), 5.82 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.58 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H), 4.40 (dd,  $J=5.8, 3.0$  Hz, 2H), 3.59~3.51 (m, 1H), 1.96 (dd,  $J=7.3, 1.2$  Hz, 3H), 1.82 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.56, 167.27, 141.24, 140.03, 134.82, 127.13, 126.89, 126.68, 126.32, 124.39, 77.29, 63.46, 47.20, 20.40, 15.88; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NaO}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  315.0662, found 315.0663.

(±)-(2Z)-2-甲基丁-2-烯酸-[(2R,3R)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-[(1E)-2-苯基乙烯基]四氢呋喃-3-基]甲基酯(**7c**): 无色液体, 产率 51%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.42~7.27 (m, 5H), 6.71 (d,  $J=15.8$  Hz, 1H), 6.42 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 6.24~6.06 (m, 2H), 5.78 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 4.95 (t,  $J=6.3$  Hz, 1H), 4.42~4.34 (m, 2H), 3.27 (ddt,  $J=8.6, 5.7, 2.8$  Hz, 1H), 1.98 (dd,  $J=7.3, 1.2$  Hz, 3H), 1.87 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 169.18, 167.34, 139.94, 135.41, 135.09, 133.83, 128.73, 128.59, 126.93, 126.79, 125.58, 124.05, 80.71, 63.53, 44.96, 20.51, 15.90; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  335.1254, found 335.1254.

(±)-(2Z)-2-甲基丁-2-烯酸-[(2R,3R)-4-甲亚基-2-(2-甲基丙-1-烯基)-5-氧亚基四氢呋喃-3-基]甲基酯(**7d**): 无色液体, 产率 39%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.35 (d,  $J=2.9$  Hz, 1H), 6.13 (qd,  $J=7.2, 1.2$  Hz, 1H), 5.71 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.22 (d,  $J=9.2$  Hz, 1H), 5.03 (dd,  $J=9.2, 6.0$  Hz, 1H), 4.32 (ddd,  $J=16.7, 11.4, 5.8$  Hz, 2H), 3.15~3.06 (m, 1H), 1.98 (dd,  $J=7.3, 1.4$  Hz, 3H), 1.86 (d,  $J=1.3$  Hz, 3H), 1.77 (d,  $J=10.7$  Hz, 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 169.49, 167.37, 141.14, 139.62, 135.90, 127.04, 123.07, 122.07, 77.08, 63.09, 45.54, 25.81, 20.42, 18.42, 15.82; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  287.1254, found 287.1255.

### 3.2.5 目标产物 **8** 的合成

在 0 °C 下, 向当归酸(48 mg, 0.475 mmol)的二氯甲

烷(1 mL)溶液中滴加草酰氯(40  $\mu\text{L}$ , 0.475 mmol)、1 滴 DMF, 冒出大量气泡, 在 0 °C 下搅拌 4 h. 向反应液中滴加 **5** (20 mg, 0.095 mmol)的二氯甲烷(0.5 mL)溶液, 升至室温搅拌 48 h. 加水淬灭, 二氯甲烷萃取(5 mL $\times$ 3), 合并有机相, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化[V(石油醚): V(乙酸乙酯)=5:1]得到目标产物 **8**.

(±)-(2Z)-2-甲基丁-2-烯酸-(R)-[(3S)-4-甲亚基-5-氧亚基四氢呋喃-3-基]苯基甲基酯(**8a**): 无色液体, 产率 50%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.41~7.28 (m, 5H), 6.33 (s, 1H), 6.16 (q,  $J=7.2$  Hz, 1H), 5.98 (d,  $J=6.7$  Hz, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.28 (t,  $J=8.9$  Hz, 1H), 4.18 (dd,  $J=9.7, 3.2$  Hz, 1H), 3.58 (s, 1H), 1.98 (d,  $J=7.3$  Hz, 3H), 1.94 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 170.13, 166.35, 140.43, 136.92, 133.97, 128.78, 128.70, 126.92, 126.75, 125.50, 75.88, 67.44, 43.89, 20.51, 15.89; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{NaO}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  309.1097, found 309.1098.

(±)-(2Z)-2-甲基丁-2-烯酸-(R)-[(4S)-3-甲亚基-2-氧亚基四氢呋喃-4-基](噻吩-2-基)甲基酯(**8b**): 白色固体, 产率 17%. m.p. 75.1~75.8 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.31 (d,  $J=5.1$  Hz, 1H), 7.07 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 6.99 (dd,  $J=4.9, 3.7$  Hz, 1H), 6.40 (d,  $J=2.1$  Hz, 1H), 6.24 (d,  $J=7.4$  Hz, 1H), 6.22~6.12 (m, 1H), 5.68 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H), 4.34 (dd,  $J=9.8, 8.3$  Hz, 1H), 4.21 (dd,  $J=9.9, 3.8$  Hz, 1H), 3.67 (dddd,  $J=8.0, 6.0, 3.8, 1.8$  Hz, 1H), 1.99 (dd,  $J=7.3, 1.3$  Hz, 3H), 1.92 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 169.84, 166.12, 140.55, 139.54, 134.01, 127.01, 126.77, 126.11, 125.80, 71.74, 67.05, 44.04, 20.48, 15.94; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NaO}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  315.0662, found 315.0661.

(±)-(2Z)-2-甲基丁-2-烯酸-(1S,2E)-1-[(3S)-4-甲亚基-5-氧亚基四氢呋喃-3-基]-3-苯基丙-2-烯-1-基酯(**8c**): 无色液体, 产率 23%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.32 (dt,  $J=12.4, 7.0$  Hz, 5H), 6.70 (d,  $J=15.9$  Hz, 1H), 6.42 (s, 1H), 6.16 (dd,  $J=14.2, 7.2$  Hz, 1H), 6.09 (dd,  $J=15.9, 7.0$  Hz, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.67 (t,  $J=6.3$  Hz, 1H), 4.38 (dt,  $J=9.6, 6.1$  Hz, 2H), 3.52 (s, 1H), 2.00 (d,  $J=7.1$  Hz, 3H), 1.92 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 169.99, 166.50, 140.04, 135.53, 135.41, 134.11, 128.71, 128.54, 127.14, 126.78, 125.18, 122.55, 74.87, 67.10, 42.53, 20.51, 15.93; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  335.1254, found 335.1257.

(±)-(2Z)-2-甲基丁-2-烯酸-(1S)-3-甲基-1-[(3S)-4-甲亚基-5-氧亚基四氢呋喃-3-基]丁-2-烯-1-基酯(**8d**): 无色

液体, 产率 16%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.34 (d,  $J=1.7$  Hz, 1H), 6.10 (dd,  $J=7.2$ , 1.3 Hz, 1H), 5.76 (d,  $J=1.5$  Hz, 1H), 5.66 (dd,  $J=9.5$ , 6.6 Hz, 1H), 5.15 (d,  $J=9.5$  Hz, 1H), 4.40~4.22 (m, 2H), 3.45~3.32 (m, 1H), 1.97 (dd,  $J=7.2$ , 1.4 Hz, 3H), 1.88 (d,  $J=1.4$  Hz, 3H), 1.76 (dd,  $J=7.5$ , 0.8 Hz, 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 170.19, 166.78, 140.77, 138.94, 134.57, 127.46, 124.58, 118.99, 71.37, 67.05, 42.69, 25.96, 20.56, 18.90, 15.85; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  287.1254, found 287.1258.

### 3.2.6 目标产物 10 的合成

将 **6b** (30 mg, 0.14 mmol)、酸(0.17 mmol)、EDCI (33 mg, 0.17 mmol)和 DMAP (3.5 mg, 0.03 mmol)溶于二氯甲烷(1 mL), 室温搅拌过夜. 加水淬灭, 二氯甲烷萃取 (5 mL $\times$ 3), 合并有机相, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物用柱层析纯化 [ $V$ (石油醚):  $V$ (乙酸乙酯)=5:1]得到目标产物 **10**.

( $\pm$ )-乙酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10a**): 无色液体, 产率 23%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.36 (d,  $J=5.0$  Hz, 1H), 7.12 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.02 (dd,  $J=5.0$ , 3.7 Hz, 1H), 6.44 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.79 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.55 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.34 (d,  $J=6.2$  Hz, 2H), 3.50 (ddt,  $J=8.8$ , 5.8, 2.9 Hz, 1H), 2.04 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 170.59, 168.49, 141.19, 134.67, 127.13, 126.67, 126.27, 124.35, 77.15, 63.61, 47.08, 20.63; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{NaO}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  275.0349, found 275.0349.

( $\pm$ )-2,2-二甲基丙酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10b**): 白色固体, 产率 12%. m.p. 75.1~75.8  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.36 (dd,  $J=5.1$ , 0.9 Hz, 1H), 7.12 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.44 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 5.80 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.55 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H), 4.32 (d,  $J=5.9$  Hz, 2H), 3.57~3.47 (m, 1H), 1.15 (s, 9H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 178.12, 168.52, 141.19, 134.76, 127.14, 126.72, 126.42, 124.33, 77.26, 63.84, 47.22, 38.87, 27.05; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NaO}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  317.0818, found 317.0821.

( $\pm$ )-2-甲基丁酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10c**): 无色液体, 产率 71%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.36 (d,  $J=5.0$  Hz, 1H), 7.11 (d,  $J=3.3$  Hz, 1H), 7.05~6.97 (m, 1H), 6.44 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 5.80 (d,  $J=1.6$  Hz, 1H), 5.55 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.34 (d,  $J=5.8$  Hz, 2H), 3.59~3.41 (m, 1H),

2.36 (dd,  $J=13.9$ , 6.9 Hz, 1H), 1.70~1.55 (m, 1H), 1.52~1.36 (m, 1H), 1.10 (dd,  $J=7.0$ , 2.7 Hz, 3H), 0.87 (t,  $J=7.4$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 176.25, 168.51, 141.22, 134.75, 127.12, 126.68, 126.33, 124.31, 77.20, 63.44, 47.23, 40.93, 26.58, 16.42, 11.56; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NaO}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  317.0818, found 317.0821.

( $\pm$ )-己酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10d**): 无色液体, 产率 59%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.36 (dd,  $J=5.1$ , 1.1 Hz, 1H), 7.11 (d,  $J=3.2$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.44 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.79 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.55 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.34 (d,  $J=6.0$  Hz, 2H), 3.54~3.45 (m, 1H), 2.28 (t,  $J=7.5$  Hz, 2H), 1.65~1.52 (m, 2H), 1.36~1.21 (m, 4H), 0.89 (t,  $J=7.0$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 173.43, 168.51, 141.21, 134.72, 127.12, 126.67, 126.30, 124.31, 77.19, 63.43, 47.15, 33.98, 31.23, 24.46, 22.26, 13.87; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NaO}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  331.0975, found 331.0976.

( $\pm$ )-(2*E*)-2-甲基丁-2-烯酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10e**): 无色液体, 产率 36%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.35 (d,  $J=5.1$  Hz, 1H), 7.11 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=4.9$ , 3.7 Hz, 1H), 6.82~6.72 (m, 1H), 6.44 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.81 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.57 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.39 (qd,  $J=11.4$ , 5.9 Hz, 2H), 3.62~3.51 (m, 1H), 1.79 (s, 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.60, 167.49, 141.25, 138.72, 134.86, 127.83, 127.08, 126.65, 126.36, 124.28, 63.80, 47.26, 14.48, 11.93; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NaO}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  315.0662, found 315.0662.

( $\pm$ )-丙-2-烯酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10f**): 无色液体, 产率 70%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.35 (dd,  $J=5.1$ , 1.1 Hz, 1H), 7.11 (d,  $J=3.3$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.45 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 6.38 (dd,  $J=17.3$ , 1.2 Hz, 1H), 6.09 (dd,  $J=17.3$ , 10.5 Hz, 1H), 5.88 (dd,  $J=10.5$ , 1.2 Hz, 1H), 5.81 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.57 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.42 (dd,  $J=6.0$ , 2.9 Hz, 2H), 3.59~3.51 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.48, 165.62, 141.17, 134.63, 132.06, 127.45, 127.13, 126.67, 126.30, 124.46, 77.18, 63.78, 47.12; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{NaO}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  287.0349, found 287.0348.

( $\pm$ )-3-甲基丁-2-烯酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10g**): 无色液体, 产率 32%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.35 (dd,  $J=$

5.1, 1.1 Hz, 1H), 7.11 (d,  $J=3.5$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.43 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.81 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.67~5.61 (m, 1H), 5.57 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.34 (d,  $J=5.9$  Hz, 2H), 3.50 (dq,  $J=8.7$ , 3.0 Hz, 1H), 2.16 (d,  $J=1.0$  Hz, 3H), 1.91 (d,  $J=1.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.68, 166.00, 158.95, 141.39, 134.85, 127.09, 126.54, 126.16, 124.34, 114.91, 77.17, 62.72, 47.26, 27.51, 20.39; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NaO}_4\text{S}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  315.0662, found 315.0666.

(±)-环己-1-烯-1-甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10h**): 无色液体, 产率 69%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.35 (dd,  $J=5.1$ , 1.1 Hz, 1H), 7.11 (d,  $J=3.5$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.92 (dd,  $J=3.8$ , 1.9 Hz, 1H), 6.44 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.81 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.56 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.44~4.33 (m, 2H), 3.58~3.50 (m, 1H), 2.18 (dt,  $J=6.0$ , 2.9 Hz, 4H), 1.69~1.52 (m, 4H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.62, 166.96, 141.28, 134.88, 129.52, 127.08, 126.65, 126.38, 124.26, 77.29, 63.55, 47.26, 25.87, 23.98, 21.93, 21.29; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{NaO}_4\text{S}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  341.0818, found 341.0819.

(±)-环戊-1-烯-1-甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10i**): 无色液体, 产率 93%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.35 (dd,  $J=5.1$ , 1.0 Hz, 1H), 7.11 (d,  $J=3.5$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.77~6.72 (m, 1H), 6.44 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.82 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.57 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.45~4.34 (m, 2H), 3.58~3.48 (m, 1H), 2.55~2.46 (m, 4H), 1.95 (p,  $J=7.7$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.60, 164.71, 145.48, 141.29, 135.57, 134.83, 127.09, 126.63, 126.30, 124.36, 77.30, 63.57, 47.20, 33.49, 31.21, 23.02; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{NaO}_4\text{S}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  327.0662, found 327.0665.

(±)-苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10j**): 无色液体, 产率 45%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.97~7.88 (m, 2H), 7.58 (t,  $J=7.4$  Hz, 1H), 7.43 (t,  $J=7.7$  Hz, 2H), 7.35 (dd,  $J=5.1$ , 1.0 Hz, 1H), 7.14 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.00 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.48 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.87 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.65 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.58 (qd,  $J=11.4$ , 5.9 Hz, 2H), 3.71~3.62 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.52, 166.13, 141.14, 134.75, 133.51, 129.64, 129.17, 128.57, 127.14, 126.74, 126.50, 124.45, 77.35, 64.27, 47.28; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{NaO}_4\text{S}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  337.0505, found 337.0503.

(±)-4-氟苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10k**): 白色固体, 产率 59%. m.p. 111.4~115.4  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.96~7.89 (m, 2H), 7.36 (dd,  $J=5.1$ , 1.1 Hz, 1H), 7.16~7.06 (m, 3H), 7.00 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.48 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.85 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.64 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.58 (ddd,  $J=18.2$ , 11.4, 5.9 Hz, 2H), 3.66 (ttd,  $J=8.0$ , 5.4, 2.6 Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.46, 167.32, 165.15, 164.79, 141.07, 134.69, 132.29, 132.19, 127.15, 126.79, 126.55, 125.41, 125.38, 124.44, 115.90, 115.68, 77.39, 64.47, 47.22; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{FNaO}_4\text{S}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  355.0411, found 355.0415.

(±)-4-三氟甲基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10l**): 白色固体, 产率 73%. m.p. 139.4~139.9  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.01 (d,  $J=8.1$  Hz, 2H), 7.69 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H), 7.37 (dd,  $J=5.0$ , 0.9 Hz, 1H), 7.14 (d,  $J=3.5$  Hz, 1H), 7.00 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.49 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.86 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.65 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.62 (ddd,  $J=18.4$ , 11.4, 6.0 Hz, 2H), 3.69 (ddq,  $J=10.3$ , 5.4, 2.6 Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.37, 164.93, 140.97, 135.10, 134.77, 134.58, 134.45, 132.35, 130.05, 127.19, 126.89, 126.66, 125.66, 125.63, 125.59, 125.55, 124.85, 124.50, 122.14, 77.41, 64.90, 47.11; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{NaO}_4\text{S}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  405.0379, found 405.0381.

(±)-4-甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10m**): 白色固体, 产率 55%. m.p. 139.0~139.8  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.92~7.84 (m, 2H), 7.35 (dd,  $J=5.1$ , 1.1 Hz, 1H), 7.13 (d,  $J=3.5$  Hz, 1H), 7.00 (dd,  $J=5.0$ , 3.6 Hz, 1H), 6.94~6.86 (m, 2H), 6.47 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.86 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.65 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.55 (ddd,  $J=18.1$ , 11.4, 5.9 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.64 (ddq,  $J=10.8$ , 5.4, 2.6 Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.60, 165.86, 163.80, 141.23, 134.82, 131.74, 127.13, 126.70, 126.45, 124.42, 121.50, 113.83, 77.40, 64.03, 55.50, 47.32; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{NaO}_5\text{S}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  367.0611, found 367.0610.

(±)-3-甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10n**): 白色固体, 产率 55%. m.p. 80.8~82.3  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.51 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 7.48~7.44 (m, 1H), 7.38~7.30 (m, 2H), 7.16~7.09 (m, 2H), 7.00 (dd,  $J=5.0$ ,

3.6 Hz, 1H), 6.48 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.87 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.65 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H), 4.57 (ddd,  $J=18.1, 11.4, 5.9$  Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.66 (ddq,  $J=10.6, 5.3, 2.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.54, 166.03, 159.66, 141.17, 134.73, 130.41, 129.61, 127.17, 126.75, 126.47, 124.55, 122.00, 120.04, 114.06, 77.37, 64.53, 55.48, 47.19; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{NaO}_5\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  367.0611, found 367.0612.

(±)-2-甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10o**): 白色固体, 产率 47%. m.p. 101.1~102.7 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.70 (dd,  $J=7.9, 1.6$  Hz, 1H), 7.53~7.46 (m, 1H), 7.35 (dd,  $J=5.1, 1.1$  Hz, 1H), 7.13 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.02~6.93 (m, 3H), 6.47 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.89 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.70 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.55 (qd,  $J=11.5, 5.5$  Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.60 (ddq,  $J=8.3, 5.6, 2.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.72, 166.03, 159.40, 141.34, 134.87, 134.22, 131.92, 127.14, 126.64, 126.33, 124.44, 120.21, 118.83, 112.00, 77.10, 63.79, 55.81, 47.31; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{NaO}_5\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  367.0611, found 367.0612.

(±)-4-三氟甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10p**): 白色固体, 产率 86%. m.p. 99.5~100.7 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.95 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H), 7.36 (d,  $J=5.0$  Hz, 1H), 7.25 (d,  $J=8.9$  Hz, 2H), 7.14 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.00 (dd,  $J=4.9, 3.7$  Hz, 1H), 6.48 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 5.86 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.64 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.60 (ddd,  $J=18.2, 11.4, 5.9$  Hz, 2H), 3.67 (dt,  $J=7.8, 5.4$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.42, 164.94, 153.01, 152.99, 141.02, 134.64, 131.67, 127.48, 127.17, 126.84, 126.62, 124.47, 121.54, 120.38, 118.97, 77.38, 64.65, 47.16; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{NaO}_5\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  421.0328, found 421.0325.

(±)-4-异丙氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10q**): 白色固体, 产率 54%. m.p. 115.0~115.8 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.85 (d,  $J=8.9$  Hz, 2H), 7.35 (d,  $J=5.0$  Hz, 1H), 7.13 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.03~6.97 (m, 1H), 6.87 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H), 6.47 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 5.86 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.65 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.68~4.60 (m, 1H), 4.54 (ddd,  $J=18.0, 11.4, 5.9$  Hz, 2H), 3.68~3.59 (m, 1H), 1.36 (d,  $J=6.0$  Hz, 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.62, 165.89, 162.31, 141.24, 134.83, 131.76, 127.13, 126.69, 126.45, 124.41, 120.96, 115.18, 77.38, 70.15,

63.94, 47.34, 21.89; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NaO}_5\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  395.0924, found 395.0924.

(±)-4-甲氧基苯乙酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10r**): 无色液体, 产率 69%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.34 (dd,  $J=5.0, 1.2$  Hz, 1H), 7.12 (d,  $J=8.7$  Hz, 2H), 7.00 (dt,  $J=4.9, 3.3$  Hz, 2H), 6.87~6.81 (m, 2H), 6.37 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.68 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.46 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.32 (d,  $J=5.8$  Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.53 (s, 2H), 3.49~3.42 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 171.48, 168.45, 158.92, 141.13, 134.48, 130.27, 127.13, 126.67, 126.32, 125.34, 124.47, 114.15, 77.03, 63.86, 55.30, 47.06, 40.28; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{NaO}_5\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  381.0767, found 381.0767.

(±)-2,4-二甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10s**): 白色固体, 产率 57%. m.p. 105.3~107.0 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.75 (d,  $J=8.9$  Hz, 1H), 7.34 (dd,  $J=5.1, 1.1$  Hz, 1H), 7.13 (d,  $J=3.3$  Hz, 1H), 7.00 (dd,  $J=5.0, 3.6$  Hz, 1H), 6.50~6.45 (m, 3H), 5.87 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.69 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.57~4.47 (m, 2H), 3.85 (s, 6H), 3.59 (dq,  $J=8.2, 2.8$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.77, 165.38, 164.81, 161.63, 141.46, 135.00, 134.10, 127.11, 126.57, 126.24, 124.33, 111.13, 104.77, 98.91, 77.19, 63.59, 55.81, 55.55, 47.34; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{NaO}_6\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  397.0716, found 397.0720.

(±)-3,4-二甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10t**): 白色固体, 产率 42%. m.p. 150.0~151.2 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.56 (d,  $J=8.4$  Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.35 (d,  $J=4.9$  Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.00 (t,  $J=4.0$  Hz, 1H), 6.87 (d,  $J=8.4$  Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 5.66 (d,  $J=5.2$  Hz, 1H), 4.56 (ddd,  $J=18.0, 11.3, 5.9$  Hz, 2H), 3.92 (d,  $J=15.4$  Hz, 6H), 3.65 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.60, 165.90, 153.46, 148.76, 141.32, 134.82, 127.16, 126.68, 126.36, 124.51, 123.78, 121.56, 111.90, 110.36, 77.47, 64.56, 56.04, 56.08, 47.18; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{NaO}_6\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  397.0716, found 397.0718.

(±)-3,4,5-三甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10u**): 白色固体, 产率 83%. m.p. 139.6~142.1 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.35 (d,  $J=4.7$  Hz, 1H), 7.20 (s, 2H), 7.13 (d,  $J=3.2$  Hz, 1H), 7.02~6.97 (m, 1H), 6.49 (d,  $J=$

2.3 Hz, 1H), 5.88 (d,  $J=1.9$  Hz, 1H), 5.67 (d,  $J=4.9$  Hz, 1H), 4.57 (ddd,  $J=18.0, 11.3, 5.8$  Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.87 (s, 6H), 3.67 (dd,  $J=4.3, 2.1$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.54, 165.77, 153.04, 142.71, 141.39, 134.79, 127.19, 126.67, 126.26, 124.62, 124.01, 106.86, 77.56, 65.28, 60.94, 56.27, 46.98; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NaO}_7\text{S}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  427.0822, found 427.0824.

(±)-苯并[*d*][1,3]二氧杂环戊烷-5-甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10v**): 白色固体, 产率 43%. m.p. 131.7~133.5 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.52 (dd,  $J=8.2, 1.6$  Hz, 1H), 7.36 (d,  $J=5.0$  Hz, 1H), 7.31 (d,  $J=1.5$  Hz, 1H), 7.13 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=4.9, 3.7$  Hz, 1H), 6.82 (d,  $J=8.2$  Hz, 1H), 6.47 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 6.04 (s, 2H), 5.85 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.63 (d,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.54 (ddd,  $J=18.2, 11.4, 6.0$  Hz, 2H), 3.64 (ddq,  $J=10.8, 5.4, 2.6$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.53, 165.46, 152.11, 147.88, 141.14, 134.75, 127.15, 126.76, 126.53, 125.62, 124.42, 123.05, 109.41, 108.14, 101.96, 77.40, 64.21, 47.28; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{NaO}_6\text{S}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  381.0403, found 381.0405.

(±)-苯并[*b*]呋喃-5-甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10w**): 白色固体, 产率 46%. m.p. 159.5~162.0 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.19 (d,  $J=1.2$  Hz, 1H), 7.90 (dd,  $J=8.7, 1.5$  Hz, 1H), 7.70 (d,  $J=2.1$  Hz, 1H), 7.52 (d,  $J=8.7$  Hz, 1H), 7.36 (d,  $J=5.0$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=4.9, 3.7$  Hz, 1H), 6.84 (d,  $J=1.5$  Hz, 1H), 6.49 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.88 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.68 (d,  $J=5.8$  Hz, 1H), 4.61 (ddd,  $J=18.1, 11.4, 5.9$  Hz, 2H), 3.73~3.64 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.57, 166.30, 157.73, 146.49, 141.17, 134.80, 127.60, 127.15, 126.67 (d,  $J=18.7$  Hz), 126.05, 124.41, 124.12, 123.90, 111.53, 107.14, 77.44, 64.24, 47.32; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaO}_5\text{S}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  377.0454, found 377.0452.

(±)-苯并[*b*]噻吩-5-甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**10x**): 白色固体, 产率 29%. m.p. 139.8~141.6 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.36 (s, 1H), 7.88 (dt,  $J=8.5, 5.0$  Hz, 2H), 7.54 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H), 7.45~7.33 (m, 2H), 7.16 (d,  $J=3.5$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0, 3.6$  Hz, 1H), 6.50 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 5.88 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.69 (d,  $J=5.8$  Hz, 1H), 4.62 (ddd,  $J=18.3, 11.4, 6.0$  Hz, 2H), 3.74~3.66 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.55, 166.44, 144.70,

141.16, 139.37, 134.77, 128.02, 127.16, 126.79, 126.62, 125.65, 125.38, 124.49, 124.43, 122.60, 77.50, 64.35, 47.30; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaO}_4\text{S}_2$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  393.0226, found 393.0227.

### 3.2.7 中间体 **11** 的合成

向 **6b** (55 mg, 0.24 mmol) 的甲醇 (5 mL) 溶液中加入  $\text{NaBH}_4$  (13.5 mg, 0.36 mmol), 室温下搅拌 2 h, 饱和氯化铵溶液淬灭, 二氯甲烷萃取, 合并有机相, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化 [ $V$ (石油醚):  $V$ (乙酸乙酯)=2:1] 得到 (±)-(4*R*,5*S*)-4-(羟基甲基)-3-甲基-5-(噻吩-2-基)四氢呋喃-2-酮(**11**), 无色液体, 产率 69%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.36 (d,  $J=5.0$  Hz, 1H), 7.14 (d,  $J=3.0$  Hz, 1H), 7.01 (t,  $J=4.2$  Hz, 1H), 5.53 (d,  $J=9.8$  Hz, 1H), 3.87~3.73 (m, 2H), 2.87 (dq,  $J=14.1, 7.0$  Hz, 1H), 2.32 (dt,  $J=13.5, 3.5$  Hz, 1H), 1.87 (s, 1H), 1.34 (d,  $J=7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 178.19, 140.43, 127.06, 127.05, 126.62, 58.72, 54.34, 37.24, 13.69; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{NaO}_3\text{S}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  235.0399, found 235.0401.

### 3.2.8 目标产物 **12** 的合成

将 **11** (19 mg, 0.09 mmol)、酸(0.14 mmol)、EDCI (27 mg, 0.14 mmol) 和 DMAP (1.0 mg, 0.01 mmol) 溶于二氯甲烷(1 mL), 室温搅拌过夜. 加水淬灭, 二氯甲烷萃取 (5 mL  $\times$  3), 合并有机相, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化 [ $V$ (石油醚):  $V$ (乙酸乙酯)=5:1] 得到目标产物 **12**.

(±)-(2*Z*)-2-甲基丁-2-烯酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**12a**): 无色液体, 产率 32%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.37 (dd,  $J=5.1, 0.7$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J=3.0$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0, 3.6$  Hz, 1H), 6.12 (qd,  $J=7.2, 1.4$  Hz, 1H), 5.41 (d,  $J=9.7$  Hz, 1H), 4.32 (ddd,  $J=30.2, 12.0, 4.5$  Hz, 2H), 2.70 (dq,  $J=11.6, 7.0$  Hz, 1H), 2.61~2.49 (m, 1H), 1.98 (dd,  $J=7.3, 1.5$  Hz, 3H), 1.85~1.78 (m, 3H), 1.39 (d,  $J=7.0$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 176.94, 167.20, 139.99, 139.79, 127.25, 127.05, 126.91, 126.85, 77.18, 60.77, 51.86, 38.51, 20.40, 15.89, 13.86; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NaO}_4\text{S}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  317.0818, found 317.0815.

(±)-4-甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**12b**): 白色固体, 产率 73%. m.p. 133.7~135.1 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.86~7.81 (m, 2H), 7.37 (d,  $J=5.1$  Hz, 1H), 7.17 (d,  $J=3.4$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=5.0, 3.6$  Hz, 1H),

6.91 (t,  $J=5.8$  Hz, 2H), 5.48 (d,  $J=9.7$  Hz, 1H), 4.47 (d,  $J=4.7$  Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.82~2.72 (m, 1H), 2.70~2.59 (m, 1H), 1.42 (d,  $J=6.9$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 176.96, 165.81, 163.77, 139.86, 131.69, 127.43, 127.05, 126.87, 121.54, 113.80, 77.32, 61.60, 55.51, 52.01, 38.62, 13.94; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{NaO}_5\text{S}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  369.0767, found 369.0769.

### 3.2.9 目标产物 13 的合成

向 **6b** (30 mg, 0.14 mmol)的二氯甲烷(1 mL)溶液中依次加入对甲氧基苄基三氯乙酰亚胺酯(60 mg, 0.21 mmol)、10-樟脑磺酸(3.0 mg, 0.014 mmol), 室温下搅拌 15 h, 质量分数为 10%的碳酸氢钠溶液(5 mL)淬灭, 二氯甲烷萃取(5 mL $\times$ 3), 合并有机相, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化[ $V$ (石油醚): $V$ (乙酸乙酯)=5:1]得到目标产物(±)-(4*R*,5*S*)-4-({[(4-甲氧基苄基)甲基]氧基}甲基)-3-甲亚基-5-(噻吩-2-基)四氢呋喃-2-酮(**13**), 无色液体, 产率 70%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.32 (dd,  $J=5.0, 1.2$  Hz, 1H), 7.22 (t,  $J=5.7$  Hz, 2H), 7.05 (d,  $J=3.3$  Hz, 1H), 6.98 (dd,  $J=5.0, 3.6$  Hz, 1H), 6.91~6.85 (m, 2H), 6.36 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 5.73 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 5.56 (d,  $J=5.2$  Hz, 1H), 4.53~4.43 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.63 (d,  $J=6.2$  Hz, 2H), 3.43~3.34 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 169.15, 159.45, 142.04, 135.57, 129.49, 129.37, 127.03, 126.26, 125.94, 123.80, 113.93, 77.33, 73.05, 69.85, 55.31, 48.18; HRMS (ESI positive) calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{NaO}_4\text{S}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  353.0818, found 353.0816.

### 3.2.10 终产物 19 的合成

中间体 **14** 的制备: 向 **5b** (660 mg, 3.14 mmol)的甲醇(20 mL)溶液中加入碳酸钾(87 mg, 0.63 mmol), 室温搅拌 6 h, 减压旋去甲醇, 加入乙酸乙酯溶解残余物, 依次用水、饱和食饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化[ $V$ (石油醚): $V$ (乙酸乙酯)=3:1], 得到目标中间体(±)-(4*R*,5*S*)-4-(羟基甲基)-3-(甲氧基甲基)-5-(噻吩-2-基)四氢呋喃-2-酮(**14**), 无色油状液体, 250 mg, 收率 33%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.39 (d,  $J=4.8$  Hz, 1H), 7.17 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 7.08~6.98 (m, 1H), 5.41 (d,  $J=9.4$  Hz, 1H), 3.76 (d,  $J=4.5$  Hz, 2H), 3.73~3.53 (m, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.01~2.91 (m, 1H), 2.91~2.76 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 174.59, 139.93, 127.32, 127.04, 126.90, 76.70, 70.61, 60.84, 59.31, 51.87, 45.79.

中间体 **15** 的制备: 向 **14** (135 mg, 0.56 mmol)的二氯甲烷(3 mL)中依次加入对甲苯磺酰氯(127 mg, 0.67 mmol)、三乙胺(0.12 mL, 0.84 mmol), 室温搅拌过夜. 加

水淬灭, 二氯甲烷萃取(5 mL $\times$ 3), 合并有机相, 依次用水、饱和食饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化[ $V$ (石油醚): $V$ (乙酸乙酯)=20:1], 得到目标中间体(±)-4-甲基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-(甲氧基甲基)-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**15**), 无色油状液体, 140 mg, 收率 63%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.76 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H), 7.40~7.31 (m, 3H), 7.01~6.93 (m, 2H), 5.39 (d,  $J=8.7$  Hz, 1H), 4.26~4.09 (m, 2H), 3.75~3.55 (m, 2H), 3.31 (s, 3H), 2.96~2.82 (m, 2H), 2.46 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 174.00, 145.50, 139.32, 132.20, 130.11, 127.99, 127.42, 127.03, 75.97, 68.85, 65.94, 59.21, 46.67, 43.00, 21.70.

中间体 **18** 的制备: 向 **15** (140 mg, 0.35 mmol)的 DMF (2 mL)溶液中加入叠氮化钠(46 mg, 0.71 mmol), 55  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 5 h, 冷却至室温, 乙酸乙酯稀释, 依次用质量分数为 10%的碳酸钠溶液、水、饱和食饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 将残余物溶于四氢呋喃(5 mL), 加入三苯基膦(176 mg, 0.67 mmol)和水(1 mL), 55  $^{\circ}\text{C}$  搅拌过夜, 乙酸乙酯萃取(5 mL $\times$ 3), 合并有机相, 依次用水、饱和食饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化[ $V$ (二氯甲烷): $V$ (甲醇)=20:1], 得到目标中间体(±)-(4*R*,5*S*)-4-(氨基甲基)-3-(甲氧基甲基)-5-(噻吩-2-基)四氢呋喃-2-酮(**17**), 无色油状液体, 52 mg, 收率 64%. 将 **17** (20 mg, 0.08 mmol)、对甲氧基苯甲酸 (25 mg, 0.17 mmol)、EDCI (33 mg, 0.17 mmol)、1-羟基苯并三唑 (HOBt) (22 mg, 0.17 mmol)和 *N,N*-二异丙基乙胺 (DIPEA) (43  $\mu\text{L}$ , 0.25 mmol)溶于二氯甲烷(1 mL), 室温搅拌过夜. 加水淬灭, 二氯甲烷萃取(5 mL $\times$ 3), 合并有机相, 依次用水、饱和食饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化[ $V$ (石油醚): $V$ (乙酸乙酯)=7:1], 得到目标中间体(±)-*N*-{[(2*S*,3*R*)-4-(甲氧基甲基)-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基}-4-甲氧基苯甲酰胺(**18**), 无色油状液体, 26 mg, 收率 84%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.64 (d,  $J=8.7$  Hz, 2H), 7.36 (d,  $J=4.8$  Hz, 1H), 7.23 (d,  $J=2.6$  Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.00 (dd,  $J=4.8, 3.6$  Hz, 1H), 6.89 (d,  $J=8.7$  Hz, 2H), 5.37 (d,  $J=9.5$  Hz, 1H), 3.97~3.85 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.67 (t,  $J=8.7$  Hz, 1H), 3.49~3.39 (m, 4H), 2.97~2.72 (m, 2H).

目标产物 **19** 的合成: 将 **18** (25 mg, 0.06 mmol)溶于甲苯(2 mL), 加入 DBU (20  $\mu\text{L}$ , 0.13 mmol), 回流 6 h, 加入稀盐酸淬灭, 乙酸乙酯萃取(5 mL $\times$ 3), 合并有机相, 依次用水、饱和食饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干

燥, 过滤, 减压浓缩. 残余物柱层析纯化[*V*(石油醚):*V*(乙酸乙酯)=5:1], 得到目标产物(±)-4-甲氧基苯甲酸-[(2*S*,3*R*)-4-甲亚基-5-氧亚基-2-(噻吩-2-基)四氢呋喃-3-基]甲基酯(**19**), 白色固体, 产率 65%. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.61 (dd, *J*=9.3, 2.4 Hz, 2H), 7.32 (dd, *J*=5.1, 0.9 Hz, 1H), 7.13 (d, *J*=3.4 Hz, 1H), 6.97 (dd, *J*=5.0, 3.6 Hz, 1H), 6.90 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 6.44 (d, *J*=2.7 Hz, 1H), 6.29 (s, 1H), 5.79 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 5.58 (d, *J*=5.3 Hz, 1H), 3.90~3.81 (m, 4H), 3.77~3.69 (m, 1H), 3.63~3.55 (m, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 168.84, 167.50, 162.54, 141.33, 136.05, 128.67, 127.18, 126.76, 126.69, 125.90, 123.83, 113.91, 78.23, 55.46, 47.87, 41.44; HRMS (ESI positive) calcd for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N- NaO<sub>4</sub>S [M+Na]<sup>+</sup> 344.0951, found 344.0949.

### 3.3 生物活性评价

表达有 GPR52 的 HEK293 细胞系用 DMEM(含体积分数为 10% 的 FBS)培养基在 37 °C, 体积分数为 5% 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h 后使用胰酶消化细胞, 用 DMEM(含质量分数为 0.1% 的 BSA)重悬细胞并计数, 调整细胞密度为 4×10<sup>5</sup> 个/mL, 加入终浓度 500 nmol/L 的 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMx).

待测 GPR52 拮抗剂用 DMSO 溶解后, 梯度稀释配成不同浓度的工作液. GPR52 激动剂 WO-459 用 DMEM(含质量分数为 0.1% 的 BSA)配成 300 nmol/L 溶液.

在 384 孔板中每孔加入 5 μL HEK293 细胞悬液, 以及 5 μL 拮抗剂, 37 °C 孵育 15 min 后, 再加入 5 μL 对应的激动剂 WO-459(按照专利 EP2518054A1 方法制备), 37 °C 刺激 30 min. 每孔加入 10 μL 检测底物(Perkin-Elmer, TRF0264), 室温避光孵育 1 h 后, 采用 Envision 酶标仪读数, 实验数据使用 Graphpad 8 处理, 计算化合物拮抗活性的 IC<sub>50</sub> 值.

**辅助材料(Supporting Information)** 化合物 **5a~5d**、**6a~6d**、**7a~7d**、**8a~8d**、**10a~10x**、**11**、**12a~12b** 及 **13~19** 的 <sup>1</sup>H NMR 和 <sup>13</sup>C 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] The Huntington's Disease Collaborative Research Group *Cell* **1993**, 72, 971.
- [2] Richfield, E. K.; Maguire-Zeiss, K. A.; Vonkeman, H. E.; Voorn, P. *Ann. Neurol.* **1995**, 38, 852.
- [3] Harper, S. Q.; Staber, P. D.; He, X.; Eliason, S. L.; Martins, I. H.; Mao, Q.; Yang, L.; Kotin, R. M.; Paulson, H. L.; Davidson, B. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, 102, 5820.
- [4] Rodriguez-Lebron, E.; Denovan-Wright, E. M.; Nash, K.; Lewin, A. S.; Mandel, R. J. *Mol. Ther.* **2005**, 12, 618.
- [5] DiFiglia, M.; Sena-Esteves, M.; Chase, K.; Sapp, E.; Pfister, E.; Sass, M.; Yoder, J.; Reeves, P.; Pandey, R. K.; Rajeev, K. G.; Manoharan, M.; Sah, D. W.; Zamore, P. D.; Aronin, N. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2007**, 104, 17204.
- [6] Kordasiewicz, H. B.; Stanek, L. M.; Wancewicz, E. V.; Mazur, C.; McAlonis, M. M.; Pytel, K. A.; Artates, J. W.; Weiss, A.; Cheng, S. H.; Shihabuddin, L. S.; Hung, G.; Bennett, C. F.; Cleveland, D. W. *Neuron* **2012**, 74, 1031.
- [7] Caron, N. S.; Dorsey, E. R.; Hayden, M. R. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2018**, 17, 729.
- [8] Wang, N.; Gray, M.; Lu, X.-H.; Cattle, J. P.; Holley, S. M.; Greiner, E.; Gu, X.-F.; Shirasaki, D.; Cepeda, C.; Li, Y.-Q.; Dong, H.-W.; Levine, M. S.; Yang, X. W. *Nat. Med.* **2014**, 20, 536.
- [9] Li, Z.-Y.; Wang, C.; Wang, Z.-Y.; Zhu, C.-G.; Li, J.; Sha, T.; Ma, L.-X.; Gao, C.; Yang, Y.; Sun, Y.-M.; Wang, J.; Sun, X.-L.; Lu, C.-Q.; DiFiglia, M.; Mei, Y.-A.; Ding, C.; Luo, S.-Q.; Dang, Y.-J.; Ding, Y.; Fei, Y.-Y.; Lu, B.-X. *Nature* **2019**, 575, 203.
- [10] Baldo, B.; Weiss, A.; Parker, C. N.; Bibbel, M.; Paganetti, P.; Kaupmann, K. *J. Biol. Chem.* **2012**, 287, 1406.
- [11] Zhang, S.; Binari, R.; Zhou, R.; Perrimon, N. *Genetics* **2010**, 184, 1165.
- [12] Yao, Y.-W.; Cui, X.-T.; Al-Ramahi, I.; Sun, X.-L.; Li, B.; Hou, J.-P.; DiFiglia, M.; Palacino, J.; Wu, Z.-Y.; Ma, L.-X.; Botas, J.; Lu, B.-X. *Elife* **2015**, 4, e05449.
- [13] Song, H.-K.; Li, H.-X.; Guo, S.-M.; Pan, Y.-Y.; Fu, Y.-H.; Zhou, Z.-J.; Li, Z.-Y.; Wen, X.; Sun, X.-L.; He, B.-Q.; Gu, H.-F.; Zhao, Q.; Wang, C.; An, P.; Luo, S.-Q.; Hu, Y.-H.; Xie, X.; Lu, B.-X. *Brain* **2018**, 141, 1782.
- [14] Wang, C.-C.; Zhang, Y.-F.; Guo, S.-M.; Zhao, Q.; Zeng, Y.-P.; Xie, Z.-C.; Xie, X.; Lu, B.-X.; Hu, Y.-H. *J. Med. Chem.* **2021**, 64, 941.
- [15] Ma, M.-N.; Guo, S.-M.; Lin, X.; Li, S.-S.; Wu, Y.-R.; Zeng, Y.-P.; Hu, Y.-H.; Zhao, S.-W.; Xu, F.; Xie, X.; Shui, W.-Q. *ACS Chem. Biol.* **2020**, 15, 3275.
- [16] Lagoutte, R.; Serba, C.; Abegg, D.; Hoch, D. G.; Adibekian, A.; Winssinger, N. *Nat. Commun.* **2016**, 7, 12470.
- [17] Lin, X.; Li, M.-Y.; Wang, N.-D.; Wu, Y.-R.; Luo, Z.-P.; Guo, S.-M.; Han, G.-W.; Li, S.-B.; Yue, Y.; Wei, X.-H.; Xie, X.; Chen, Y.; Zhao, S.-W.; Wu, J.; Lei, M.; Xu, F. *Nature* **2020**, 579, 152.

(Cheng, F.)