

基于 NYX-2925 *L*-脯氨酸衍生的 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸(NMDA)受体部分激动剂的设计、合成和活性研究

吴游金^{†,a,b} 金正盛^{†,b} 刘咏嘉^{b,c,d} 黄文倩^{b,c,d} 赵桂龙^{*,a,b,c,d}

(^a 遵义医科大学药学院 贵州遵义 563003)

(^b 中科中山药物创新研究院 广东中山 528400)

(^c 中国科学院上海药物研究所 上海 201203)

(^d 中国科学院大学 北京 100049)

摘要 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸(NMDA)受体属于配体门控离子型谷氨酸受体家族,是中枢神经系统中一种重要的兴奋性受体,与神经病理性疼痛、学习、记忆等密切相关. NYX-2925 是一种新型的具有螺环 β -内酰胺结构的二肽拟肽类 NMDA 受体部分激动剂先导化合物. 本研究以 NYX-2925 的结构为基础,对其分子中 *L*-脯氨酸片段进行了 β -内酰胺环的开环衍生,设计并合成了 3 类共 10 个衍生物,所合成的化合物使用 ¹H NMR、¹³C NMR、¹⁹F NMR 和高分辨质谱(HRMS)进行了结构表征,并使用全细胞膜片钳技术测试了它们对人 NMDA 受体的激动效应. 结果显示,大部分化合物对人 NR1/NR2B NMDA 受体均未表现出明显的激动作用,其中(*R*)-*N*-[(2*S*,3*R*)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基]-1-异丁酰基-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺(**1g**)显示出一定的拮抗作用,说明 NYX-2925 独特的螺环 β -内酰胺二肽拟肽结构不是设计 NMDA 受体部分激动剂的理想先导结构,这一发现对未来基于 NYX-2925 这一独特结构的 NMDA 受体调节剂的研究方向具有重要的参考价值.

关键词 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸(NMDA)受体; 部分激动剂; NYX-2925; 合成; 生物活性

Design, Synthesis and Bioactivity of NYX-2925 *L*-Proline Derivatives as *N*-Methyl-*D*-aspartate (NMDA) Receptor Partial Agonists

Wu, Youjin^{†,a,b} Jin, Zhengsheng^{†,b} Liu, Yongjia^{b,c,d}

Huang, Wenqian^{b,c,d} Zhao, Guilong^{*,a,b,c,d}

(^a School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563003)

(^b Zhongshan Institute for Drug Discovery, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Zhongshan, Guangdong 528400)

(^c Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203)

(^d University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

Abstract *N*-Methyl-*D*-aspartate (NMDA) receptors belong to a family of ligand-gated ionotropic glutamate receptors and represent an important class of excitatory receptors in central nervous system, which are critical for neuropathic pain, learning and memory. NYX-2925 is a lead compound of NMDA receptor partial agonist which is essentially a dipeptide mimetic with a novel spirocyclic β -lactam functionality. In the present study, 10 novel derivatives of three different classes were designed based on NYX-2925 by a ring-opening strategy of the spirocyclic β -lactam and synthesized. All these compounds were characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹⁹F NMR and high-resolution mass spectrometry (HRMS), and subjected to an *in vitro* assay of their effect on human NR1/NR2B NMDA receptor current determined by whole-cell manual patch-clamp technique. The preliminary results indicated that both NYX-2925 and the synthesized 10 compounds displayed no significant effects on

* Corresponding author. E-mail: zhao_guilong@126.com

Received October 14, 2023; revised November 15, 2023; published online December 15, 2023.

Project supported by the Zhongshan Municipal Natural Science Foundation (Nos. 200805173640573, 210730214049987), the Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (Nos. 2021A1515010197, 2023A1515012259), and the Creative Research Group of Zhongshan City (No. CXTD2022011). 中山市自然科学基金(Nos. 200805173640573, 210730214049987)、广东省基础与应用基础研究基金(Nos. 2021A1515010197, 2023A1515012259)和中山市引进创新科研团队(No. CXTD2022011)资助项目.

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

NMDA receptor except (*R*)-*N*-((2*S*,3*R*)-1-amino-3-hydroxy-1-oxobutan-2-yl)-2-benzyl-1-isobutylpyrrolidine-2-carboxamide (**1g**) displayed a moderate antagonistic effect, suggesting that the unique structure of NYX-2925 is not a preferred lead structure for the design of NMDA receptor partial agonists. The findings revealed in the present study should be valuable for the future design of NMDA receptor modulators based on the novel structure of dipeptide mimetic with a novel spirocyclic β -lactam represented by NYX-2925.

Keywords *N*-methyl-*D*-aspartate (NMDA) receptor; partial agonist; NYX-2925; synthesis; bioactivity

神经病理性疼痛(neuropathic pain)是由各种原因导致的神经损伤所引起的疼痛,它属于一种慢性疼痛,临床主要表现为自发性疼痛、痛觉过敏、痛觉超敏和感觉异常等^[1-2]。神经病理性疼痛常见的疾病有糖尿病周围神经痛、带状疱疹后神经痛、三叉神经痛、脊髓损伤性疼痛、创伤后神经痛和术后神经痛等^[3]。我国目前约有9000多万名神经病理性疼痛患者,现有药物对其治疗效果不佳且有较多不良反应^[4]。长期的疼痛会影响患者心理健康,导致生活质量下降,甚至会增加抑郁和焦虑等的发病率。因此,对于神经病理性疼痛的治疗药物需求日益增长。

N-甲基-*D*-天冬氨酸(NMDA)受体是离子型谷氨酸受体家族的一员,主要分布在中枢神经系统,对调节神经可塑性、学习和记忆起着关键作用。谷氨酸是中枢神经系统中最重要的兴奋性神经递质^[5-6],在病理状态下,NMDA受体过度激活会引发胞外大量 Ca^{2+} 内流,引起 excitotoxicity、wind-up 现象和中枢敏化^[7],从而导致神经病理性疼痛等一系列反应。NMDA受体拮抗剂(antagonist)的镇痛作用已经被大量的动物实验和临床研究证实,目前临床(标签外)在用的靶向NMDA受体的神经病理性疼痛镇痛药物包括NMDA受体离子通道拮抗剂氯胺酮(ketamine)和美金刚(memantine),以及

NMDA受体甘氨酸位点部分激动剂 *D*-环丝氨酸(*D*-cycloserine)等^[8-10],但NMDA受体拮抗剂的应用是一把双刃剑,如氯胺酮可拮抗谷氨酸与NMDA受体结合,从而抑制兴奋性突触后电位的产生和伤害性刺激的传入而发挥镇痛作用,但会产生记忆损害、致幻、致精神分裂及成瘾性等严重不良反应。NMDA受体拮抗剂的这种现象的本质为:NMDA拮抗剂尤其是作用于孔道的拮抗剂,能完全阻断NMDA受体的信号传导,既阻断了病理状态下NMDA受体的过度激活,又阻断了为维持正常的生理需要而必需的NMDA受体的信号传导,所以导致诸多的不良反应。NMDA受体的部分激动剂(partial agonist)有望克服拮抗剂的上述缺陷:既能阻断病理状态下NMDA受体的过度激活,又能保留维持正常的生理需要而必需的NMDA受体的信号传导^[11]。研究发现,NMDA受体甘氨酸位点部分激动剂,如 *D*-环丝氨酸和 GLYX-13 均具有一定的镇痛作用,但 *D*-环丝氨酸只显示了中弱程度的镇痛作用^[12],GLYX-13的镇痛作用有进一步的提升(图1, Part A)^[13]。NYX-2925 是 Aptinyx 公司开发的处于临床阶段的新一代非阿片类口服的镇痛药物,是一种小分子NMDA受体部分激动剂,目前处于II期临床试验阶段。NYX-2925是基于GLYX-13的四肽结构简化而来的二肽拟肽化合物,具有独特的螺环 β -

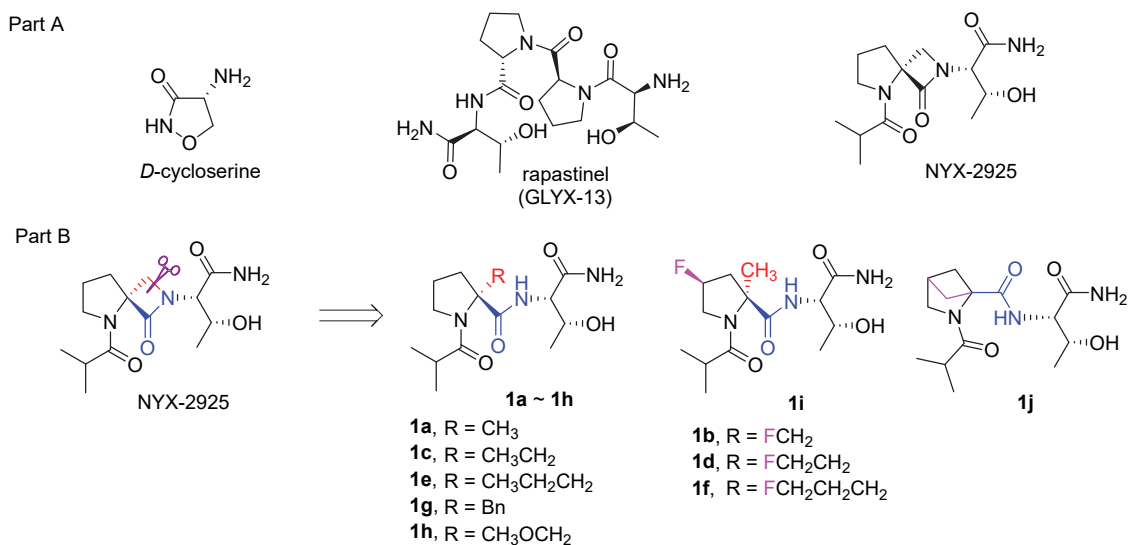


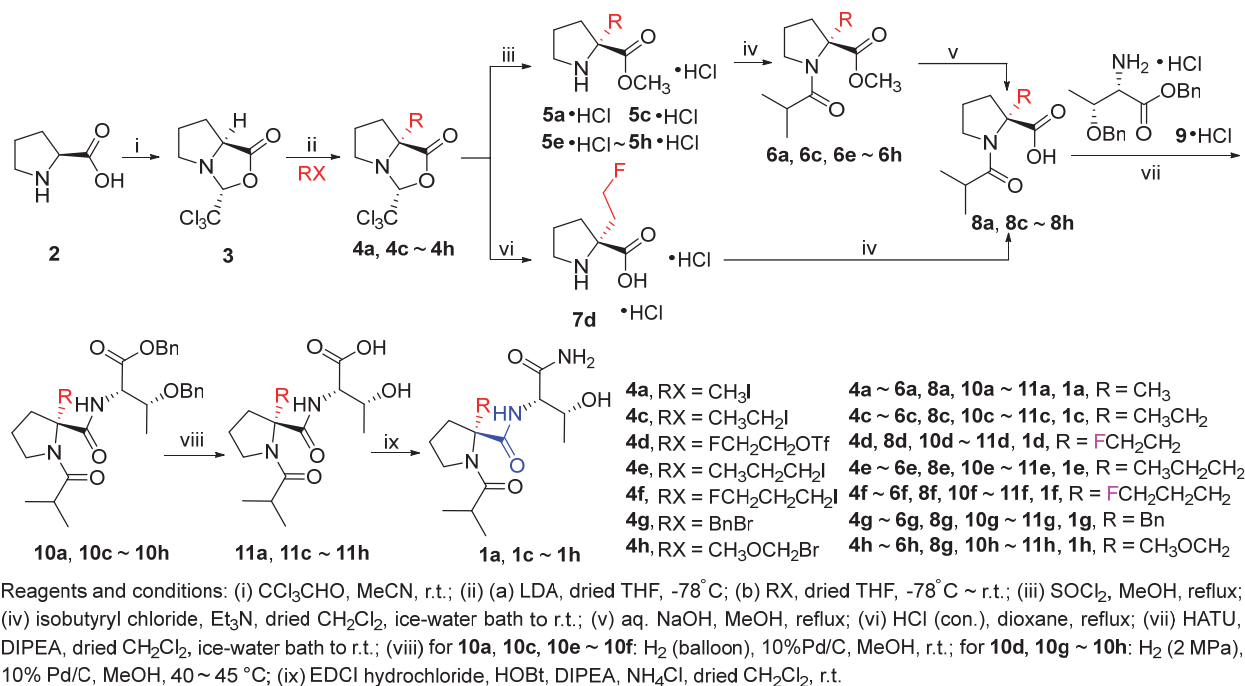
图1 代表性NMDA受体部分激动剂的结构(Part A)和本研究基于NYX-2925设计的NMDA受体部分激动剂的结构(Part B)
Figure 1 Structures of selected NMDA receptor partial agonists (Part A) and design of NMDA receptor partial agonists based on NYX-2925 in the present study (Part B)

内酰胺的二肽拟肽结构, 这种非天然氨基酸结构可以保证其不被蛋白水解酶快速代谢, 其 NMDA 受体的部分激动作用能在阻断病理状态下 NMDA 受体的过度激活的同时保留维持正常的生理需要而必需的 NMDA 受体的信号传导, 从而达到实现镇痛效果同时减少传统 NMDA 受体拮抗剂不良反应的目的^[14]. 本研究的目的是以 NYX-2925 为先导结构, 对其分子中的 *L*-脯氨酸片段进行衍生, 将 β -内酰胺四元环开环后在 *L*-脯氨酸羧基 α 位更换不同的取代基(其中包含一系列含氟取代的化合物, **1a**~**1h**)、*L*-脯氨酸环上引入氟原子(**1i**)以及将 *L*-脯氨酸环的 1-位和 3-位使用 CH_2 作为连接子连接后获得二环桥环衍生物(**1j**), 共设计和合成了 10 个化合物(图 1, Part B), 新分子的设计兼顾了以下思路: 尽可能使其保持与 NYX-2925 构象一致; *L*-脯氨酸羧基的 α -位保持有取代基以使其为非天然氨基酸结构, 从而不被蛋白水解酶代谢^[15]; 在部分新结构中引入易使分子透过血脑屏障的 F 原子^[16]. 这些新设计的分子连同 NYX-2925 本身可以用来探索 NYX-2925 分子中独特的螺环 β -内酰胺结构, 以及在开环衍生后对 NMDA 受体作用的变化, 从而进一步探究这些结构变化对 NMDA 受体活性影响的科学规律.

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

目标化合物 **1a** 和 **1c**~**1h** 的合成路线见 Scheme 1.



图式 1 设计的目标化合物 **1a** 和 **1c**~**1h** 的合成路线
Scheme 1 Synthetic route to target compounds **1a** and **1c**~**1h**

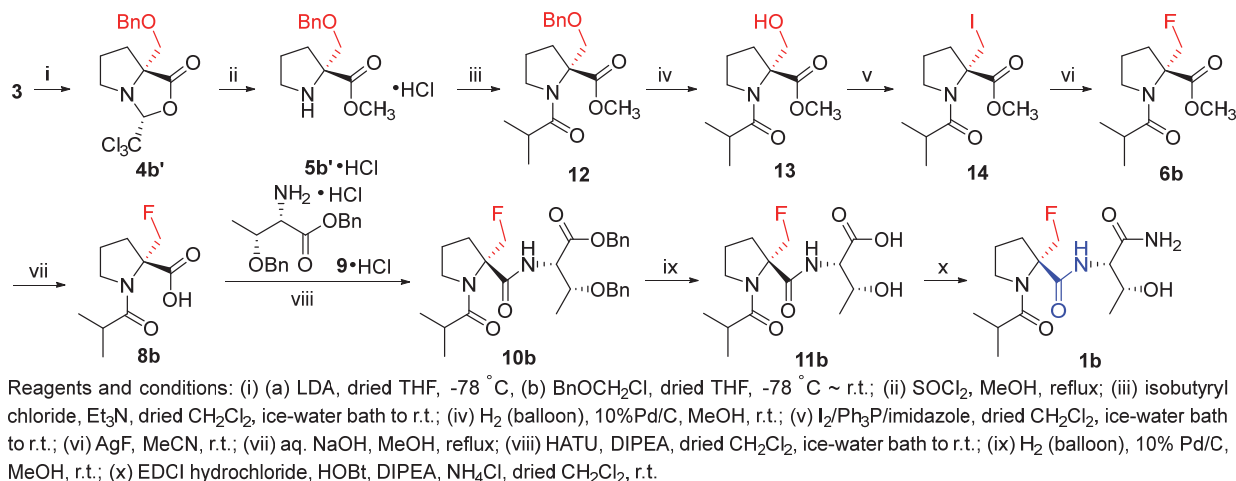
起始原料 *L*-脯氨酸(**2**)与三氯乙醛在乙腈中室温下反应, 顺利得到手性双环化合物**3**^[17]. 化合物**3**在 -78°C 下用二异丙基氢锂(LDA)将羧基 α 位去质子, 而后与烷基化试剂 RX 发生立体选择性烷基化反应得到 **4a** 和 **4c**~**4h**^[18]. 值得指出的是, 在合成 **4d** (R= $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$)时, 由于 F 原子的影响, 烷基化试剂无法用对应的碘化物来进行反应; 经过对烷基化剂离去基团的大量筛选, 最终确定了活性高的三氟甲磺酸酯(OTf)基团. 将化合物 **4a**, **4c** 和 **4e**~**4h** 在 HCl/MeOH(由 SOCl_2 溶于 MeOH 原位制得)体系中回流, 将三氯乙醛片段水解除去同时将羧基甲酯化得到脯氨酸甲酯盐酸盐 **5a**•HCl, **5c**•HCl 和 **5e**•HCl~**5h**•HCl, 后者在二氯甲烷中三乙胺作为碱的条件下与异丁酰氯发生酰胺化反应, 得到 *N*-异丁酰基脯氨酸甲酯 **6a**, **6c** 和 **6e**~**6h**. 羧酸甲酯 **6a**, **6c** 和 **6e**~**6h** 使用 NaOH 在甲醇中回流水解, 得到对应的羧酸 **8a**, **8c** 和 **8e**~**8h**; 尝试将化合物 **4d** 经过上述路线转化为 **8d** 时, 发现在最后一步用 NaOH 在甲醇中回流水解时, 羧基 O 原子能对 F 原子邻位碳原子进行分子内 $\text{S}_{\text{N}}2$ 反应迫使 F 原子离去, 得到的内酯随后水解生成 2-羟基乙基衍生物而非期望的 2-氟乙基衍生物 **8d**, 因此该方法无法得到期望化合物 **8d**. 于是我们改变路线, 将化合物 **4d** 在浓盐酸/二噁烷体系下回流水解将三氯乙醛片段除去, 得到脯氨酸盐酸盐 **7d**•HCl, 后者在二氯甲烷中在三乙胺作为碱的条件下与异丁酰氯发生酰胺化反应, 得到期望的 *N*-异丁酰基化合物 **8d**. 化合物 **8a** 和 **8c**~**8h** 与 *O*-(苄

基)-L-苏氨酸苄酯盐酸盐(**9**·HCl)经缩合剂 *O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐(HATU)缩合得到二肽 **10a** 和 **10c**~**10h**^[17]. 双苄基化合物 **10a** 和 **10c**~**10h** 尝试在甲醇中使用 10% Pd/C 室温常压下催化氢化, 其中 **10a**, **10c** 和 **10e**~**10f** 可以顺利脱去两个苄基, 得到对应化合物 **11a**, **11c** 和 **11e**~**11f**^[17], 而 **10d**, **10g**~**10h** 则在该条件下不反应, 改用更剧烈的氢化条件(40~45 °C, 2 MPa)后, 可顺利脱去两个苄基得到对应的产物 **11d**, **11g**~**11h**. 羧酸 **11a** 和 **11c**~**11h** 在使用 1-乙基-3-(二甲氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐(EDCI)/1-羟基苯丙三氮唑(HOBT)作为缩合剂、二异丙基乙基胺(DIPEA)作为碱、NH₄Cl 作为氮源的条件室温反应, 羧酸顺利转化为对应的酰胺, 得到目标化合物 **1a** 和 **1c**~**1h**^[17,19].

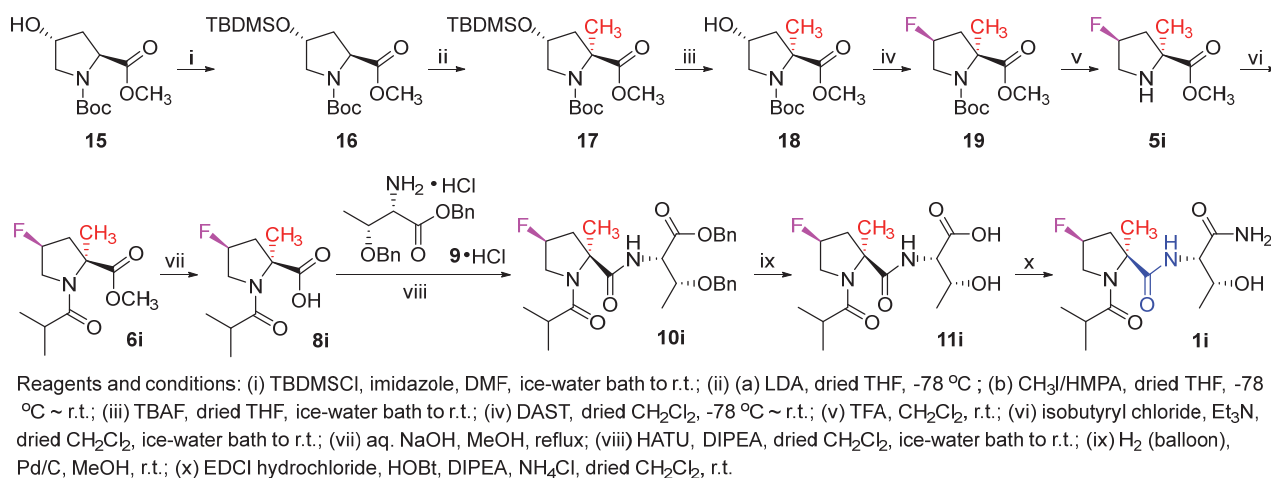
目标化合物 **1b** 的合成路线见 Scheme 2. 按照 Scheme 1 所示化合物 **3** 合成 **4a** 和 **4c**~**4h** 的方法, 将氯甲基苄基醚(BnOCH₂Cl)作为烷基化试剂合成化合物

4b'. 按照上述 **4a**, **4c** 和 **4e**~**4h** 合成 **6a**, **6c** 和 **6e**~**4h** 的方法, **4b'** 可以经过 **5b'**·HCl 合成苄醚 **12**. **12** 在 10% Pd/C 催化氢化室温压下可以顺利脱去苄基, 得到伯醇 **13**, 后者使用 Appel 反应(I₂/PPh₃/咪唑)转化为对应的碘化物 **14**. 碘化物 **14** 使用 AgF 在乙腈中室温下处理顺利得到期望的氟甲基中间体 **6b**. 按照上述 **6a**, **6c** 和 **6e**~**6h** 合成 **1a**, **1c** 和 **1e**~**1h** 的方法, **6b** 可以顺利合成目标产物 **1b**.

目标化合物 **1i** 的合成路线见 Scheme 3. 3-羟基脯氨酸化合物 **15** 在 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)中咪唑作碱和催化剂的条件下, 使用叔丁基二甲基氯硅烷(TBDMSCl)对羟基进行保护, 得到硅醚 **16**. *L*-脯氨酸甲酯 **16** 在低温下利用 LDA 将 α 位去质子, 后者被碘甲烷立体选择性地甲基化, 得到化合物 **17**^[20]. 硅醚 **17** 用四丁基氟化铵(TBAF)脱去 TBDMS 保护基, 得到仲醇 **18**. 在 -78 °C 下, 仲醇 **18** 用二乙胺基三氟化硫(DAST)处理, 仲醇转



图式 2 设计的目标化合物 **1b** 的合成路线
Scheme 2 Synthetic route to target compound **1b**



图式 3 设计的目标化合物 **1i** 的合成路线
Scheme 3 Synthetic route to target compound **1i**

变为氟化物,在此过程中醇的绝对构型发生翻转,得到氟代化合物 **19**^[21]. *N*-Boc 衍生物 **19** 使用三氟乙酸(TFA)脱去 Boc 基团,得到游离氨基化合物 **5i**,后者使用上述 **5a**, **5c** 和 **5e~5h** 合成 **6a**, **6c** 和 **6e~6h** 的方法,在 NH 上引入异丁酰基,得到 *N*-异丁酰基化合物 **6i**. 使用上述 **6a**, **6c** 和 **6e~6h** 合成 **1a**, **1c** 和 **1e~1h** 的方法, **6i** 可以顺利合成目标产物 **1i**.

目标化合物 **1j** 的合成路线见 Scheme 4. 丙酮酸甲酯(**20**)与烯丙基胺盐酸盐反应生成烯胺 **21**,后者再用苯甲酰氯对 NH 进行苯甲酰化,得到二烯 **22**^[22]. 用苯甲酮作为光敏剂,在 365 nm 紫外光照射下,二烯 **22** 在乙腈中发生分子内[2+2]环化反应,得到双环桥环化合物 **23**^[22]. 化合物 **23** 在回流的 6 mol·L⁻¹ 盐酸/二噁烷中水解,同时除去苯甲酰基和甲酯,得到双环桥环脯氨酸 **7j**·HCl^[22]. 用上述 **7d** 合成 **1d** 的方法,将 **7j**·HCl 转化为目标化合物 **1j**.

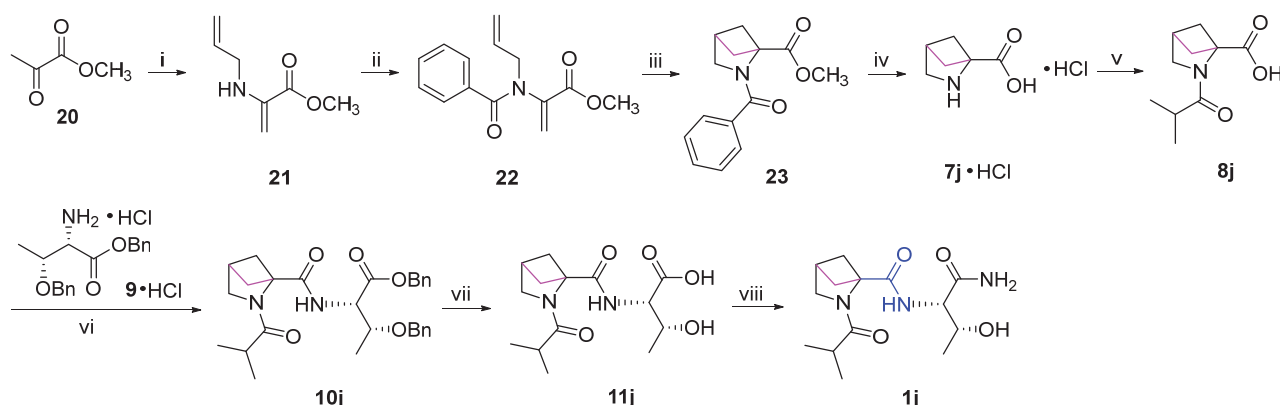
1.2 体外活性测试

NMDA 受体需要甘氨酸和 *L*-谷氨酸同时存在才能激活,激活后其中心孔道被打开,胞外 Ca²⁺ 内流形成膜电流,膜电流可以使用全细胞手动膜片钳技术进行检测^[23].

本研究合成的化合物 **1a~1j** 对 NMDA 受体的体外部分激动作用采用在稳定表达人 NR1/NR2B NMDA 受体的 HEK-293 细胞系上,使用全细胞手动膜片钳记录 **1a~1j** 对 NMDA 受体电流的影响的方法来评价. 由于 NMDA 受体需要甘氨酸和 *L*-谷氨酸同时存在才能激活,为了验证本研究设计和合成的化合物能否在低浓度范围内在甘氨酸和 *L*-谷氨酸存在下对 NMDA 受体产生的电流有增强作用,本研究采用的甘氨酸和 *L*-谷氨酸的浓度均为其 EC₁₀ 对应的浓度,即甘氨酸 0.05 μmol·L⁻¹ 和

L-谷氨酸 0.3 μmol·L⁻¹. 甘氨酸 0.05 μmol·L⁻¹ + *L*-谷氨酸 0.3 μmol·L⁻¹ 同时存在时对应的膜电流为 100%,测定待测化合物在 0.1, 1.0 和 10 μmol·L⁻¹ 三个浓度下分别与甘氨酸 0.05 μmol·L⁻¹ + *L*-谷氨酸 0.3 μmol·L⁻¹ 同时存在时对人 NR1/NR2B NMDA 受体的电流影响,结果见表 1. D-AP5 (*D*-2-氨基-5-磷酸基戊酸)是一个 *L*-谷氨酸结合位点的 NMDA 受体拮抗剂^[24],在本研究中也用于对照,考虑到其药理作用特性与部分激动不同,因此本研究采用的甘氨酸和 *L*-谷氨酸的浓度均为其 EC₁₀₀ 对应的浓度,即甘氨酸 10 μmol·L⁻¹ 和 *L*-谷氨酸 10 μmol·L⁻¹. 以甘氨酸 10 μmol·L⁻¹ + *L*-谷氨酸 10 μmol·L⁻¹ 同时存在时对应的膜电流为 100%, D-AP5 在 100 μmol·L⁻¹ 浓度下与甘氨酸 10 μmol·L⁻¹ + *L*-谷氨酸 10 μmol·L⁻¹ 同时存在时对人 NR1/NR2B NMDA 受体的电流影响,结果也汇总在表 1 中.

从表 1 的结果可以看出: (1) *D*-cycloserine 在 0.1, 1.0 和 10 μmol·L⁻¹ 三个浓度下均能增强膜电流,表明其对人 NR1/NR2B NMDA 受体有激动作用,且这种作用在 0.1~10 μmol·L⁻¹ 范围内有显著的浓度相关性增强的量效关系特征. D-AP5 在 100 μmol·L⁻¹ 浓度下对甘氨酸 10 μmol·L⁻¹ + *L*-谷氨酸 10 μmol·L⁻¹ 的电流的抑制率达到 95.60%,符合其作为 NMDA 受体拮抗剂的特征. (2) NYX-2925 在 0.1, 1.0 和 10 μmol·L⁻¹ 下对膜电流增强幅度较小,表明在该浓度范围内对人 NR1/NR2B NMDA 受体的激动作用不大,这种作用在 0.1~10 μmol·L⁻¹ 范围内不是呈现浓度相关性增强的量效关系,而是呈现出倒 V 形的量效关系特征,这一点与报道的 NYX-2925 在很多药理模型上表现出的特征一致^[14]. (3) 本研究设计和合成的化合物 **1a~1j** 对膜电流影响幅度均不是特别显著,在 68.75%~128.84% 范围内,对应于中等拮抗到弱



Reagents and conditions: (i) allylamine hydrochloride, Et₃N, dried toluene, ice-water bath to r.t.; (ii) PhCOCl, Et₃N, dried toluene, -10 °C ~ r.t.; (iii) hv (365 nm), PhCOCH₃, MeCN, r.t.; (iv) 6 mol/L HCl/dioxane, reflux; (v) isobutyl chloride, Et₃N, dried CH₂Cl₂, ice-water bath-r.t.; (vi) HATU, DIPEA, dried CH₂Cl₂, ice-water bath to r.t.; (vii) H₂ (balloon), Pd/C, MeOH, r.t.; (viii) EDCI hydrochloride, HOBt, DIPEA, NH₄Cl, dried CH₂Cl₂, r.t.

图式 4 设计的目标化合物 **1j** 的合成路线
Scheme 4 Synthetic route to target compound **1j**

表 1 采用手动膜片钳技术测定的所合成的化合物 **1a**~**1j** 对人 NR1/NR2B NMDA 受体电流的影响Table 1 Result of effects of compounds **1a**~**1j** on the human NR1/NR2B NMDA receptor currents recorded by manual patch-clamp

Compound ^a	Proportion of current compared to baseline level ^b			
	0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	1.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
<i>D</i> -cycloserine	106.51%	120.92%	165.30%	—
NYX-2925	110.53%	114.27%	108.02%	—
<i>D</i> -AP5	—	—	—	4.40%
1a	118.53%	117.24%	107.06%	—
1b	103.96%	118.63%	106.68%	—
1c	107.11%	97.65%	103.52%	—
1d	128.84%	113.33%	113.46%	—
1e	104.77%	99.94%	96.87%	—
1f	118.85%	101.72%	106.26%	—
1g	102.61%	95.35%	68.75%	—
1h	100.21%	118.91%	116.53%	—
1i	95.46%	99.06%	101.45%	—
1j	118.70%	108.60%	114.45%	—

^a The baseline current for *D*-AP5 corresponds to 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ glycine+10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ *L*-glutamate; the baseline currents for other compounds correspond to 0.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ glycine+0.3 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ *L*-glutamate. ^b The baseline current (no compounds to be tested) was defined to be 100%.

激动范围内的效应; 量效关系呈现多种模式, 如浓度相关性增强(**1i**), 浓度相关性减弱(**1a**, **1d**, **1e** 和 **1g**), V 型(**1c**, **1f** 和 **1j**)或倒 V 型(**1b** 和 **1h**). 其中, 激动作用最强的是 **1d** 在 0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时(128.83%), 其激动作用强于 *D*-环丝氨酸在 1.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的激动作用(120.92%); 化合物 **1g** 在 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时表现出中等强度的拮抗作用(68.75%).

总体上来讲, NYX-2925 和 10 个新合成的化合物对人 NR1/NR2B NMDA 受体没有表现出显著的激动作用, 个别化合物还表现出中等拮抗作用, 且其中部分化合物对人 NR1/NR2B NMDA 受体产生作用的构效关系比较复杂, 说明 NYX-2925 独特的螺环 β -内酰胺二肽拟肽结构不是设计 NMDA 受体部分激动剂理想的先导结构, 这一结果对未来基于 NYX-2925 这种特殊结构的 NMDA 受体调节剂的研究具有重要的参考价值.

2 结论

本研究以 NYX-2925 为先导结构, 对其 *L*-脯氨酸片段进行衍生, 将 β -内酰胺四元环开环后在 *L*-脯氨酸羧基 α 位更换不同的取代基(其中包含一系列含氟取代的化合物)、在 *L*-脯氨酸环上引入氟原子以及在 *L*-脯氨酸环上形成二环桥环, 共设计和合成了 10 个化合物. 初步的体外活性测试表明: 先导化合物 NYX-2925 和本研究设计和合成的 10 个化合物对人 NR1/NR2B NMDA 受体的作用幅度均不是特别显著, 说明 NYX-2925 独特的螺环 β -内酰胺二肽拟肽结构不是设计 NMDA 受体部分激动剂理想的先导结构, 这一结果对未来基于 NYX-2925 这

种特殊结构的 NMDA 受体调节剂的研究具有重要的参考价值.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

SGW X-4A 型显微熔点测定仪(上海仪电物理光学仪器有限公司), 温度计未校正; Anton Paar MCP4100 型高精度智能旋光仪; Bruker Ascend 500 型核磁共振波谱仪, CDCl_3 或者 $\text{DMSO}-d_6$ 作为溶剂, TMS (^1H NMR)或者氘代溶剂已知碳信号(^{13}C NMR)为内标; Thermo Exactive Plus 高分辨质谱系统, 电喷雾离子化(ESI)技术. 无水溶剂采用标准方法制备. 起始原料 **2**、**15** 和 **20** 均为市售.

3.2 实验方法

3.2.1 (3*R*,7*aS*)-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噻唑烷-1(3*H*)-酮(**3**)的合成

将 *L*-脯氨酸(**2**, 100.00 g, 0.878 mol)加入乙腈(600 mL)中, 氮气保护下搅拌, 反应体系降温至 0 $^{\circ}\text{C}$, 从恒压滴液漏斗中缓慢滴加 CCl_3CHO (320.03 g, 2.171 mol). 滴加完毕后, 反应体系在室温下继续反应 2 h, 薄层色谱(TLC)显示反应完全. 将反应体系在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到固体残余物, 以 CH_2Cl_2 (600 mL)溶解, 用水(500 mL)洗涤, 水相用 CH_2Cl_2 (100 mL)反萃. 合并有机相, 依次用饱和 NaHCO_3 溶液(200 mL)和饱和 NaCl 溶液(200 mL)洗涤, 无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂得到白色固体, 加入正己

烷(500 mL)室温下打浆, 抽滤收集固体, 室温下真空干燥得到化合物 **3**。白色固体, 160.09 g, 收率 75%。m.p. 106.4~107.8 °C (lit.^[25] 107.6 °C)。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 5.17 (s, 1H), 4.12 (dd, $J=9.0, 4.0$ Hz, 1H), 3.40~3.45 (m, 1H), 3.11~3.15 (m, 1H), 2.20~2.27 (m, 1H), 2.08~2.15 (m, 1H), 1.90~1.97 (m, 1H), 1.71~1.79 (m, 1H)。¹H NMR 数据与文献[25]一致。

3.2.2 (3*R*,7*aS*)-7*a*-取代-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噁唑烷-1(3*H*)-酮(**4a**和**4c~4h**)的合成

通用合成方法: 将二异丙胺(1.5 equiv.)溶于干燥的四氢呋喃(THF)中, 氮气保护下搅拌, 反应体系温度降温至 -78 °C, 用恒压滴液漏斗向体系中缓慢滴加 *n*-BuLi (1.6 mol/L, 1.5 equiv.), 滴加完毕后反应体系在 -78 °C 继续搅拌 0.5 h。将 **3** (1.0 equiv.)溶于干燥的 THF 中, 缓慢滴加入反应体系中, 滴加完毕后在此温度继续反应 0.5 h, 而后缓慢滴加烷基化剂 RX (1.3 equiv.), 滴加完毕后, 反应体系缓慢恢复至室温并继续搅拌 12 h, TLC 检测反应完全。用于 **4d** 合成的烷基化剂 2-氟乙醇的三氯甲磺酸酯根据文献[26]合成, ¹H NMR 数据与文献一致。反应体系慢慢倒入冰水中, 搅拌, 用 EtOAc 萃取 3 次, 合并有机相, 依次用 8.5% 磷酸水溶液和饱和 NaCl 溶液各洗涤一次, 无水 MgSO₄ 干燥。抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [*V*(EtOAc)/*V*(*n*-hexane) = 0/100~15/85] 纯化, 而后直接室温下真空干燥(**4d~4e**)或者从正己烷中室温下打浆(**4a, 4c**和**4f~4h**)后再室温下真空干燥, 得到化合物 **4a**或**4c~4h**。

(3*R*,7*aS*)-7*a*-甲基-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噁唑烷-1(3*H*)-酮(**4a**): 淡黄色固体, 收率 66%。m.p. 56.3~57.7 °C (lit.^[18] 55.0~57.0 °C)。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 4.99 (s, 1H), 3.37~3.42 (m, 1H), 3.17~3.21 (m, 1H), 2.19~2.24 (m, 1H), 1.94~2.01 (m, 1H), 1.85~1.90 (m, 1H), 1.74~1.82 (m, 1H), 1.53 (s, 3H)。¹H NMR 数据与文献[18]一致。

(3*R*,7*aS*)-7*a*-乙基-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噁唑烷-1(3*H*)-酮(**4c**): 白色固体, 收率 43%。m.p. 70.4~72.1 °C (lit.^[18] 76.0~77.0 °C)。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 4.96 (s, 1H), 3.17~3.28 (m, 2H), 2.16~2.21 (m, 1H), 1.82~2.01 (m, 4H), 1.62~1.72 (m, 1H), 1.03 (t, $J=7.3$ Hz, 3H)。¹H NMR 数据与文献[18]一致。

(3*R*,7*aS*)-7*a*-(2-氟乙基)-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噁唑烷-1(3*H*)-酮(**4d**): 黄色液体, 收率 50%。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 5.01 (s, 1H), 4.74~4.82 (m, 1H), 4.65~4.73 (m, 1H), 3.25~3.34 (m, 2H), 2.31~2.41 (m, 1H), 2.09~2.29 (m, 3H), 1.92~1.99 (m, 1H), 1.65~

1.74 (m, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ : 176.0, 102.6, 100.4, 80.5 (d, $J=165.7$ Hz), 70.3 (d, $J=2.9$ Hz), 58.4, 37.4 (d, $J=19.2$ Hz), 37.1 (d, $J=2.8$ Hz), 25.2。HRMS calcd for C₉H₁₂Cl₃FNO₂ [M+H]⁺ 289.9912, found 289.9911。

(3*R*,7*aS*)-7*a*-正丙基-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噁唑烷-1(3*H*)-酮(**4e**): 黄色液体, 收率 17%。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 4.95 (s, 1H), 3.17~3.27 (m, 2H), 2.16~2.21 (m, 1H), 1.95~2.01 (m, 1H), 1.88~1.94 (m, 1H), 1.74~1.86 (m, 2H), 1.62~1.72 (m, 1H), 1.51~1.60 (m, 1H), 1.40~1.50 (m, 1H), 0.94 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ : 176.6, 102.2, 100.6, 72.0, 58.2, 39.9, 36.0, 25.3, 17.1, 14.4。HRMS calcd for C₁₀H₁₄Cl₃NNaO₂ [M+Na]⁺ 307.9982, found 307.9980。

(3*R*,7*aS*)-7*a*-(3-氟丙基)-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噁唑烷-1(3*H*)-酮(**4f**): 白色固体, 收率 41%。m.p. 66.7~68.9 °C。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 4.97 (s, 1H), 4.48~4.54 (m, 1H), 4.38~4.45 (m, 1H), 3.19~3.30 (m, 2H), 2.21~2.27 (m, 1H), 1.89~2.04 (m, 5H), 1.77~1.89 (m, 1H), 1.66~1.76 (m, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ : 176.1, 102.2, 100.5, 83.8 (d, $J=166.2$ Hz), 71.6, 58.2, 36.2, 33.5 (d, $J=4.8$ Hz), 25.2 (d, $J=2.4$ Hz), 25.1。HRMS calcd for C₁₀H₁₄Cl₃FNO₂ [M+H]⁺ 304.0069, found 304.0069。

(3*R*,7*aS*)-7*a*-苄基-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噁唑烷-1(3*H*)-酮(**4g**): 白色固体, 收率 51%。m.p. 88.7~89.4 °C (lit.^[18] 75.0~77.0 °C)。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 7.36~7.38 (m, 2H), 7.24~7.31 (m, 3H), 5.02 (s, 1H), 3.35 (d, $J=13.5$ Hz, 1H), 3.01~3.05 (m, 1H), 2.95 (d, $J=13.5$ Hz, 1H), 2.61~2.67 (m, 1H), 2.10~2.16 (m, 1H), 1.97~2.03 (m, 1H), 1.45~1.53 (m, 1H), 1.36~1.42 (m, 1H)。¹H NMR 数据与文献[18]一致。

(3*R*,7*aR*)-7*a*-(甲氧基甲基)-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噁唑烷-1(3*H*)-酮(**4h**): 白色固体, 收率 62%。m.p. 62.0~63.0 °C (lit.^[27] 62.0~63.0 °C)。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 4.98 (s, 1H), 3.67 (d, $J=10.0$ Hz, 1H), 3.63 (d, $J=10.0$ Hz, 1H), 3.42 (s, 3H), 3.23~3.34 (m, 2H), 2.24~2.30 (m, 1H), 2.09~2.14 (m, 1H), 1.95~2.02 (m, 1H), 1.66~1.75 (m, 1H)。¹H NMR 数据与文献[27]一致。

3.2.3 (*S*)-2-取代吡咯烷-2-羧酸甲酯盐酸盐(**5a**·HCl, **5c**·HCl和**5e**·HCl~**5h**·HCl)的合成

将 MeOH (160 mL)加入到烧瓶中, 氮气保护下搅拌, 温度降至 0 °C, 用恒压滴液漏斗向体系中缓慢滴加 SOCl₂ (37.33 g, 0.314 mol), 制得 HCl/MeOH 溶液。将 **4a, 4c**或**4e~4h** (0.105 mol)溶于 MeOH (100 mL)中, 用

恒压滴液漏斗将其缓慢滴加入上述搅拌的体系中,滴加完毕后,反应体系升温回流 12 h, TLC 显示反应完全. 反应体系冷却至室温,在旋转蒸发仪上蒸去溶剂,得到的残余物室温下真空干燥,得到粗产物 **5a**·HCl, **5c**·HCl 或 **5e**·HCl~**5h**·HCl, 黄褐色液体,不进一步纯化,直接用于下一步反应.

3.2.4 (S)-1-异丁酰基-2-取代吡咯烷-2-羧酸甲酯(**6a**, **6c** 和 **6e**~**6h**)的合成

通用合成方法: 上述制得的粗产物 **5a**·HCl, **5c**·HCl 或 **5e**·HCl~**5h**·HCl (1.0 equiv.)溶于干燥的 CH₂Cl₂ 中,氮气保护下搅拌,反应体系温度降至 0 °C,用恒压滴液漏斗向体系中缓慢滴加 Et₃N (5.0 equiv.), 后再向体系中缓慢滴加异丁酰氯(2.0 equiv.), 滴加完毕后反应体系在室温下搅拌 12 h, TLC 显示反应完全. 将反应混合物倒入冰水中,搅拌,用 CH₂Cl₂ 萃取 3 次,合并有机相,依次用 0.1 mol·L⁻¹ 稀盐酸、饱和 NaHCO₃ 和饱和 NaCl 溶液洗涤,无水 MgSO₄ 干燥. 抽滤除去干燥剂,滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂,得到的残余物经柱层析 [*V*(EtOAc)/*V*(*n*-hexane)=15/85~25/75]纯化得到 **6a**, **6c** 或 **6e**~**6h**.

(S)-1-异丁酰基-2-甲基吡咯烷-2-羧酸甲酯(**6a**): 黄色液体, **4a**→**6a** 合并收率 87%. ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 3.69 (s, 3H), 3.62~3.69 (m, 2H), 2.62 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.12~2.17 (m, 1H), 1.96~2.08 (m, 2H), 1.85~1.90 (m, 1H), 1.55 (s, 3H), 1.10 (d, *J*=6.5, 3H), 1.10 (d, *J*=7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ: 175.2, 174.7, 65.7, 52.3, 47.9, 38.5, 32.5, 24.2, 21.8, 18.9, 18.5. HRMS calcd for C₁₁H₂₀NO₃ [*M*+*H*]⁺ 214.1438, found 214.1436.

(S)-1-异丁酰基-2-乙基吡咯烷-2-羧酸甲酯(**6c**): 黄色液体, **4c**→**6c** 合并收率 99%. ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 3.74~3.80 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.51~3.56 (m, 1H), 2.69 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.43~2.50 (m, 1H), 1.98~2.05 (m, 3H), 1.92~1.97 (m, 1H), 1.84~1.91 (m, 1H), 1.13 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 1.11 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.80 (t, *J*=7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ: 175.6, 175.0, 69.0, 52.2, 48.9, 35.2, 32.7, 26.3, 24.0, 19.3, 18.5, 8.0. HRMS calcd for C₁₂H₂₂NO₃ [*M*+*H*]⁺ 228.1594, found 228.1594.

(S)-1-异丁酰基-2-正丙基吡咯烷-2-羧酸甲酯(**6e**): 白色固体, **4e**→**6e** 合并收率 65%. m.p. 78.2~78.8 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 3.74~3.78 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.50~3.55 (m, 1H), 2.66 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.35~2.42 (m, 1H), 1.90~2.06 (m, 4H), 1.71~1.84 (m, 1H), 1.22~1.35 (m, 1H), 1.07~1.18 (m, 7H), 0.92 (t, *J*=

7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ: 175.5, 175.0, 68.6, 52.3, 48.8, 36.0, 35.8, 32.7, 24.1, 19.3, 18.5, 17.1, 14.5. HRMS calcd for C₁₃H₂₄NO₃ [*M*+*H*]⁺ 242.1751, found 242.1749.

(R)-1-异丁酰基-2-(3-氟乙基)吡咯烷-2-羧酸甲酯(**6f**): 白色固体, **4f**→**6f** 合并收率 47%. m.p. 99.1~103.8 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 4.34~4.53 (m, 2H), 3.76~3.80 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.53~3.58 (m, 1H), 2.67 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.36~2.42 (m, 1H), 1.93~2.13 (m, 5H), 1.68~1.81 (m, 1H), 1.47~1.59 (m, 1H), 1.12 (d, *J*=7.5 Hz, 3H), 1.11 (d, *J*=7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ: 175.9, 174.5, 84.2 (d, *J*=165.4 Hz), 68.3, 52.4, 48.7, 35.9, 32.8, 29.8 (d, *J*=6.2 Hz), 25.4 (d, *J*=19.9 Hz), 24.0, 19.3, 18.5. HRMS calcd for C₁₃H₂₃FO₃ [*M*+*H*]⁺ 260.1656, found 260.1656.

(R)-1-异丁酰基-2-苄基吡咯烷-2-羧酸甲酯(**6g**): 黄色液体, **4g**→**6g** 合并收率 76%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 7.22~7.29 (m, 3H), 7.09~7.11 (m, 2H), 3.62 (d, *J*=13.5, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.44~3.49 (m, 1H), 2.97 (d, *J*=13.5, 1H), 2.93~2.98 (m, 1H), 2.66 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.05~2.10 (m, 1H), 1.91~1.99 (m, 1H), 1.57~1.65 (m, 1H), 1.08 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.99 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.89~0.96 (m, 1H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 126 MHz) δ: 174.7, 174.0, 136.9, 130.5, 127.9, 126.5, 68.2, 51.9, 48.0, 37.6, 34.4, 31.7, 23.0, 18.9, 18.5. HRMS calcd for C₁₇H₂₄NO₃ [*M*+*H*]⁺ 290.1751, found 290.1750.

(R)-1-异丁酰基-2-(甲氧基甲基)吡咯烷-2-羧酸甲酯(**6h**): 黄色液体, **4h**→**6h** 合并收率 114%(含一定的残留溶剂). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 4.11 (d, *J*=10.0 Hz, 1H), 3.75 (d, *J*=10.0 Hz, 1H), 3.70~3.74 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.57~3.62 (m, 1H), 3.33 (s, 3H), 2.68 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.26~2.34 (m, 1H), 1.95~2.12 (m, 3H), 1.12 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 1.11 (d, *J*=6.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ: 175.7, 173.3, 72.5, 68.5, 59.5, 52.2, 48.7, 34.4, 32.6, 24.4, 19.0, 18.5. HRMS calcd for C₁₂H₂₂NO₄ [*M*+*H*]⁺ 244.1543, found 244.1544.

3.2.5 (R)-2-(2-氟乙基)吡咯烷-2-羧酸盐(**7d**·HCl)的合成

化合物 **4d** (19.00 g, 65.4 mmol)溶于二噁烷(190 mL)中,氮气保护下搅拌,反应体系温度降至 0 °C,滴加浓盐酸(19 mL),滴加完毕后,将反应体系升温至 105 °C,反应 6 h, TLC 显示有部分原料未反应. 补加浓盐酸(5 mL)后继续反应 2 h, TLC 显示反应完全. 反应体系冷却至室温,在旋转蒸发仪上蒸干得到白色固体,加入 CH₂Cl₂ (50 mL)室温下搅拌 1 h,抽滤收集固体,室温下

真空干燥得到化合物 **7d**·HCl, 白色固体, 10.71 g, 收率 83%. 该化合物直接用于下一步反应, 不进一步纯化和表征.

3.2.6 (S)-1-异丁酰基-2-取代吡咯烷-2-羧酸(**8a**, **8c** 和 **8e**~**8h**)的合成

通用合成方法: 化合物 **6a**, **6c** 或 **6e**~**6h** (1.0 equiv.) 溶于 MeOH 中, 反应体系温度降至 0 °C, NaOH (3.0 equiv.) 以少量水溶解后滴加入反应体系中, 滴加完毕后, 氮气保护下反应体系升温至回流 3 h, TLC 显示反应完全. 反应体系冷却至室温, 在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 所得残余物溶于适量水中, 用 EtOAc 萃取 2 次, 除去有机杂质. 水相再用 1 mol·L⁻¹ 稀盐酸调至 pH 至 3~4, 用 EtOAc 萃取 3 次, 合并有机相, 用饱和 NaCl 溶液洗涤 1 次, 无水 MgSO₄ 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物室温下直接真空干燥 (**8g**) 或者用正己烷(**8c**, **8e**, **8f** 和 **8h**) 或甲基叔丁基醚(**8a**) 在室温下打浆 1 h, 抽滤收集固体, 得到产物 **8a**, **8c** 或 **8e**~**8h**.

(S)-1-异丁酰基-2-甲基吡咯烷-2-羧酸(**8a**): 白色固体, 收率 48%. m.p. 127.5 ~ 130.8 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 12.08 (brs, 1H), 3.62~3.66 (m, 1H), 3.53~3.58 (m, 1H), 2.63 (septet, *J*=6.7 Hz, 1H), 1.99~2.05 (m, 1H), 1.89~1.97 (m, 2H), 1.78~1.83 (m, 1H), 1.38 (s, 3H), 0.97 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.95 (d, *J*=7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 126 MHz) δ: 175.2, 173.7, 64.7, 47.5, 38.0, 31.4, 23.6, 21.3, 19.0, 18.4. HRMS calcd for C₁₀H₁₈NO₃ [M+H]⁺ 200.1281, found 200.1280.

(S)-1-异丁酰基-2-乙基吡咯烷-2-羧酸(**8c**): 白色固体, 收率 58%. m.p. 65.1~67.4 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 12.10 (brs, 1H), 3.68~3.73 (m, 1H), 3.48~3.53 (m, 1H), 2.703 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.23~2.30 (m, 1H), 1.82~2.00 (m, 4H), 1.65~1.72 (m, 1H), 1.01 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.95 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.71 (t, *J*=7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 126 MHz) δ: 175.5, 174.1, 67.8, 48.4, 34.8, 31.6, 25.7, 23.5, 19.3, 18.4, 7.7. HRMS calcd for C₁₁H₂₀NO₃ [M+H]⁺ 214.1438, found 214.1436.

(R)-1-异丁酰基-2-正丙基吡咯烷-2-羧酸(**8e**): 淡黄色固体, 收率 74%. m.p. 77.2~79.0 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 12.08 (brs, 1H), 3.66~3.70 (m, 1H), 3.48~3.53 (m, 1H), 2.64~2.72 (m, 1H), 2.16~2.22 (m, 1H), 1.82~2.00 (m, 4H), 1.61~1.67 (m, 1H), 1.22~1.33 (m, 1H), 0.89~1.05 (m, 1H), 0.99 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.95 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.84 (t, *J*=7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 126 MHz) δ: 175.4, 174.1, 67.5, 48.3, 35.6, 35.3, 31.6, 23.5, 19.3, 18.4, 16.4, 14.4. HRMS calcd

for C₁₂H₂₂NO₃ [M+H]⁺ 228.1594, found 228.1593.

(R)-1-异丁酰基-2-(3-氟丙基)吡咯烷-2-羧酸(**8f**): 白色固体, 收率 72%. m.p. 89.5~95.6 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 12.13 (brs, 1H), 4.40~4.47 (1H, m), 4.31~4.38 (m, 1H), 3.67~3.72 (m, 1H), 3.51~3.56 (m, 1H), 2.69 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.22~2.28 (m, 1H), 1.84~1.99 (m, 4H), 1.75~1.81 (m, 1H), 1.61~1.73 (m, 1H), 1.30~1.44 (m, 1H), 1.00 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.95 (d, *J*=7.0, 3H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 126 MHz) δ: 175.2, 174.2, 84.1 (d, *J*=162.8 Hz), 67.1, 35.2, 31.6, 29.2 (d, *J*=5.4 Hz), 24.6 (d, *J*=19.4 Hz), 23.4, 19.3, 18.4. HRMS calcd for C₁₂H₂₁FNO₃ [M+H]⁺ 246.1500, found 246.1499.

(R)-1-异丁酰基-2-苄基吡咯烷-2-羧酸(**8g**): 黄色液体, 收率 48%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 7.20~7.28 (m, 3H), 7.08~7.09 (m, 2H), 3.64 (d, *J*=13.5 Hz, 1H), 3.42~3.47 (m, 1H), 2.91~2.95 (m, 1H), 2.91 (d, *J*=13.5 Hz, 1H), 2.64 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.02~2.08 (m, 1H), 1.92~1.98 (m, 1H), 1.57~1.64 (m, 1H), 1.07 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 0.99 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 0.87~0.89 (m, 1H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 126 MHz) δ: 175.2, 174.6, 137.5, 130.5, 127.9, 126.4, 68.1, 48.1, 37.6, 34.7, 31.8, 23.0, 19.1, 18.6. HRMS calcd for C₁₆H₂₂NO₃ [M+H]⁺ 276.1594, found 276.1595.

(R)-1-异丁酰基-2-(甲氧基甲基)吡咯烷-2-羧酸(**8h**): 白色固体, 收率 26%. m.p. 91.2~92.8 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 12.32 (brs, 1H), 3.96 (d, *J*=10.0 Hz, 1H), 3.62~3.67 (m, 1H), 3.58 (d, *J*=9.5 Hz, 1H), 3.49~3.54 (m, 1H), 3.22 (s, 3H), 2.68 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.10~2.21 (m, 1H), 1.79~2.00 (m, 3H), 0.98 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.96 (d, *J*=7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 126 MHz) δ: 174.1, 173.7, 72.1, 67.4, 58.9, 48.2, 34.0, 31.5, 23.8, 19.0, 18.4. HRMS calcd for C₁₁H₂₀NO₄ [M+H]⁺ 230.1387, found 230.1387.

3.2.7 (R)-1-异丁酰基-2-(2-氟乙基)吡咯烷-2-羧酸(**8d**)的合成

参照上述 **5a**·HCl, **5c**·HCl 和 **5e**·HCl~**5h**·HCl 合成 **6a**, **6c** 和 **6e**~**6h** 的步骤, 使用 **7d**·HCl (10.70 g, 54.1 mmol), Et₃N (27.39 g, 0.271 mol), 异丁酰氯(11.54 g, 0.108 mol)反应, 得到化合物 **8d**, 白色固体, 7.12 g, 收率 57%. m.p. 99.1~100.9 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 12.29 (brs, 1H), 4.36~4.57 (m, 2H), 3.58~3.68 (m, 2H), 2.68 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.43~2.54 (m, 1H), 2.15~2.25 (m, 1H), 2.05~2.10 (m, 1H), 1.98~2.03 (m, 1H), 1.87~1.96 (m, 2H), 0.99 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.95 (d,

$J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 174.7, 174.5, 81.2 (d, $J=160.5$ Hz), 66.0 (d, $J=5.4$ Hz), 47.9, 35.9, 34.3 (d, $J=18.9$ Hz), 31.5, 23.4, 19.1, 18.3. HRMS calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{FNO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 232.1343, found 232.1342.

3.2.8 (3*R*,7*aR*)-7*a*-((苄氧基)甲基)-3-(三氯甲基)四氢吡咯并[1,2-*c*]噁唑烷-1(3*H*)-酮(**4b'**)的合成

参照上述 **3** 合成 **4a** 和 **4c**~**4h** 的步骤, 使用 **3** (50.00 g, 0.204 mol), 二异丙胺(24.83 g, 0.245 mol), *n*-BuLi (1.6 mol/L, 153 mL, 0.245 mol), 氯甲基苄基醚(41.63 g, 0.266 mol), 得到化合物 **4b'**, 淡黄色液体, 40.25 g, 产率 54%. 该化合物直接用于下一步反应, 不进一步纯化和表征.

3.2.9 (*R*)-2-((苄氧基)甲基)吡咯烷-2-羧酸甲酯盐酸盐(**5b'·HCl**)的合成

参照上述 **4a**, **4c** 和 **4e**~**4h** 合成 **5a·HCl**, **5c·HCl** 和 **5e·HCl**~**5h·HCl** 的步骤, 使用 **4b'** (40.00 g, 以 0.110 mol 计), SOCl_2 (39.15 g, 0.329 mol), MeOH (200 mL), 得到粗产物 **5b'·HCl**, 红褐色液体, 64.30 g. 该化合物直接用于下一步反应, 不进一步纯化和表征.

3.2.10 (*R*)-2-1-异丁酰基-((苄氧基)甲基)吡咯烷-2-羧酸甲酯(**12**)的合成

参照上述 **5a·HCl**, **5c·HCl** 和 **5e·HCl**~**5h·HCl** 合成 **6a**, **6c** 和 **6e**~**6h** 的步骤, 使用 **5b'·HCl** (64.30 g, 以 0.225 mol 计), Et_3N (113.84 g, 1.125 mol)、异丁酰氯(47.95 g, 0.450 mol)得到化合物 **12**, 淡黄色液体, 31.01 g, **4b'**→**12** 合并收率 88%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 7.30~7.34 (m, 2H), 7.25~7.29 (m, 3H), 4.54 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 4.48 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 4.26 (d, $J=10.0$ Hz, 1H), 3.86 (d, $J=10.0$ Hz, 1H), 3.70~3.75 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.59~3.64 (m, 1H), 2.68 (septet, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.32~2.38 (m, 1H), 2.09~2.17 (m, 1H), 1.95~2.06 (m, 2H), 1.11 (d, $J=7.0$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz) δ : 175.6, 173.2, 138.8, 128.4, 127.5, 127.4, 73.5, 70.4, 68.5, 52.2, 48.7, 34.6, 32.6, 24.5, 19.1, 18.6. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{NO}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 320.1856, found 320.1856.

3.2.11 (*R*)-1-异丁酰基-2-(羟甲基)吡咯烷-2-羧酸甲酯(**13**)的合成

化合物 **12** (31.00 g, 97.1 mmol)溶于 MeOH (250 mL)中, 搅拌, 加入 10% Pd/C(约 3.00 g), 按照标准程序在室温常压下(气球)加氢 12 h, TLC 显示反应完成. 反应完毕后, 用硅藻土助滤除去催化剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去甲醇, 得到的残余物室温下真空干燥, 得到化合物 **13**. 淡黄色液体, 21.03 g, 产率 94%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 4.74 (brs, 1H), 3.99 (d, $J=11.0$ Hz, 1H), 3.63~3.68 (m, 1H), 3.62 (d, $J=11.5$ Hz, 1H),

3.52~3.57 (m, 1H), 3.54 (s, 3H), 2.68 (septet, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.17~2.23 (m, 1H), 1.95~2.04 (m, 1H), 1.81~1.90 (m, 2H), 0.99 (d, $J=7.0$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J=6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 174.5, 173.0, 60.0, 61.4, 51.5, 48.2, 33.3, 31.6, 23.7, 18.9, 18.5. HRMS calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{NO}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 230.1387, found 230.1387.

3.2.12 (*R*)-1-异丁酰基-2-(碘甲基)吡咯烷-2-羧酸甲酯(**14**)的合成

将 I_2 (34.87 g, 0.137 mol)加入干燥的 CH_2Cl_2 (400 mL), 搅拌, 在氮气氛围中降温至 0°C , 缓慢分批加入 PPh_3 (36.04 g, 0.137 mol), 加入完毕后继续反应 0.5 h 后, 再缓慢分批加入咪唑(37.41 g, 0.550 mol), 加完后再继续搅拌 0.5 h. 将化合物 **13** (21.00 g, 91.6 mmol)溶于干燥的 CH_2Cl_2 (60 mL)中, 用恒压滴液漏斗缓慢滴加到反应体系中, 滴加完后反应体系逐渐恢复至室温, 在室温下继续搅拌反应 3 h, TLC 显示反应完毕. 将反应混合物倒入冰水(500 mL)中, 搅拌, 分出有机相, 水相用 CH_2Cl_2 (100 mL×3)萃取. 合并有机相, 依次用 10% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液(200 mL)和饱和 NaCl 溶液(200 mL)洗涤, 无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane})=25/75$]纯化得到化合物 **14**. 黄褐色液体, 15.01 g, 收率 48%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 4.55 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.75~3.79 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.69 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.61~3.66 (m, 1H), 2.69 (septet, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.19~2.26 (m, 1H), 2.06~2.14 (m, 3H), 1.19 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 1.11 (d, $J=6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz) δ : 176.0, 170.7, 67.8, 52.9, 48.8, 37.1, 32.9, 23.7, 19.4, 18.4, 14.6. HRMS calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{INO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 340.0404, found 340.0404.

3.2.13 (*S*)-1-异丁酰基-2-(氟甲基)吡咯烷-2-羧酸甲酯(**6b**)的合成

将化合物 **14** (15.00 g, 44.2 mmol)溶于乙腈(150 mL)中, 加入 AgF (8.50 g, 66.3 mmol), 用锡箔纸包裹烧瓶避光, 氮气保护下在室温下搅拌 12 h, TLC 显示反应完成. 反应混合物以硅藻土助滤, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂后得到一残余物, 加入 EtOAc (200 mL)溶解后, 依次用 H_2O (100 mL)和饱和 NaCl (100 mL)溶液洗涤, 无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane})=17/83$]纯化, 得到化合物 0.80 g, 淡黄色液体, 收率 8%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 5.05 (dd, $J=9.5$ Hz and 48.5 Hz, 1H), 4.74 (dd, $J=9.5$, 47.0 Hz, 1H), 3.69~3.77 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.62~3.66 (m, 1H), 2.69 (septet, $J=6.7$ Hz, 1H), 2.30~2.35 (m, 1H), 2.00~

2.15 (m, 3H), 1.13 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 1.12 (d, $J=6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz) δ : 176.1, 172.2 (d, $J=8.3$ Hz), 83.0 (d, $J=170.9$ Hz), 68.0 (d, $J=18.9$ Hz), 52.4, 48.5, 33.8 (d, $J=16.5$ Hz), 32.7, 24.4, 19.0, 18.5. HRMS calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{FNO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 232.1343, found 232.1344.

3.2.14 (S)-1-异丁酰基-2-(氟甲基)吡咯烷-2-羧酸(8b)的合成

参照上述 6a, 6c 和 6e~6h 合成 8a, 8c 和 8e~8h 的步骤, 使用 6b (0.80 g, 3.46 mmol)、NaOH (0.42 g, 10.4 mmol)、MeOH (10 mL)得到化合物 8b, 白色固体, 0.60 g, 收率 80%. m.p. 151.8~154.2 °C. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 6.38 (brs, 1H), 5.13 (dd, $J=9.5$, 48.5 Hz, 1H), 4.69 (dd, $J=9.5$ Hz and 46.5 Hz, 1H), 3.72~3.77 (m, 1H), 3.61~3.65 (m, 1H), 2.71 (septet, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.31~2.34 (m, 2H), 2.00~2.12 (m, 2H), 1.15 (d, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.13 (d, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz) δ : 177.4, 173.4 (d, $J=8.2$ Hz), 82.4 (d, $J=172.0$ Hz), 68.7 (d, $J=18.8$ Hz), 48.9, 33.4 (d, $J=3.5$ Hz), 32.8, 24.0, 18.9, 18.2. HRMS calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{FNO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 218.1187, found 218.1187.

3.2.15 (2S,4R)-1-(叔丁氧羰基)-4-((叔丁基二甲基硅烷基)氧基)吡咯烷-2-羧酸甲酯(16)的合成

将化合物 15 (40.00 g, 0.163 mol)溶于 DMF (400 mL)中, 氮气保护下搅拌, 反应体系降温至 0 °C, 依次分批加入咪唑(33.31 g, 0.489 mol)和 TBDMSCl (31.95 g, 0.212 mol), 加完后, 反应体系恢复至室温继续搅拌反应 4 h, TLC 显示反应完成. 反应体系倒入冰水(1200 mL)中, 搅拌, 用 EtOAc (300 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和 NaCl 溶液(300 mL×5)洗涤, 无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane}) = 0/100 \sim 10/90$]纯化, 得到化合物 16, 淡黄色溶液, 62.15 g, 收率 106%(含一定量溶剂). ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 4.32~4.44 (m, 2H), 3.74 (s, 1H), 3.73 (s, 2H), 3.56~3.63 (m, 1H), 3.30~3.42 (m, 1H), 2.14~2.21 (m, 1H), 1.99~2.04 (m, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.41 (s, 6H), 0.87 (s, 9H), 1.06 (s, 6H); ^1H NMR 数据与文献[28]一致.

3.2.16 (2S,4R)-1-(叔丁氧羰基)-2-甲基-4-[(叔丁基二甲基硅烷基)氧基]吡咯烷-2-羧酸甲酯(17)的合成

将二异丙胺(20.96 g, 0.207 mol)溶于干燥的 THF (300 mL)中, 氮气保护下搅拌, 反应体系降温至 -78 °C, 用恒压滴液漏斗向体系中缓慢滴加 $n\text{-BuLi}$ (2.4 mmol/L, 86 mL, 0.207 mol), 滴加完毕后反应体系维持在 -78 °C 继续反应 0.5 h. 将化合物 16 (62.00 g,

按 0.173 mol 计)溶于干燥的 THF (100 mL)中, 用恒压滴液漏斗缓慢滴加入反应体系中, 滴加完毕后在该温度下继续反应 0.5 h, 而后依次缓慢滴加六甲基磷酸三酰胺 (HMPA; 92.78 g, 0.518 mol)和 CH_3I (31.85 g, 0.224 mol), 滴加完毕后, 反应体系缓慢恢复至室温并继续搅拌 12 h, TLC 检测反应完全. 反应体系倒入饱和 NH_4Cl 溶液 (900 mL), 搅拌, 用 EtOAc (300 mL×3)萃取, 合并有机相, 依次用 0.1 mol·L⁻¹ 稀盐酸(300 mL)和饱和 NaCl 溶液(300 mL)洗涤, 无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane}) = 0/100 \sim 5/95$]纯化, 得到化合物 17, 淡黄色液体, 21.90 g, 收率 34%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 4.37~4.40 (m, 1H), 3.65~3.75 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.31~3.44 (m, 1H), 2.25~2.33 (m, 1H), 1.86~1.95 (m, 1H), 1.68 (s, 1H), 1.64 (s, 2H), 1.45 (s, 3H), 1.41 (s, 6H), 0.89 (s, 3H), 0.88 (s, 6H), 0.06~0.07 (m, 6H); ^1H NMR 数据与文献[28]一致.

3.2.17 (2S,4R)-1-(叔丁氧羰基)-2-甲基-4-羟基吡咯烷-2-羧酸甲酯(18)的合成

将化合物 17 (11.00 g, 29.4 mmol)溶于干燥的 THF (100 mL)中, 氮气保护下搅拌, 反应体系降温至 0 °C, 向反应体系中分批加入四丁基氟化铵(TBAF) (18.58 g, 58.9 mmol), 加入完毕后, 反应体系恢复至室温并再继续搅拌 5 h, TLC 检测反应完全. 将反应体系倒入冰水 (300 mL)中, 搅拌, 用 EtOAc (100 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和 NaCl 溶液(150 mL)洗涤, 无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane}) = 10/90 \sim 40/60$]纯化得到化合物 18, 棕黄色液体, 6.73 g, 收率 88%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 4.46~4.51 (m, 1H), 3.72~3.80 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.47~3.57 (m, 1H), 2.34~2.40 (m, 1H), 1.94~2.05 (m, 1H), 1.72 (s, 1H), 1.68 (s, 2H), 1.45 (s, 3H), 1.41 (s, 6H). HRMS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NNaO}_5$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 282.1312, found 282.1310. 该化合物含有一定量杂质, 纯度不足以收集 ^{13}C NMR.

3.2.18 (2S,4S)-1-(叔丁氧羰基)-4-氟-2-甲基吡咯烷-2-羧酸甲酯(19)的合成

将化合物 18 (6.73 g, 26.0 mmol)溶于干燥的 CH_2Cl_2 (50 mL)中, 氮气保护下搅拌, 反应体系降温至 -78 °C, 通过恒压滴液漏斗向体系中缓慢滴加 DAST (6.28 g, 38.9 mmol), 滴加完毕后反应体系在 -78 °C 搅拌 0.5 h, 而后缓慢恢复至室温继续搅拌 12 h, TLC 检测部分原料未反应, 将反应体系重新降温至 -78 °C, 补加 DAST (4.16 g, 26.0 mmol)及干燥的 CH_2Cl_2 (10 mL), 反应体系在 -78 °C 继续反应 0.5 h, 缓慢恢复至室温后再继续搅

拌 6 h, TLC 检测反应完全. 将反应体系慢慢倒入冰水(200 mL)中, 搅拌, 缓慢滴加饱和 NaHCO_3 溶液(100 mL), 用 CH_2Cl_2 (100 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 用饱和 NaCl 溶液(100 mL)洗涤, 无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane})=0/100\sim10/90$] 纯化, 得到化合物 **19**, 淡黄色液体, 2.20 g, 收率 32%. 该化合物直接用于下一步反应.

3.2.19 (2*S*,4*S*)-4-氟-2-甲基吡咯烷-2-羧酸甲酯(**5i**)的合成

将化合物 **19** (8.80 g, 33.7 mmol) 溶于干燥的 CH_2Cl_2 (80 mL) 中, 室温下搅拌, 加入 TFA (13 mL), 继续在室温下搅拌 4 h, TLC 检测反应完毕. 反应体系在旋转蒸发仪上蒸去溶剂及 TFA 后, 加入饱和 NaHCO_3 溶液(100 mL), 搅拌, 用 CH_2Cl_2 (100 mL $\times$ 3)萃取. 合并有机相, 用饱和 NaCl 溶液(100 mL)洗涤, 无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane})=0/100\sim50/50$] 纯化, 得到化合物 **5i**, 黄色溶液, 3.26 g, 收率 60%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 5.09~5.22 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.26~3.35 (m, 1H), 3.11~3.21 (m, 1H), 2.59~2.66 (m, 2H), 1.80~1.92 (m, 1H), 1.41 (s, 3H), ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz) δ : 177.2, 94.9 (d, $J=174.6$ Hz), 65.3, 53.3 (d, $J=23.2$ Hz), 52.7, 44.8 (d, $J=20.9$ Hz), 26.4. HRMS calcd for $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{FNO}_2$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 162.0925, found 162.0924.

3.2.20 (2*S*,4*S*)-1-异丁酰基-4-氟-2-甲基吡咯烷-2-羧酸甲酯(**6i**)的合成

参照上述 **5a**·HCl, **5c**·HCl 和 **5e**·HCl~**5h**·HCl 合成 **6a**, **6c** 和 **6e**~**6h** 的步骤, 使用 **5i** (3.26 g, 20.2 mmol)、 Et_3N (10.23 g, 0.101 mol)、异丁酰氯(4.31 g, 40.5 mmol)、干燥的 CH_2Cl_2 (30 mL) 得到化合物 **6i**, 黄色液体, 3.96 g, 收率 85%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 5.16~5.30 (m, 1H), 3.84~4.00 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 2.53~2.62 (m, 2H), 2.12~2.22 (m, 1H), 1.65 (s, 3H), 1.16 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 1.12 (d, $J=6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz) δ : 175.5, 173.2, 90.1 (d, $J=181.8$ Hz), 65.1, 53.6 (d, $J=24.9$ Hz), 52.5, 45.0 (d, $J=20.8$ Hz), 32.7, 23.5, 18.7, 18.5. HRMS calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{FNO}_3$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 232.1343, found 232.1343.

3.2.21 (2*S*,4*S*)-1-异丁酰基-4-氟-2-甲基吡咯烷-2-羧酸(**8i**)的合成

参照上述 **6a**, **6c** 和 **6e**~**6h** 合成 **8a**, **8c** 和 **8e**~**8h** 的步骤, 使用 **6i** (3.00 g, 13.0 mmol)、 NaOH (1.56 g, 38.9 mmol)、 MeOH (30 mL) 得到产物 **8i**, 白色固体, 1.59 g,

收率 56%. m.p. 197.9~199.2 $^\circ\text{C}$. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 12.27 (brs, 1H), 5.23~5.36 (m, 1H), 3.80~3.97 (m, 2H), 2.64 (septet, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.31~2.39 (m, 1H), 2.17~2.27 (m, 1H), 1.45 (s, 3H), 0.98 (d, $J=7.0$ Hz, 3H), 0.98 (d, $J=6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 126 MHz) δ : 174.0, 173.9, 90.6 (d, $J=177.8$ Hz), 64.2, 53.2 (d, $J=23.9$ Hz), 44.5 (d, $J=20.4$ Hz), 31.5, 22.7, 18.8, 18.5. HRMS calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{FNO}_3$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 218.1187, found 218.1187.

3.2.22 2-(烯丙基氨基)丙烯酸甲酯(**21**)的合成

将化合物 **20** (5.00 g, 49.0 mmol) 溶于干燥的甲苯(50 mL)中, 加入 Et_3N (9.91 g, 98.0 mmol), 氮气保护下搅拌, 反应体系降温至 0 $^\circ\text{C}$. 将烯丙胺盐酸盐(4.58 g, 49.0 mmol)加入到反应体系中, 加完后, 反应体系升至室温并继续搅拌 4 h, TLC 检测显示反应完毕. 反应体系倒入冰水, 搅拌, 分出有机相, 用无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液直接用于下一步反应.

3.2.23 2-(*N*-烯丙基甲酰氨基苯基)丙烯酸甲酯(**22**)的合成

向上一步得到的粗产物 **21**(按 49.0 mmol 计)的甲苯溶液中加入 Et_3N (4.96 g, 49.0 mmol), 氮气保护下搅拌, 反应体系降温至 0 $^\circ\text{C}$, 缓慢滴加苯甲酰氯(5.50 g, 39.2 mmol), 滴加完毕后, 反应体系恢复至室温, 继续搅拌 12 h, TLC 检测显示反应完全. 将反应体系过滤, 滤饼用甲苯洗涤, 洗涤液合并到滤液中, 倒入冰水(100 mL)中, 搅拌, 分出有机相, 水相用 EtOAc (50 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 依次用 0.1 mol·L $^{-1}$ 稀盐酸(100 mL)和饱和 NaCl 溶液(100 mL)洗涤, 无水 MgSO_4 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane})=0/100\sim10/90$] 纯化, 得到化合物 **22**, 黄色液体, 2.20 g, **20**→**22** 合并收率 18%. ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 7.47~7.49 (m, 2H), 7.31~7.40 (m, 3H), 6.08 (s, 1H), 5.88~5.96 (m, 1H), 5.51 (brs, 1H), 5.20~5.26 (m, 2H), 4.31 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.63 (s, 3H). ^1H NMR 数据与文献[29]一致.

3.2.24 2-苯甲酰基-2-氮杂双环[2.1.1]己烷-1-羧酸甲酯(**23**)的合成

将化合物 **22** (13.90 g, 57.4 mmol) 溶于乙腈(900 mL)中, 加入苯乙酮(2.07 g, 17.2 mmol), 氮气保护, 室温下搅拌, 用紫外灯(365 nm, 功率 100 W/个 $\times$ 3 个)进行照射, TLC 跟踪反应进程直到反应结束(大约需要 13 d). 反应混合液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane})=0/100\sim33/67$] 纯化, 再使用 [$V(\text{EtOAc})/V(n\text{-hexane})=1/2$] 室温下打浆, 抽滤收集固体, 室温下真空干燥得到化合物 **23**, 白色固体,

5.09 g, 收率 36%. m.p. 119.7~120.5 °C (lit.^[29] 124.5~125.0 °C). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 7.75~7.76 (m, 2H), 7.40~7.50 (m, 3H), 3.81 (brs, 3H), 3.57 (brs, 2H), 2.81~2.82 (m, 1H), 2.19~2.24 (m, 2H), 1.79~1.83 (m, 2H). ¹H NMR 数据与文献[29]一致.

3.2.25 2-氮杂双环[2.1.1]己烷-1-羧酸盐(7j·HCl)的合成

将化合物 **23** (5.09, 20.8 mmol)加入 6 mol·L⁻¹ 盐酸 (25 mL)中, 再加入二噁烷(3 mL), 搅拌, 在氮气保护下升温至回流, TLC 跟踪直到反应结束(一般需要 12 h). 将反应体系冷却至室温, 继续降温至 0 °C, 搅拌, 有白色固体析出, 抽滤收集固体, 用 6 mol·L⁻¹ 盐酸洗涤滤饼. 将滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 所得残余物加入丙酮 (10 mL)室温下打浆, 抽滤收集固体, 室温下干燥得到 **7j·HCl**. 白色固体, 3.20 g, 收率 94%. 该化合物直接用于下一步反应, 不进一步纯化和表征.

3.2.26 2-异丁酰基-2-氮杂双环[2.1.1]己烷-1-羧酸盐(8j)的合成

参照上述 **5a·HCl**, **5c·HCl** 和 **5e·HCl**~**5h·HCl** 合成 **6a**, **6c** 和 **6e**~**6h** 的步骤, 使用 **7j·HCl** (3.20 g, 按 19.6 mmol 计)、Et₃N (9.90 g, 98.8 mmol)、异丁酰氯(4.17 g, 39.1 mmol)、干燥的 CH₂Cl₂ (30 mL)得到化合物 **8j**. 白色固体, 2.58 g, 收率 67%. m.p. 115.7~116.8 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 12.41 (brs, 1H), 3.52 (s, 2H), 2.74~2.75 (m, 1H), 2.59 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 1.97~2.03 (m, 2H), 1.48~1.53 (m, 2H), 1.01 (d, *J*=6.5 Hz, 6H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 126 MHz) δ : 176.3, 169.3, 69.3, 50.8, 41.6, 33.6, 31.3, 19.1. HRMS calcd for C₁₀H₁₆NO₃ [M+H]⁺ 198.1125, found 198.1124.

3.2.27 *O*-苄基-*N*-((*S*)-1-异丁酰基-2-取代吡咯烷-2-羧基)-*L*-苏氨酸苄酯(10a~10j)的合成

通用合成方法: 将化合物 **8a**~**8j** (1.0 equiv.)溶于干燥的 CH₂Cl₂ 中, 氮气保护下搅拌, 反应体系降温至 0 °C, 用注射器向体系中缓慢滴加 DIPEA (3.0 equiv.), 而后滴加化合物 **9·HCl** (1.0 equiv.; 根据文献[30]制备, ¹H NMR 与文献一致)的 CH₂Cl₂ 溶液. 加完后, 向反应体系中分批加入 HATU (1.5 equiv.), 而后反应体系在室温下继续搅拌直到 TLC 跟踪反应结束(一般需要 12 h). 反应体系倒入冰水中, 用 CH₂Cl₂ 萃取 3 次, 合并有机相, 依次用 0.1 mol·L⁻¹ 稀盐酸、饱和 NaHCO₃ 和饱和 NaCl 洗涤, 无水 MgSO₄ 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经硅胶柱层析 [*V*(EtOAc)/*V*(*n*-hexane)=0/100~50/50]纯化, 得到化合物 **10a**~**10j**, 该化合物直接用于下一步反应.

3.2.28 ((*S*)-1-异丁酰基-2-取代吡咯烷-2-羧基)-*L*-苏氨酸(11a~11j)的合成

通用合成方法 A(常温常压氢化): 化合物 **10a**~**10c**, **10e**~**10f** 或 **10i**~**10j** 溶于 MeOH 中, 加入 10% Pd/C (质量分数 5%), 按照标准程序在室温常压下(气球)加氢 12 h, TLC 显示反应未完全. 用硅藻土助滤除去催化剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去甲醇, 重新加入新 MeOH 及新 10% Pd/C (5%), 按照上述标准程序在室温常压下(气球)再加氢 12 h, TLC 显示反应完全. 用硅藻土助滤除去 10% Pd/C, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去甲醇, 得到的残余物用合适溶剂室温下打浆, 抽滤收集固体, 室温下真空干燥, 得到化合物 **11a**~**11c**, **11e**~**11f** 或 **11i**~**11j**.

通用合成方法 B(升温加压氢化): 化合物 **10d** 或 **10g**~**10h** 溶于 MeOH 中, 加入 10% Pd/C (5%), 按照标准程序在 40~45 °C 和 2 MPa 的条件下氢化 12 h, TLC 显示反应完全. 用硅藻土助滤除去催化剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去甲醇, 得到的残余物用合适溶剂室温下打浆, 抽滤收集固体, 室温下真空干燥, 得到化合物 **11d** 或 **11g**~**11h**.

((*S*)-1-异丁酰基-2-甲基吡咯烷-2-羧基)-*L*-苏氨酸 (**11a**): 从异丙醚/乙酸乙酯混合溶剂中打浆, 白色固体, 易吸潮因而未测熔点, 收率 33%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 7.08 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 4.05~4.12 (m, 2H), 3.68~3.72 (m, 1H), 3.32~3.65 (m, 1H), 2.65~2.71 (m, 1H), 2.16~2.21 (m, 1H), 1.83~1.92 (m, 2H), 1.73~1.78 (m, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.02 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 1.01 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.98 (d, *J*=6.5 Hz, 3H). HRMS calcd for C₁₄H₂₅N₂O₅ [M+H]⁺ 301.1758, found 301.1758. 该化合物含有一定杂质, 纯度不足以收集 ¹³C NMR.

((*S*)-1-异丁酰基-2-氟甲基吡咯烷-2-羧基)-*L*-苏氨酸 (**11b**): 从甲基叔丁基醚/异丙醇混合物中打浆, 白色固体, 收率 50%. m.p. 161.8~162.6 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 7.08 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 4.96 (dd, *J*=9.0 Hz and 48.5 Hz, 1H), 4.82 (dd, *J*=9.0 Hz and 47.0 Hz, 1H), 4.17 (dd, *J*=3.0 Hz and 9.0 Hz, 1H), 4.07~4.11 (m, 1H), 3.81~3.85 (m, 1H), 3.54~3.59 (m, 1H), 2.76 (septet, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.13~2.23 (m, 2H), 1.86~1.99 (m, 2H), 1.04 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 1.02 (d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.99 (d, *J*=7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 126 MHz) δ : 175.4, 171.5, 171.2 (d, *J*=5.7 Hz), 82.9 (d, *J*=169.3 Hz), 68.5 (d, *J*=18.8 Hz), 66.7, 57.1, 48.3, 33.8 (d, *J*=3.4 Hz), 31.9, 23.0, 20.4, 18.8, 18.7. HRMS calcd for C₁₄H₂₄FN₂O₅ [M+H]⁺ 319.1664, found 319.1663.

((*S*)-1-异丁酰基-2-乙基吡咯烷-2-羧基)-*L*-苏氨酸 (**11c**): 从异丙醚中打浆, 白色固体, 收率 73%. m.p.

164.2~168.4 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.59 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.07~4.11 (m, 2H), 3.73~3.77 (m, 1H), 3.46~3.51 (m, 1H), 2.76 (septet, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.20~2.26 (m, 2H), 1.90~1.97 (m, 1H), 1.71~1.85 (m, 3H), 1.02 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 1.02 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J=6.0$ Hz, 3H), 0.72 (t, $J=7.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 175.5, 173.7, 171.9, 70.9, 66.3, 57.5, 49.0, 34.2, 32.1, 26.1, 22.7, 20.3, 19.1, 18.9, 7.9. HRMS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 315.1914, found 315.1914.

((R)-1-异丁酰基-2-(2-氟乙基)吡咯烷-2-羰基)-L-苏氨酸(**11d**): 从异丙醚中打浆, 白色固体, 收率 45%. m.p. 136.4~137.9 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.35 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.46~4.54 (m, 1H), 4.37~4.44 (m, 1H), 4.06~4.11 (m, 2H), 3.75~3.79 (m, 1H), 3.54~3.60 (m, 1H), 2.71~2.78 (m, 1H), 2.40~2.57 (m, 1H), 2.20~2.25 (m, 1H), 1.96~2.02 (m, 1H), 1.72~1.94 (m, 3H), 0.99~1.03 (m, 9H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 175.5, 173.0, 171.8, 81.1 (d, $J=161.3$ Hz), 68.3 (d, $J=4.9$ Hz), 66.4, 57.5, 48.3, 35.8, 33.9 (d, $J=18.9$ Hz), 32.1, 22.8, 20.3, 18.9, 18.7. HRMS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{FN}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 333.1820, found 333.1817.

((R)-1-异丁酰基-2-正丙基吡咯烷-2-羰基)-L-苏氨酸(**11e**): 从异丙醚中打浆, 淡粉色固体, 收率 74%. m.p. 142.9~147.3 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.66 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.08~4.13 (m, 2H), 3.70~3.74 (m, 1H), 3.45~3.51 (m, 1H), 2.74 (septet, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.25~2.30 (m, 1H), 2.11~2.17 (m, 1H), 1.91~1.97 (m, 1H), 1.69~1.84 (m, 3H), 1.21~1.31 (m, 1H), 0.96~1.04 (m, 10H), 0.85 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 175.6, 173.7, 171.9, 70.6, 66.3, 57.5, 48.8, 35.9, 34.7, 32.2, 22.7, 20.3, 19.1, 18.9, 16.6, 14.4. HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 329.2071, found 329.2070.

((R)-1-异丁酰基-2-(3-氟丙基)吡咯烷-2-羰基)-L-苏氨酸(**11f**): 从甲基叔丁基醚/异丙醚/乙酸乙酯混合物中打浆, 淡黄色固体, 收率 58%. m.p. 140.5~142.5 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.58 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.44 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.35 (t, $J=6.3$ Hz, 1H), 4.07~4.12 (m, 2H), 3.73~3.77 (m, 1H), 3.49~3.54 (m, 1H), 2.75 (septet, $J=6.7$ Hz, 1H), 2.20~2.27 (m, 2H), 2.02~2.08 (m, 1H), 1.71~1.86 (m, 3H), 1.59~1.70 (m, 1H), 1.29~1.42 (m, 1H), 1.02 (d, $J=7.0$ Hz, 6H), 0.99 (d, $J=6.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 175.6, 173.4, 171.9, 84.0 (d, $J=162.9$ Hz), 70.0, 66.2, 57.5, 48.8,

34.8, 32.1, 29.3 (d, $J=5.4$ Hz), 24.7 (d, $J=19.5$), 22.7, 20.3, 19.1, 18.8. HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{FN}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 347.1977, found 347.1976.

((R)-1-异丁酰基-2-苄基吡咯烷-2-羰基)-L-苏氨酸(**11g**): 从甲基叔丁基醚中打浆, 白色固体, 收率 78%. m.p. 181.3~184.7 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.34 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.20~7.28 (m, 3H), 7.12~7.14 (m, 2H), 4.18 (dd, $J=3.0$ Hz and 8.0 Hz, 1H), 4.09~4.14 (m, 1H), 3.66 (d, $J=13.5$ Hz, 1H), 3.59~3.63 (m, 1H), 3.14 (d, $J=13.5$ Hz, 1H), 2.93~2.98 (m, 1H), 2.69 (septet, $J=6.7$ Hz, 1H), 2.08~2.14 (m, 1H), 1.96~2.02 (m, 1H), 1.55~1.64 (m, 1H), 1.12~1.20 (m, 1H), 1.08 (d, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.07 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 1.04 (d, $J=6.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 175.5, 173.2, 171.8, 137.1, 130.4, 127.8, 126.3, 70.2, 66.5, 57.4, 48.4, 37.3, 34.6, 32.2, 22.3, 20.3, 18.8. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 377.2071, found 377.2072.

((R)-1-异丁酰基-2-(甲氧基甲基)吡咯烷-2-羰基)-L-苏氨酸(**11h**): 从异丙醚/异丙醇混合物中打浆(−5 °C 冷却下), 白色固体, 收率 92%. m.p. 149.3~152.2 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.46 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 4.09~4.15 (m, 2H), 4.01 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 3.66~3.70 (m, 1H), 3.65 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 3.49~3.54 (m, 1H), 3.29 (s, 3H), 2.64~2.72 (m, 1H), 2.10~2.16 (m, 1H), 2.02~2.07 (m, 1H), 1.84~1.92 (m, 1H), 1.76~1.83 (m, 1H), 1.06 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J=6.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 175.1, 172.2, 172.0, 72.8, 68.7, 66.4, 58.8, 57.2, 48.4, 34.0, 31.9, 22.9, 20.6, 19.0, 18.7. HRMS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 331.1864, found 331.1863.

((2S,4S)-1-异丁酰基-2-甲基-4-氟吡咯烷-2-羰基)-L-苏氨酸(**11i**): 从甲基叔丁基醚中打浆, 白色固体, 收率 63%. m.p. 143.2~144.2 °C. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.30 (brs, $J=8.0$ Hz, 1H), 5.21~5.33 (m, 1H), 4.04~4.10 (m, 2H), 3.84~3.99 (m, 2H), 2.61~2.73 (m, 2H), 2.02~2.13 (m, 1H), 1.51 (s, 3H), 1.05 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 0.96 (d, $J=6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 175.6, 172.6, 171.8, 91.0 (d, $J=174.8$ Hz), 66.2 (d, $J=4.7$ Hz), 57.3, 54.0 (d, $J=22.8$ Hz), 44.4 (d, $J=20.0$ Hz), 32.0, 22.6, 19.8, 19.0, 18.5. HRMS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{FN}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 319.1664, found 319.1662.

(2-异丁酰基-2-氮杂双环[2.1.1]己烷-1-羰基)-L-苏氨酸(**11j**): 泡沫状固体, 收率 37%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 12.45 (brs, 1H), 7.27 (brs, 1H), 4.83 (brs,

1H), 4.18 (dd, $J=4.0$ Hz and 8.5 Hz, 1H), 4.06~4.10 (m, 1H), 3.54 (s, 2H), 2.76 (t, $J=3.0$ Hz, 1H), 2.60~2.65 (m, 1H), 1.97~2.00 (m, 2H), 1.60~1.66 (m, 2H), 1.09 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 0.99~1.02 (m, 6H). HRMS calcd for $C_{14}H_{23}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 299.1601, found 299.1600. 该化合物含有一定杂质, 纯度不足以收集 ^{13}C NMR.

3.2.29 (S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丁酰基-2-取代吡咯烷-2-甲酰胺(**1a~1j**)的合成

通用合成方法: 将化合物 **11a~11j** (1.0 equiv.)溶于干燥的 CH_2Cl_2 中, 依次加入 DIPEA (3.0 equiv.)、EDCI 盐酸盐(1.2 equiv.)、HOBt (1.2 equiv.)和 NH_4Cl (2.0 equiv.), 氮气保护下在室温下搅拌 12 h, TLC 检测反应完全. 反应体系倒入饱和 NaCl 溶液中, 用 CH_2Cl_2 萃取 3 次, 合并有机相, 无水 $MgSO_4$ 干燥. 抽滤除去干燥剂, 滤液在旋转蒸发仪上蒸去溶剂, 得到的残余物经柱层析 [$V(EtOAc)/V(n\text{-hexane})=100/0$]纯化, 并以甲基叔丁基醚室温下打浆, 抽滤收集固体, 室温下真空干燥即可得到目标化合物 **1a~1j**.

(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丁酰基-2-甲基吡咯烷-2-甲酰胺(**1a**): 白色固体, 收率 30%. m.p. $163.2 \sim 164.8$ °C. $[\alpha]_D^{20} - 36.6$ (c 1.01, MeOH); 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.11 (brs, 1H), 6.99 (brs, 1H), 6.79 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 4.92 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.19~4.24 (m, 1H), 3.88 (dd, $J=2.0, 8.5$ Hz, 1H), 3.78~3.82 (m, 1H), 3.67~3.72 (m, 1H), 2.74 (septet, $J=6.7$ Hz, 1H), 1.84~2.05 (m, 4H), 1.41 (s, 3H), 0.98~1.04 (m, 9H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 175.7, 173.3, 172.5, 66.5, 65.4, 58.1, 47.6, 38.9, 32.0, 23.3, 20.8, 20.5, 18.7, 18.6. HRMS calcd for $C_{14}H_{26}N_3O_4$ $[M+H]^+$ 300.1918, found 300.1917.

(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丁酰基-2-氟甲基吡咯烷-2-甲酰胺(**1b**): 白色固体, 收率 47%. m.p. $146.2 \sim 147.7$ °C. $[\alpha]_D^{20} - 29.8$ (c 1.04, MeOH); 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.15 (brs, 1H), 7.12 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 6.86 (brs, 1H), 4.96 (dd, $J=9.0$ Hz and 49.0 Hz, 1H), 4.91 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.73 (dd, $J=9.0$ Hz and 46.5 Hz, 1H), 4.17~4.23 (m, 1H), 3.91~3.96 (m, 2H), 3.53~3.58 (m, 1H), 2.82 (septet, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.25~2.30 (m, 1H), 1.90~2.10 (m, 3H), 1.00~1.04 (m, 9H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 176.5, 172.0, 171.3 (d, $J=7.1$ Hz), 82.8 (d, $J=169.0$ Hz), 68.2 (d, $J=18.4$ Hz), 65.5, 57.6, 48.5, 34.3 (d, $J=3.0$ Hz), 32.1, 23.3, 20.6, 18.7, 18.5; ^{19}F NMR (DMSO- d_6 , 471 MHz) δ : -234.04. HRMS calcd for $C_{14}H_{25}FN_3O_4$ $[M+H]^+$

318.1824, found 318.1823.

(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丁酰基-2-乙基吡咯烷-2-甲酰胺(**1c**): 白色固体, 收率 44%. m.p. $137.8 \sim 139.6$ °C. $[\alpha]_D^{20} - 21.8$ (c 1.01, MeOH); 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.12 (brs, 1H), 6.91 (brs, 1H), 6.88 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 4.96 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.15~4.21 (m, 1H), 3.89~3.93 (m, 2H), 3.48~3.53 (m, 1H), 2.82 (septet, $J=6.7$ Hz, 1H), 2.21~2.28 (m, 1H), 1.90~2.02 (m, 3H), 1.79~1.88 (m, 2H), 1.01~1.04 (m, 9H), 0.71 (t, $J=7.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 176.0, 173.7, 172.4, 69.8, 65.4, 58.0, 48.9, 35.0, 32.1, 25.5, 23.1, 20.7, 19.0, 18.8, 7.6. HRMS calcd for $C_{15}H_{28}N_3O_4$ $[M+H]^+$ 314.2074, found 314.2073.

(R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丁酰基-2-(2-氟乙基)吡咯烷-2-甲酰胺(**1d**): 白色固体, 收率 13%. m.p. $140.9 \sim 142.2$ °C. $[\alpha]_D^{20} - 11.1$ (c 0.99, MeOH); 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.13 (brs, 1H), 6.89~6.92 (m, 2H), 4.93 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.40~4.61 (m, 2H), 4.16~4.23 (m, 1H), 3.88~3.92 (m, 2H), 3.60~3.65 (m, 1H), 2.74~2.81 (m, 1H), 2.41~2.52 (m, 1H), 2.29~2.39 (m, 1H), 2.11~2.17 (m, 1H), 1.96~2.06 (m, 2H), 1.89~1.95 (m, 1H), 1.00~1.03 (m, 9H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 176.2, 173.0, 172.3, 81.2 (d, $J=160.7$ Hz), 67.7 (d, $J=4.9$ Hz), 65.4, 58.1, 48.1, 36.3, 33.8 (d, $J=19.0$ Hz), 32.1, 23.1, 20.7, 18.7, 18.6; ^{19}F NMR (DMSO- d_6 , 471 MHz) δ : -215.58. HRMS calcd for $C_{15}H_{27}FN_3O_4$ $[M+H]^+$ 332.1980, found 332.1977.

(R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丁酰基-2-正丙基吡咯烷-2-甲酰胺(**1e**): 白色固体, 收率 36%. m.p. $116.3 \sim 117.6$ °C. $[\alpha]_D^{20} - 13.3$ (c 1.13, MeOH); 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.12 (brs, 1H), 6.92 (brs, 1H), 6.87 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 4.96 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.15~4.21 (m, 1H), 3.87~3.91 (m, 2H), 3.48~3.54 (m, 1H), 2.76~2.84 (m, 1H), 2.15~2.21 (m, 1H), 1.97~2.03 (m, 2H), 1.89~1.96 (m, 1H), 1.75~1.88 (m, 2H), 1.26~1.36 (m, 1H), 1.01~1.03 (m, 9H), 0.90~0.98 (m, 1H), 0.85 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 176.0, 173.6, 172.5, 69.4, 65.4, 58.1, 48.8, 35.6, 35.3, 32.1, 23.2, 20.7, 18.9, 18.8, 16.2, 14.4. HRMS calcd for $C_{16}H_{30}N_3O_4$ $[M+H]^+$ 328.2231, found 328.2229.

(R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丁酰基-2-(3-氟丙基)吡咯烷-2-甲酰胺(**1f**): 白色固体, 收率 42%. m.p. $129.8 \sim 133.3$ °C. $[\alpha]_D^{20} - 14.3$ (c 0.98, MeOH); 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.13 (brs, 1H), 6.91 (brs, 1H), 6.90 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 4.96 (d, $J=5.5$ Hz,

1H), 4.42~4.46 (m, 1H), 4.33~4.37 (m, 1H), 4.15~4.21 (m, 1H), 3.89~3.93 (m, 2H), 3.52~3.57 (m, 1H), 2.81 (septet, $J=6.7$ Hz, 1H), 2.21~2.27 (m, 1H), 1.99~2.03 (m, 2H), 1.82~1.97 (m, 3H), 1.64~1.78 (m, 1H), 1.25~1.39 (m, 1H), 1.02 (d, $J=6.5$ Hz, 6H), 1.01 (d, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 176.1, 173.4, 172.4, 84.0 (d, $J=163.2$ Hz), 69.0, 65.4, 58.1, 48.7, 35.5, 32.1, 28.9 (d, $J=5.5$ Hz), 24.5 (d, $J=19.5$ Hz), 23.1, 20.7, 18.9, 18.7; ^{19}F NMR (DMSO- d_6 , 471 MHz) δ : -215.91. HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{FN}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 346.2137,

(*R*)-*N*-((2*S*,3*R*)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丁酰基-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺(**1g**): 白色固体, 收率 62%. m.p. 153.0~156.2 °C. $[\alpha]_D^{20} +119.8$ (c 1.16, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.23~7.30 (m, 3H), 7.19 (brs, 1H), 7.11 (d, $J=6.5$ Hz, 2H), 6.97 (brs, 1H), 6.83 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 4.99 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.19~4.24 (m, 1H), 3.95 (dd, $J=2.5$ Hz and 8.5 Hz, 1H), 3.68~3.71 (m, 1H), 3.59 (d, $J=13.5$ Hz, 1H), 3.12 (d, $J=13.5$ Hz, 1H), 2.81~2.86 (m, 1H), 2.71~2.76 (m, 1H), 2.14~2.19 (m, 1H), 1.96~2.01 (m, 1H), 1.60~1.67 (m, 1H), 1.12~1.19 (m, 1H), 1.09 (d, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.05 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 1.05 (d, $J=6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 176.3, 173.3, 172.4, 137.2, 130.6, 128.0, 126.6, 69.9, 65.5, 58.1, 48.5, 37.0, 35.2, 32.3, 22.6, 20.8, 18.9, 18.7. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 376.2231, found 376.2233.

(*R*)-*N*-((2*S*,3*R*)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丁酰基-2-(甲氧基甲基)吡咯烷-2-甲酰胺(**1h**): 白色固体, 收率 20%. m.p. 105.3~108.8 °C. $[\alpha]_D^{20} -16.8$ (c 1.01, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.13 (brs, 1H), 7.07 (d, $J=6.5$ Hz, 1H), 6.95 (brs, 1H), 5.00 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 4.16~4.21 (m, 1H), 3.89~3.93 (m, 1H), 3.90 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 3.82~3.86 (m, 1H), 3.73 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 3.23 (s, 3H), 2.76 (septet, $J=6.8$ Hz, 1H), 2.19~2.25 (m, 1H), 1.93~2.02 (m, 2H), 1.80~1.88 (m, 1H), 0.98~1.03 (m, 9H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 176.4, 172.4, 172.3, 71.9, 68.9, 65.6, 59.0, 57.9, 48.8, 34.7, 32.2, 23.4, 20.7, 18.8, 18.7. HRMS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 330.2023, found 330.2022.

(2*S*,4*S*)-*N*-((2*S*,3*R*)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-异丁酰基-2-甲基-4-氟吡咯烷-2-甲酰胺(**1i**): 白色固体, 收率 42%. m.p. 180.2~181.3 °C. $[\alpha]_D^{20} -8.2$ (c 1.10, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.14 (brs, 1H), 6.95 (brs, 1H), 6.83 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 5.29~5.41 (m, 1H), 5.00 (d, $J=4.5$ Hz, 1H), 4.19~4.24 (m, 1H), 4.10~

4.17 (m, 1H), 3.83~3.94 (m, 1H), 3.80 (d, $J=2.0$ Hz and 8.5 Hz, 1H), 2.77 (septet, $J=6.7$ Hz, 1H), 2.35~2.43 (m, 1H), 2.16~2.28 (m, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.04 (d, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.00 (d, $J=7.0$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 176.4, 172.6, 172.2, 91.7 (d, $J=174.4$ Hz), 65.6, 65.2, 58.3, 53.6 (d, $J=22.2$ Hz), 45.1 (d, $J=20.0$ Hz), 32.1, 22.2, 20.4 (d, $J=2.5$ Hz), 18.9, 18.3; ^{19}F NMR (DMSO- d_6 , 471 MHz) δ : -172.18. HRMS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{FN}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 318.1824, found 318.1822.

N-((2*S*,3*R*)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁烷-2-基)-2-异丁酰基-2-氮杂双环[2.1.1]己烷-1-甲酰胺(**1j**): 白色固体, 收率 67%. m.p. 152.3~153.0 °C. $[\alpha]_D^{20} -41.5$ (c 1.06, MeOH); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.67 (brs, 1H), 7.21 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.09 (brs, 1H), 4.77 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.23~4.26 (m, 1H), 3.96 (dd, $J=2.5$ Hz and 8.5 Hz, 1H), 3.57~3.60 (m, 2H), 2.77~2.78 (m, 1H), 2.65 (septet, $J=6.6$ Hz, 1H), 1.99~2.04 (m, 2H), 1.74~1.78 (m, 1H), 1.56~1.61 (m, 1H), 1.01~1.05 (m, 9H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 126 MHz) δ : 176.3, 172.4, 167.7, 71.0, 65.6, 58.3, 51.3, 42.0, 41.5, 33.2, 31.6, 20.4, 19.1, 19.0. HRMS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 298.1761, found 298.1761.

3.3 体外活性测试

本研究合成的化合物 **1a~1j** 对 NMDA 受体的体外部分激动作用采用在稳定表达人 NR1/NR2B NMDA 受体的 HEK-293 细胞系上, 进行全细胞手动膜片钳记录 **1a~1j** 对 NMDA 受体电流影响的方法来测试。

稳定表达人 NR1/NR2B 的 NMDA 受体的 HEK-293 细胞(基因信息: NR1, NM_007327; NR2B, NM_000834)在 DMEM 培养基(含有 10%胎牛血清及 10 $\mu\text{g/mL}$ 杀稻瘟菌素, 100 $\mu\text{g/mL}$ Zeocin 以及 200 $\mu\text{g/mL}$ 潮霉素 B)中复苏, 培养温度为 37 °C, 二氧化碳浓度为 5%。而后于 6 cm 细胞培养皿里在上述培养基中继续传代。膜片钳检测试验之前, 细胞用 0.25%-胰蛋白酶-EDTA 溶液分离, 将 1.5×10^4 细胞铺到盖玻片上, 在 24 孔板中培养(最终体积 500 μL), 加四环素诱导, 同时加 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 死亡相关蛋白(DAP-5), 18 h 后进行检测。膜片钳检测记录细胞外液: 140 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl, 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES), 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ *D*-葡萄糖, NaOH 调节 pH=7.4; 细胞内液: 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, 110 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ CsMes, 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES, 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙二醇双四乙酸(EGTA), 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{-ATP}$, 0.2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{-GTP}$, CsOH 调节 pH=7.2。全细胞膜片钳

记录 NMDA 受体电流的电压刺激方案如下: 当形成全细胞封接后细胞膜电压钳制于 -70 mV , 在 Gap-free 模式下记录 NMDA 受体电流。

(1) 当待测化合物为 NYX-2925 或者本研究新合成的 **1a~1j** 时: 待测化合物测试时依次给予细胞表面甘氨酸 $0.05\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $0.3\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液、从低到高浓度的待测化合物 ($0.1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + 甘氨酸 $0.05\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $0.3\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液和甘氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液, 记录 NMDA 受体稳态电流值。试验数据由 EPC-10 放大器 (HEKA) 进行采集并储存于 PatchMaster (HEKA) 软件中。

将每一个药物浓度与激动剂甘氨酸 $0.05\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $0.3\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 共同作用后的电流峰值和激动剂甘氨酸 $0.05\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $0.3\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的电流峰值进行归一化, 然后计算每一个药物浓度对应的激动效应, 即待测药物激动效应 $= C_i/C_0$ 。其中, C_i 为每一个药物浓度与激动剂甘氨酸 $0.05\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $0.3\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 共同作用后的电流峰值, C_0 为激动剂甘氨酸 $0.05\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $0.3\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的电流峰值。

(2) 当待测化合物为 D-AP5 时: 待测化合物测试时依次给予细胞表面甘氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液、待测化合物 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + 甘氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液和甘氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液, 记录 NMDA 受体稳态电流值。试验数据由 EPC-10 放大器 (HEKA) 进行采集并储存于 PatchMaster (HEKA) 软件中。

将待测化合物与激动剂甘氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 共同作用后的电流峰值和激动剂甘氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的电流峰值进行归一化, 然后计算待测化合物对应的激动效应, 即待测药物激动效应 $= C_i/C_0$ 。其中, C_i 为待测药物与激动剂甘氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 共同作用后的电流峰值, C_0 为激动剂甘氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + L-谷氨酸 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的电流峰值。

对每一个待测化合物的浓度抑制率计算平均数, 测试结果见表 1。

辅助材料(Supporting Information) 实验部分中出现的所有的 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、 ^{19}F NMR 和 HRMS 数据的原始图谱。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

[1] Sheldon, B. L.; Olmsted, Z. T.; Sabourin, S.; Heydari, E.; Harland,

- T. A.; Pilitsis, J. G. *Brain Sci.* **2022**, *12*, 1727.
- [2] Mitsikostas, D.-D.; Moka, E.; Orrillo, E.; Aurilio, C.; Vadalouca, A.; Paladini, A.; Varrassi, G. *Cureus* **2022**, *14*, e22419.
- [3] Haanpaa, M. L.; Backonja, M. M.; Bennett, M. L.; Bouhassira, D.; Cruccu, G.; Hansson, P. T.; Jensen, T. S.; Kauppila, T.; Rice, A. S. C.; Smith, B. H.; Treede, R. D.; Baron, R. *Am. J. Med.* **2009**, *122*, S13.
- [4] Finnerup, N. B.; Attal, N.; Haroutounian, S.; McNicol, E.; Baron, R.; Dworkin, R. H.; Gilron, I.; Haanpaa, M.; Hansson, P.; Jensen, T. S.; Kamerman, P. R.; Lund, K.; Moore, A.; Raja, S. N.; Rice, A. S. C.; Rowbotham, M.; Sena, E.; Siddall, P.; Smith, B. H.; Wallace, M. *Lancet Neurol.* **2015**, *14*, 162.
- [5] Karakas, E.; Furukawa, H. *Science* **2014**, *34*, 992.
- [6] Vyklícký, V.; Korinek, M.; Smejkalová, T.; Balik, A.; Krausová, B.; Kaniakova, M.; Lichnerová, K.; Cerný, J.; Krusek, J.; Dittert, I.; Horák, M.; Vyklícký, L. *Physiol. Res.* **2014**, *63*, S191.
- [7] Ultenius, C.; Linderöth, B.; Meyerson, B. A.; Wallin, J. *Neurosci. Lett.* **2009**, *399*, 85.
- [8] Traynelis, S. F.; Wollmuth, L. P.; McBain, C. J.; Menniti, F. S.; Vance, K. M.; Ogden, K. K.; Hansen, K. B.; Yuan, H. J.; Myers, S. J.; Dingledine, R. *Pharmacol. Rev.* **2010**, *62*, 2010.
- [9] Lefevre, Y.; Amadio, A.; Vincent, P.; Descheemaeker, A.; Oliet, S. H. R.; Dallel, R.; Voisin, D. L. *Neurosci. Lett.* **2015**, *603*, 42.
- [10] Collins, S.; Sigtermans, M. J.; Dahan, A.; Zuurmond, W. W. A.; Perez, R. S. G. M. *Pain Med.* **2010**, *11*, 1726.
- [11] Parsons, C. G. *Eur. J. Pharmacol.* **2001**, *429*, 71.
- [12] Hood, W. F.; Compton, R. P.; Monahan, J. B. *Neurosci. Lett.* **1989**, *98*, 91.
- [13] Wood, P. L.; Mahmood, S. A.; Moskal, J. R. *NeuroReport* **2008**, *19*, 1061.
- [14] Ghoreishi-Haack, N.; Priebe, J. M.; Aguado, J. D.; Colechio, E. M.; Burgdorf, J. S.; Bowers, M. S.; Cearley, C. N.; Khan, M. A.; Moskal, J. R. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2018**, *366*, 485.
- [15] Goettig, P.; Koch, N. G.; Budisa, N. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 14035.
- [16] Xiong, B.; Wang, Y.; Chen, Y.; Xing, S.; Liao, Q.; Chen, Y.; Li, Q.; Li, W.; Sun, H. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 13152.
- [17] Madsen, T. M.; Khan, M. A.; Arghavani, M.; Bauer P.; Mar E. *US 20210139489*, **2021**.
- [18] Harris, P. W. R.; Brimble, M. A.; Muir, V. J.; Lai, M. Y. H.; Callis, D. J. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10018.
- [19] Hu, D.; Han, G.; Li, X.; Ren, H.; Yue, L.; Guo, L.; Feng, J. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1863 (in Chinese).
(胡冬燕, 韩广田, 李喜安, 任华忠, 岳李荣, 郭力, 封家福, 有机化学, **2022**, *42*, 1863.)
- [20] Hiroaki, O.; Yasushi, I.; Shun-Ichi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1999**, *72*, 2737.
- [21] Leroy, J.; Porhiel, E.; Bondon, A. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6713.
- [22] Mykhailiuk, P. K.; Kubyshevskii, V.; Bach, T.; Budisa, N. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 8831.
- [23] Pothula, S.; Kato, T.; Liu, R.-J.; Wu, M.; Gerhard, D.; Shinohara, R.; Sliby, A.-N.; Chowdhury, G. M. I.; Behar, K. L.; Sanacora, G.; Banerjee, P.; Duman, R. S. *Mol. Psychiatr.* **2021**, *26*, 5097.
- [24] Lodge, D.; Watkins, J. C.; Bortolotto, Z. A.; Jane, D. E.; Volianskis, A. *Neurochem. Res.* **2019**, *44*, 516.
- [25] Amedjkouh, M.; Ahlberg, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 2229.
- [26] Feng, S.; Liang, C. E.; Liu, Y. F.; Shen, H.; Tan, X. F.; Wu, J.; Chen, D. D.; Li, C.; Wang, L. *WO 2020053249*, **2020**.
- [27] Shinada, T.; Yoshida, H.; Ohfuné, Y. *Synthesis* **2009**, *22*, 3751.
- [28] Macharia, J.; Wambua, V.; Hong, Y.; Harris, L.; Hirschi, J. S.; Evans, G. B.; Vetticatt, M. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2017**, *56*, 8756.
- [29] Hughes, P.; Clardy, J. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 4795.
- [30] Khan, M. A.; Brodowski, M. *WO 2017201285*, **2017**.

(Lu, Y.)