

ROCK 激酶抑制剂的硝基氧衍生物

技术领域

本发明涉及新的杂环 ROCK 激酶抑制剂, 更具体的, 本发明涉及 ROCK 激酶抑制剂的硝基氧衍生物, 这些化合物可用于治疗青光眼和视网膜疾病。

背景技术

Rho-相关的卷曲螺旋型蛋白激酶(ROCK), 属于丝氨酸-苏氨酸激酶的 AGC(PKA/PKG/PKC) 家族。已经描述了 ROCK 的两种人同种型, ROCK-I (也被称作 p160ROCK 或 ROK β) 和 ROCK-II (ROK α) 是大约 160kDa 蛋白, 其含有一个 N-端 Ser/Thr 激酶结构域, 继之以一个卷曲螺旋结构、一个普列克底物蛋白同源性结构域和在 C-端处的一个富含半胱氨酸的区域(Multifunctional kinases in cell behaviour. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2003(4):446-456)。

Rho 属于小分子单聚体 GTPase 超家族, 是 Ras 超家族的哺乳动物基因同系物, 通过其下游最主要的效应分子 Rho 激酶(Rho-associated coiled-coil containing protein kinase, ROCK), 来调节细胞肌动蛋白骨架的重组, 从而广泛参与细胞有丝分裂、细胞骨架调整、平滑肌细胞收缩、神经再生、肿瘤细胞浸润、细胞凋亡的调节等一系列生物学过程。Rho/ROCK 激活后可以作用于多种底物, 从而产生生物学过程。最主要的两种底物是肌球蛋白轻链(MLC)和肌球蛋白轻链磷酸酶(MLCP), MLC 的磷酸化水平是决定平滑肌收缩程度的一个重要因素。肌球蛋白轻链激酶(MLCK)磷酸化 MLC 的 Ser-19 位点, 导致平滑肌收缩; MLCP 的抑制可以使 MLC 的磷酸化和平滑肌的收缩进一步增强。ROCK 被激活以后, 本身可以将 MLC 磷酸化而发生肌丝收缩作用; 同时也能将 MLCP 磷酸化, 使 MLCP 失活, 导致细胞胞浆内 MLC 磷酸化程度增高, 间接促进肌丝收缩。

在动物模型中 Rho 激酶活性的抑制展现出治疗人类疾病的多种益处, 包括心血管疾病如肺动脉高压、高血压、动脉粥样硬化、心脏肥大、高血压、脑缺血、脑血管痉挛等, 和中枢神经系统病症如神经元变性等, 以及肿瘤。研究表明 ROCK 表达和活性在自发性高血压大鼠中有所升高, 说明其与这些动物高血压的发生具有关联(Involvement of Rho-kinase in hypertensive vascular disease: a novel therapeutic target in hypertension. FASEB J., 2001, 15(6):1062-4)。ROCK 抑制剂 Y-27632 可使三种大鼠高血压模型(自发性高血压、肾性高血压、醋酸脱氧皮质酮盐型高血压)中的血压显著降低, 而对对照大鼠的血压作用较小(Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension[J]. Nature, 1997, 389(6654):990-4)。也有研究表明 ROCK 抑制剂对肺动脉高压具有较好的作用(Acute vasodilator effects of a Rho-kinase inhibitor, fasudil in patients with severe pulmonary hypertension. Heart, 2005;91(3):391-2)。

ROCK 活性是白血球-血小板-内皮相互作用、白血球外渗和水肿中的重要信号传递机制。内皮细胞中 Rho 激酶的过度活化会造成有利于炎症细胞募集的细胞-细胞连接部的破坏所引起的泄漏。总之, 这些证据指出了 ROCK 在与急性和慢性炎症有关的病理学状况以及自身免疫疾病中的作用 (Isoform-specific targeting of ROCK proteins in immune cells. Small GTPases. 2016; 7(3):173-177)。ROCK 抑制在类风湿性关节炎和狼疮的实验模型中的有益效果的得到动物实验的验证 (Rho kinase inhibitors and their application to inflammatory disorders. Curr. Top. Med. Chem. 2009 (9): 704-723; Antinociceptive effects of AS1892802, a novel rho kinase inhibitor, in rat models of inflammatory and noninflammatory arthritis. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2010, 334: 955-963; Administration of fasudil, a ROCK inhibitor, attenuates disease in lupus-prone NZB/W F1 female mice. Lupus. 2012; 21(6):656-61)。法舒地尔对 T-细胞迁移的抑制作用可能扩大它作为多发性硬化的新疗法的临床应用 (Therapeutic potential of experimental autoimmune encephalomyelitis by Fasudil, a Rho kinase inhibitor. J Neurosci Res. 2010; 88(8):1664-72)。累积的证据也证实, ROCK 在调节炎症肠病(IBD)的发病机制的 3 个疾病因素中起关键作用: 肠屏障的破坏, 肠内容物向粘膜免疫细胞的暴露, 和异常的免疫应答 (Role of Rho kinase signal pathway in inflammatory bowel disease. Int J ClinExp Med. 2015; 8(3):3089-3097)。

目前已上市的 ROCK 抑制剂药物有 Asahi Kasei 公司的 Eril(适用于脑血管痉挛的治疗); Kowa 公司的 Glanatec(适用于高血压症和青光眼的治疗, 仅在日本获批), 美国 Aerie 公司的青光眼新药 Rhopressa

(netarsudil) 2017 年在美国获批用于治疗罹患开角型青光眼或高眼压的患者，降低他们的眼内压。Rhopressa 是一款全新的每日一次滴眼液。

一氧化氮 (NO) 是重要的细胞间信息传导因子。一氧化氮 (NO) 可以通过一氧化氮合成酶在生物体内合成，或者通过由药物 (如硝化甘油, Latanoprostene Bunod 含硝基的前列腺素药物) 释放出来。NO 结合可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC)，然后将鸟苷三磷酸转化为环鸟苷单磷酸 (cGMP)。cGMP 是第二信使，调节平滑肌松弛和血管舒张以及许多其他重要的生物学过程，例如血小板抑制和细胞生长以及差异化。一氧化氮在调节视神经乳头血流量和 IOP 中具有重要的生理作用。在视神经头中，NO 供体通过放松平滑肌来降低血管阻力，导致局部血管舒张和视神经头血流量增加。反之，NO 通路受损会降低视神经头部的血流量，从而导致缺血。

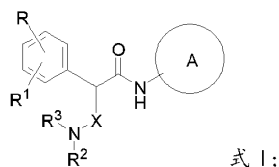
一氧化氮在调节眼睛眼内压 (IOP) 中具有重要的生理作用。例如，内皮一氧化氮合成酶 (eNOS) 存在于葡萄膜血管系统, Schlemm 管和睫状体的内皮中。已知一氧化氮会增加人的前段的小梁流出系统 (TM)，而 NO 供体在动物模型中会降低 IOP。同时，过表达 eNOS 的小鼠的 IOP 较低。相比之下，eNOS 敲除小鼠 (无功能 eNOS 基因的动物，因此没有内源性 eNOS) 的 IOP 升高，而 sGC 敲除小鼠会有 IOP 升高和视神经变性。NO 降低 IOP 的机制似乎是通过抑制肌动蛋白-肌球蛋白相互作用，从而使 TM 和 Schlemm 管中的细胞松弛，导致水流出增加和 IOP 降低。

因此进行开发出同时对 ROCK 激酶有抑制作用，又是 NO 供体的小分子药物，可能会达到比单一功能小分子更好的降低眼睛内压 (IOP) 效果，具有十分重要的社会和经济意义。

发明内容

本发明的目的在于提供一种新型的对 ROCK 激酶有高活性的抑制剂，同时又是 NO 供体的小分子药物，及其制备方法和用途。

本发明提供了一种 NO 供体的小分子化合物，其特征在于：为由如下结构式 I 所示的化合物或其立体异构体，几何异构体，互变异构体，消旋体，氘代同位素衍生物，水合物，溶剂化物，代谢产物以及药学上可接受的盐或前药：



式 I；

其中，环 A 为取代或未取代的杂芳环；

X 选自 $(CH_2)_n$ ，其中 n 选自 0、1、2、3；

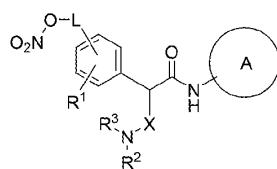
R 为末端-O-NO₂的取代基；

R' 选自氢、羟基、卤素、氨基、氰基、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的烯基，取代或未取代的炔基，取代或未取代的杂烷基；

R²、R³ 分别独立地选自氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、氨基保护基；

或者，R² 与 R³ 相连构成取代或未取代的环杂烷基。

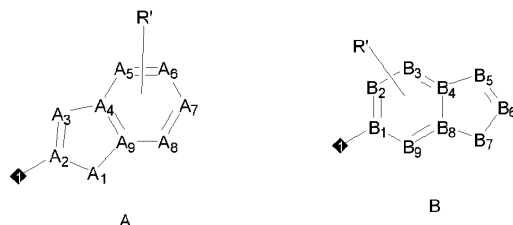
进一步地，本发明提供了一种 NO 供体的小分子化合物，其特征还在于，为由如下结构式所示的化合物或其立体异构体，几何异构体，互变异构体，消旋体，氘代同位素衍生物，水合物，溶剂化物，代谢产物以及药学上可接受的盐或前药：



L 是一个链接基团，选自取代或未取代的亚烷基，取代或未取代的亚杂烷基，选自取代或未取代的亚烷氧基，取代或未取代的环烷基，取代或未取代的杂环基，取代或未取代的芳基，取代或未取代的杂芳基、

取代或未取代的酯基。

进一步地，本发明提供一种 NO 供体的小分子化合物，其特征还在于，所述环 A 为选自式 A，或式 B；



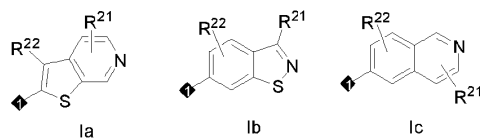
R' 为杂芳环上一个或多个取代的取代基团；

所述取代基团选自氢、羟基、卤素、氨基、氰基、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的杂烷基；

A₁、A₂、A₃、A₄、A₅、A₆、A₇、A₈、A₉ 中的至少一个选自氮、硫、氧；

B₁、B₂、B₃、B₄、B₅、B₆、B₇、B₈、B₉ 中的至少一个选自氮、硫、氧。

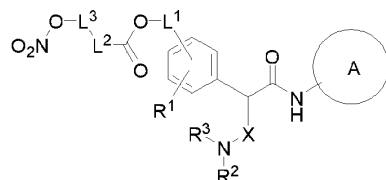
进一步地，本发明提供一种 NO 供体的小分子化合物，其特征还在于，所述环 A 为选自式 Ia，或式 Ib，或式 Ic；



R²¹ 选自氢、羟基、卤素、氨基、氰基、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的杂烷基；

R²² 选自氢、卤素、氰基、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷氧基。

进一步地，本发明提供一种 NO 供体的小分子化合物，其特征还在于，为由如下结构式所示的化合物或其立体异构体，几何异构体，互变异构体，消旋体，氘代同位素衍生物，水合物，溶剂化物，代谢产物以及药学上可接受的盐或前药：

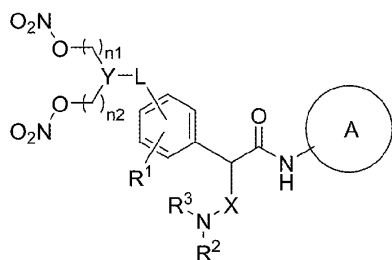


其中，L¹ 为化学键，或是取代或未取代的亚烷基；

L² 选自取代或未取代的亚烷基，取代或未取代的亚烷氧基，取代或未取代的环烷基，取代或未取代的芳基，取代或未取代的杂芳基；

L³ 为化学键，或取代或未取代的亚烷氧基。

进一步地，本发明提供一种 NO 供体的小分子化合物，其特征还在于，为由如下结构式所示的化合物或其立体异构体，几何异构体，互变异构体，消旋体，氘代同位素衍生物，水合物，溶剂化物，代谢产物以及药学上可接受的盐或前药：

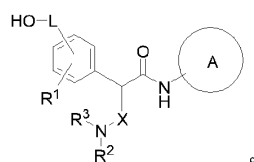


n_1 为 0, 或自然数;

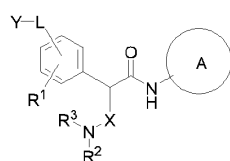
n_2 为 0, 或自然数;

Y 选自取代或未取代的烷基, 取代或未取代的环烷基, 取代或未取代的杂环基, 取代或未取代的芳基, 取代或未取代的杂芳基。

进一步地, 本发明提供一种 NO 供体的小分子化合物, 其特征还在于, 将如下结构所示的化合物中的羟基经硝化反应获得; 硝化条件可以是浓硝酸, 或者通过硝酸在乙酸酐中进行。

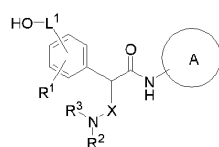


进一步地, 本发明提供一种 NO 供体的小分子化合物, 其特征还在于, 将如下结构所示的化合物中的卤素经硝化反应获得; 硝化条件可以是硝酸银作用。

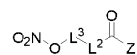


Y 为卤素。

进一步地, 本发明提供一种 NO 供体的小分子化合物, 其特征还在于, 由如下式 IIIa 与式 IIIb 所示的化合物进行偶合反应获得:



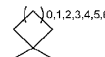
IIIa



IIIb

Z 为卤素。

进一步地, 本发明提供一种 NO 供体的小分子化合物, 其特征还在于, 作为 ROCK 激酶的抑制剂使用。本发明中所提及的取代的烷基指烷基碳链上的氢原子中的一个或一个以上为其他基团所取代, 此处所

指的其他基团可以但不限于为环烷基 (以类似于   ) 0.1,2,3,4,5,6 等的形式进行取代, 该环烷基环上的任何氢原子还可以为卤素、氰基、烷基、羟基、羧基等基团所取代)、杂环烷基 (即、在前述的环烷基的基础上, 其烷基环上的至少一个碳原子为氧、硫、氮所替代)、卤素 (F, Cl, Br, I)、

羧基、氰基(-CN)、磺酸基(-SO₃H)、磺酰基(-SO₂R_a, R_a为氢、烷基、芳基等)、炔基(-C≡CH, -C≡CR_b, R_b为烷基、芳基等)、酰胺基(-C(O)NR_xR_y, R_xR_y为烷基、芳基等)、酯基(-C(O)O-R_z, R_z为烷基、芳基等)、芳基、杂芳基、-O-NO₂等等基团;

本发明中所提及的取代的杂烷基为上述取代的烷基中的一个或多个碳为氮、氧、硫等杂原子替代;

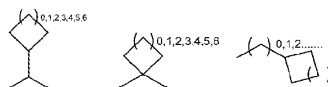
本发明中所提及的取代的环烷基指烷基环上的一个或多个氢原子为其他基团所取代, 此处所指的其他基团可以但不限于为烷基、取代的烷基(同上)、卤素(F, Cl, Br, I)、羧基、氰基(-CN)、磺酸基(-SO₃H)、磺酰基(-SO₂R_a, R_a为氢、烷基、芳基等)、炔基(-C≡CH, -C≡CR_b, R_b为烷基、芳基等)、酰胺基(-C(O)NR_xR_y, R_xR_y为烷基、芳基等)、酯基(-C(O)O-R_z, R_z为烷基、芳基等)、芳基、杂芳基、-O-NO₂等等基团;

本发明中所提及的取代的杂环烷基指上述取代的环烷基环上的至少一个碳原子为氮、氧、硫等杂原子取代;

本发明中所提及的取代的烯基指-C=C-结构中的氢原子为其他基团所取代, 此处的其他基团可以但不限于为烷基、取代的烷基(同上)、卤素(F, Cl, Br, I)、羧基、氰基(-CN)、酰胺基(-C(O)NR_xR_y, R_xR_y为烷基、芳基等)、酯基(-C(O)O-R_z, R_z为烷基、芳基等)、芳基、杂芳基、-O-NO₂等等基团;

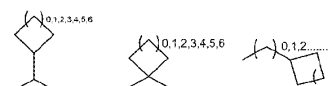
本发明中所提及的取代的炔基指-C≡CH结构中的氢原子为其他基团所取代, 此处的其他基团可以但不限于为烷基、取代的烷基(同上)、卤素(F, Cl, Br, I)、羧基、氰基(-CN)、酰胺基(-C(O)NR_xR_y, R_xR_y为烷基、芳基等)、酯基(-C(O)O-R_z, R_z为烷基、芳基等)、芳基、杂芳基、-O-NO₂等等基团;

本发明中所提及的取代的亚烷基指-(CH₂)_n (0, 自然数)-结构中的一个或多个氢原子为其他基团所取代,



此处所指的其他基团可以但不限于为环烷基(以类似于进行取代, 该环烷基环上的任何氢原子还可以为卤素、氰基、烷基、羟基、羧基等基团所取代)、杂环烷基(即、在前述的环烷基的基础上, 其烷基环上的至少一个碳原子为氧、硫、氮所替代)、卤素(F, Cl, Br, I)、羧基、氰基(-CN)、磺酸基(-SO₃H)、磺酰基(-SO₂R_a, R_a为氢、烷基、芳基等)、炔基(-C≡CH, -C≡CR_b, R_b为烷基、芳基等)、酰胺基(-C(O)NR_xR_y, R_xR_y为烷基、芳基等)、酯基(-C(O)O-R_z, R_z为烷基、芳基等)、芳基、杂芳基、-O-NO₂等等基团, 此外, 多个碳原子之间还可由桥键连接;

本发明中所提及的取代的亚烷氧基-O-(CH₂)_n (0, 自然数)-或-(CH₂)_n (0, 自然数)-O-(CH₂)_n (0, 自然数)-结构中的一个或多个氢原子为其他基团所取代, 此处所指的其他基团可以但不限于为环烷基(以类似于



进行取代, 该环烷基环上的任何氢原子还可以为卤素、氰基、烷基、羟基、羧基等基团所取代)、杂环烷基(即、在前述的环烷基的基础上, 其烷基环上的至少一个碳原子为氧、硫、氮所替代)、卤素(F, Cl, Br, I)、羧基、氰基(-CN)、磺酸基(-SO₃H)、磺酰基(-SO₂R_a, R_a为氢、烷基、芳基等)、炔基(-C≡CH, -C≡CR_b, R_b为烷基、芳基等)、酰胺基(-C(O)NR_xR_y, R_xR_y为烷基、芳基等)、酯基(-C(O)O-R_z, R_z为烷基、芳基等)、芳基、杂芳基、-O-NO₂等等基团;

本发明中所提及的取代的亚杂烷基指上述取代的亚烷基中的一个或多个碳原子为氮、氧、硫等杂原子替代;

本发明中所提及的取代的芳基指苯、萘、蒽等五元及以上的芳香环或苯并芳香环, 环上的一个或多个氢原子为其他基团所取代, 此处所指的其他基团可以为烷基、取代的烷基(同上)、卤素(F, Cl, Br, I)、羧基、氰基(-CN)、磺酸基(-SO₃H)、磺酰基(-SO₂R_a, R_a为氢、烷基、芳基等)、炔基(-C≡CH, -C≡CR_b, R_b为烷基、芳基等)、酰胺基(-C(O)NR_xR_y, R_xR_y为烷基、芳基等)、酯基(-C(O)O-R_z, R_z为烷基、芳基等)、芳基、杂芳基等等基团。

本发明中所提及的杂芳基指噻吩、吡咯、吡啶、咪唑、呋喃、苯并咪唑、喹啉等五元及以上的芳香杂环或苯并芳香杂环。

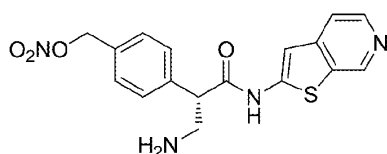
本发明中所提及的取代的杂芳基指噻吩、吡咯、吡啶、咪唑、呋喃、苯并咪唑、喹啉等五元及以上的

芳香杂环或苯并芳香杂环，环上的一个或多个氢原子为其他基团所取代，此处所指的其他基团可以为烷基、取代的烷基（同上）、卤素（F, Cl, Br, I）、羧基、氰基（-CN）、磺酸基（-SO₃H）、磺酰基（-SO₂R_s, R_s为氢、烷基、芳基等）、炔基（-C≡CH, -C≡CR_t, R_t为烷基、芳基等）、酰胺基（-C(O)NR_xR_y, R_xR_y为烷基、芳基等）、酯基（-C(O)OR_z, R_z为烷基、芳基等）、芳基、杂芳基、-O-NO₂等等基团。

本发明中所提及的取代的酯基指-O-C(O)-R_s-或-L_s-O-C(O)-R_s-或-O-C(O)-O-R_s-或-L_s-O-C(O)-O-R_s-的形态，其中L_s为亚烷基（取代的亚烷基）、芳基、环烷基（取代的环烷基）；R_s为亚烷基（取代的亚烷基）、芳基、环烷基（取代的环烷基）。

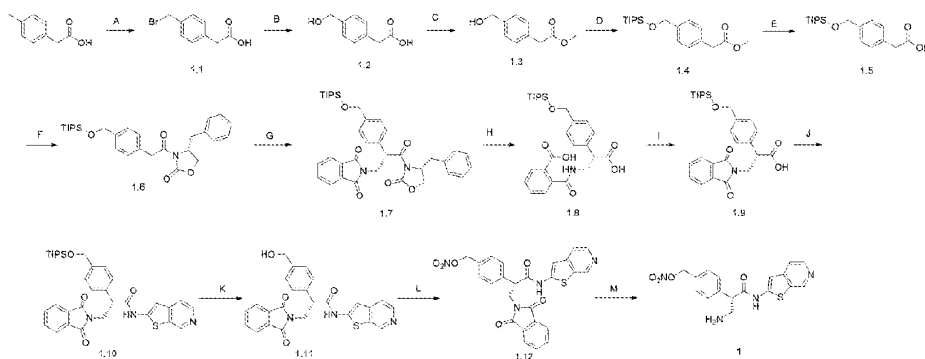
具体实施方式

实施例1



(S)-4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基硝酸酯

具体反应方程式如下所示：



步骤A：2-(4-(溴甲基)苯基)乙酸（化合物1.1）

将4-甲基苯乙酸（100g, 670mmol）溶于乙腈（1L）中，将N-溴代丁二酰亚胺（125.2g, 703.5mmol）和偶氮二异丁腈（2.2g, 13.4mmol）溶于反应液中，在氮气的保护下80°C反应3小时，反应完毕后，将反应液降至室温，有大量固体析出，过滤，滤饼依次用石油醚/乙酸乙酯（1:1）（200mL），饱和亚硫酸氢钠（200mL），水（200mL），石油醚（200mL）洗涤，50°C烘干得到化合物1.1（82g，收率：54%，白色固体）。LCMS ESI (+) m/z : 229.0/231.0 (M+1)，直接用于下一步反应。

步骤B：2-(4-(羟甲基)苯基)乙酸（化合物1.2）

将化合物1.1（82g, 358.1mmol）加入水（300mL）中，加热100°C反应2小时，反应变澄清，然后冷却至室温，冰浴继续降温至0°C，析出白色固体，过滤，滤饼用水洗涤2次，50°C烘干得到化合物1.2（40g，收率：67%，白色固体）直接用于下一步反应。

步骤C：2-(4-(羟甲基)苯基)乙酸甲酯（化合物1.3）

将化合物1.2（40g, 241.0mmol）溶于甲醇（400mL）中，加入硫酸（2.4g, 24.1mmol），冰浴反应2小时，反应完全后加入饱和碳酸氢钠溶液（200mL），水层以乙酸乙酯（200mL X 3）萃取，合并有机层，用饱和食盐水（300mL）洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，得到化合物1.3（41g，收率：95%，淡黄色油状物）。LCMS ESI (+) m/z: 181.1 (M+1)，直接用于下一步反应。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.23 (dd, J = 22.8, 8.4 Hz, 4H), 5.15 (s, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 3.60 (s, 3H)。

步骤D：2-(4-(三(三异丙基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)乙酸甲酯（化合物1.4）

将化合物1.3（41g, 226.5mmol），咪唑（23.1g, 339.8mmol）溶于N,N-二甲基甲酰胺（400mL）中，冰浴降至0°C，分批加入三异丙基氯硅烷（48.1g, 249.2mmol），自然升温至室温搅拌过夜，反应完全后

加水(500mL)，水层以乙酸乙酯(200mL X 3)萃取，合并有机层，用饱和食盐水(300mL)洗涤，无水硫酸钠干燥。过滤、旋干，得到化合物1.4(72g，收率：94%，无色油状物)，直接用于下一步反应。

步骤E：2-(4-(三异丙基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)乙酸(化合物1.5)

将化合物1.4(72g, 214.0mmol)溶于四氢呋喃(500mL)中，加入氢氧化锂(10.8g, 256.8mmol)，室温搅拌过夜，反应完全后加入1M的盐酸溶液(300mL)，水层以乙酸乙酯(200mL X 3)萃取，合并有机层，用饱和食盐水(300mL)洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥。过滤、旋干，得到化合物1.5(67g，收率：97%，无色油状物)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.28 (s, 1H), 7.25 (d, J = 12.8 Hz, 4H), 4.78 (s, 2H), 3.54 (s, 2H), 1.14 (s, 3H), 1.05 (d, J = 6.8 Hz, 18H)。

步骤F：(R)-4-苄基-3-(2-(4-(三异丙基硅基)氧基)甲基)苯基)乙酰基)恶唑烷-2-酮(化合物1.6)

将化合物1.5(67g, 207.8mmol)以及无水N,N-二甲基甲酰胺(0.76g, 10.4mmol)溶于无水二氯甲烷中，在冰浴条件下缓慢滴加草酰氯(31.7g, 249.4mmol)，保持冰浴制备得到酰氯，同时在另外一个三口瓶中将(R)-4-苄基-噁唑烷酮(25.7g, 145.2mmol)加入无水四氢呋喃(300mL)中，氮气置换，用干冰丙酮降温至-78℃，缓慢滴加正丁基锂(2.5M, 64mL)并保持温度在-78℃，滴加完毕后继续在-78℃小搅拌2小时，然后通过恒压滴液漏斗慢慢滴加制备的酰氯的无水四氢呋喃溶液，保持滴加温度在-78℃，滴加完成后继续保持-78℃反应2小时，然后自然升温至室温，反应完全后用饱和氯化铵水溶液(400mL)淬灭反应，水层以乙酸乙酯(300mL X 3)萃取，合并有机层，用饱和碳酸氢钠水溶液(300mL)，饱和食盐水(300mL)依次洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，经柱层析纯化，得化合物1.6(44g，收率：44%，无色油状物)。

步骤G：2-(S)-3-(R)-4-苄基-2-氧代恶唑烷-3-基)-3-氧代-2-(4-(三异丙基硅基)氧基)甲基)苯基)丙基)异喹啉-1,3-二酮(化合物1.7)

将化合物1.6(44g, 91.3mmol)溶于无水四氢呋喃(500mL)中，氮气置换，干冰丙酮降温至-78℃，缓慢滴加LiHMDS(1M, 109mL)，滴加完毕后继续在-78℃下搅拌1小时，将N-溴甲基邻苯二甲酰亚胺(26.3g, 109.6mmol)溶于无水四氢呋喃(200mL)中，通过恒压滴液漏斗慢慢滴加上述体系中，控制滴加温度低于-70℃，滴加结束后反应保持在-78℃下搅拌3小时，自然升温至室温搅拌过夜，反应完全后用饱和氯化铵水溶液(400mL)淬灭反应，水层以乙酸乙酯(300mL X 3)萃取，合并有机层，用饱和食盐水(300mL)依次洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，得到黄色固体，采用乙酸乙酯/石油醚体系对其重结晶，析出固体，过滤，滤饼用石油醚(100mL)洗涤，旋干，得到化合物1.7(32g，收率：55%，白色固体)。

步骤H：(S)-2-(2-羧基-2-(4-(三异丙基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)乙基)氨基甲酸(化合物1.8)

将化合物1.7(32g, 49.9mmol)溶于四氢呋喃(300mL)中，加水(100mL)，冰浴冷却反应体系至0℃，然后加入氢氧化锂(6.3g, 149.7mmol)，于0℃搅拌1小时，反应完全后用2M盐酸溶液调节反应液pH值至2-3，水层以乙酸乙酯(200mL X 4)萃取，合并有机层，用饱和食盐水(300mL)依次洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，得到化合物1.8(20g，收率：80%，淡黄色固体)。LCMS ESI(+) m/z: 500.2 (M+1)。

步骤I：(S)-3-(1,3-二氧代异喹啉-2-基)-2-(4-(三异丙基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)丙酸(化合物1.9)

将化合物1.8(20g, 40mmol)，1-羟基苯并三唑(5.9g, 44mmol)和三乙胺(12.1g, 120mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺中，冰浴冷却反应体系至0℃，然后向反应液中加入1-乙基-(3-二甲氨基氨基丙基)碳酸二亚胺盐酸盐(8.4g, 44mmol)。搅拌一段时间，反应液变澄清，缓慢升至室温过夜，反应完全后反应液减压至干，加入饱和氯化铵水溶液(200mL)，水层以乙酸乙酯(200mL X 3)萃取，合并有机层，用饱和碳酸氢钠水溶液(300mL)，饱和食盐水(300mL)依次洗涤，无水硫酸钠干燥。过滤、旋干，得到化合物1.9(17g，收率：88%，黄色固体)

步骤J：(S)-3-(1,3-二氧代异喹啉-2-基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)-2-(4-(三异丙基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)丙酰胺(化合物1.10)

将化合物1.9(65mg, 0.123mmol)溶解于5mL的N,N-二甲基甲酰胺中，加入二异丙基乙胺(25μl, 0.16mmol)、2-(7-氧代苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(77mg, 0.20mmol)，室温

下搅拌 10 分钟, 加入噻吩并[2,3-c]吡啶-2-胺 (20mg, 0.135mmol), 搅拌 2 小时。用饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 用 30mL 乙酸乙酯分三次萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 旋干, 柱层析纯化得到产物 1.10 (48mg, 产率: 58%)。LCMS ESI (+) m/z: 614.2 (M+1)/

步骤 K: (S)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-2-(4-(羟甲基)苯基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺 (化合物 1.11)

将化合物 1.10 (48mg, 0.078mmol) 溶解在 5mL 四氢呋喃溶液中, 加入 1mL 盐酸 (2M), 室温下搅拌 0.5 小时。直接旋干溶剂得到产物 1.11 (30mg, 产率: 100%)。LCMS ESI (+) m/z: 458.1 (M+1)

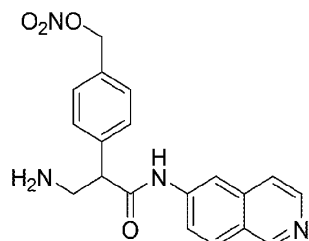
步骤 L: (S)-4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基硝酸酯 (化合物 1.12)

将 2 滴硝酸和 1 滴乙酸酐溶于二氯甲烷中, 在室温下搅拌 10 分钟, 然后将化合物 1.11 (20mg, 0.04mmol) 的二氯甲烷溶液慢慢滴入到体系中, 反应过程中会有很多化合物 1.11 难溶, 再在另一反应瓶中配置同样的硝酸和乙酸酐的二氯甲烷溶液, 将不溶的反应液慢慢滴入, 重复 3-4 次, 直到化合物 1.11 全部溶解。LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 然后用二氯甲烷 (10mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥。过滤、旋干, 剩余物用柱层析纯化得产物 1.12 (20mg, 产率: 93%)。LCMS ESI (+) m/z: 503.1 (M+1)。

步骤 M: (S)-4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基硝酸酯 (化合物 1)

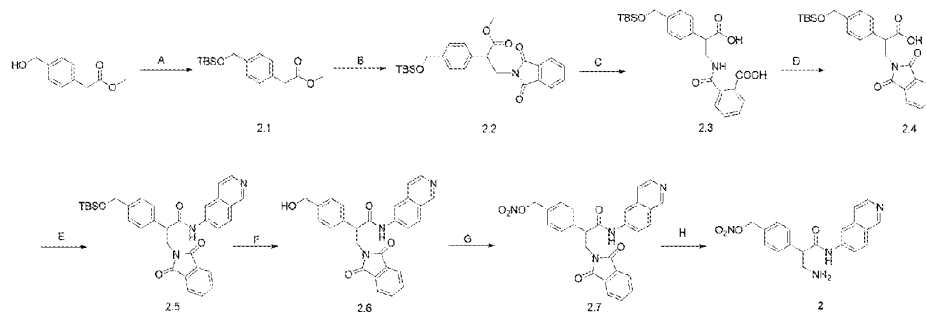
将化合物 1.12 (20mg, 0.04mmol) 溶于 1mL 甲醇中, 然后加入水合肼, 在 40°C 下反应过夜, LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (10mLX3) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩, 剩余物溶于 2mL 的甲醇中, 过滤, 滤液用反相制备纯化, 冻干后得到目标产物实施例 1 (8mg, 产率: 44%)。LCMS ESI (+) m/z: 373.1 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.71 (s, 1H), 9.41 (s, 1H), 8.51 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.99 (s, 3H), 7.54 - 7.50 (m, 2H), 7.46 - 7.42 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 5.57 (s, 2H), 4.27 - 4.22 (m, 1H), 3.62 - 3.57 (m, 1H), 3.25 - 3.15 (m, 1H)。

实施例 2



3-(3-氨基-1-(噻吩-2-基氨基)-1-氧代丙-2-基)苄基硝酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-(4-((叔丁基二甲基硅烷基)氧基)甲基)苯基)乙酸甲酯 (化合物 2.1)

将 2-(4-(羟甲基)苯基)乙酸甲酯 (5.0g, 27.8mmol) 和咪唑 (2.8g, 41.7mmol) 溶于 50mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入叔丁基二甲基氯硅烷 (5.0g, 33.4mmol), 在室温下反应过夜。TLC 监测反应完全。

加入水淬灭反应，用乙酸乙酯（20mLX3）萃取，合并有机相，用饱和食盐水（50mL）洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥，过滤、旋干，柱层析纯化得产物 2.1（8.1g，产率：98%）。

步骤 B：2-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)丙酸甲酯（化合物 2.2）

将化合物 2.1（3.0g, 10.2mmol）溶于 10mL 无水四氢呋喃中，氮气置换，干冰丙酮降温至-78℃，缓慢滴加六甲基二硅基胺基锂（1.0M, 12.2mL, 12.2mmol），滴加完成后体系于-78℃搅拌 1 小时，将 N-溴甲基邻苯二甲酰亚胺（2.9g, 12.2mmol）溶于 10mL 四氢呋喃中，慢慢滴加到体系中，控制滴加温度低于-70℃，滴加结束后反应保持在-78℃下搅拌 3 小时，TLC 监测反应完全。加入饱和氯化铵溶液淬灭反应，用乙酸乙酯（20mLX3）萃取，有机相用饱和食盐水（50mL）洗涤，经无水硫酸钠干燥，过滤、旋干，柱层析纯化得产物 2.2（3.6g，产率：78%）。

步骤 C：2-((2-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)-2-羧乙基)氨基甲酰基)苯甲酸（化合物 2.3）

将化合物 2.2（3.6g, 8.0mmol）溶于 100mL 四氢呋喃和 30mL 水中，在 0℃ 下加入氢氧化锂一水合物（1.0g, 24.0mmol），于 0℃ 下搅拌 3 小时，LCMS 监测反应完全。减压蒸出有机溶剂，用 1M 的盐酸水溶液调 pH 至 3-4，然后用乙酸乙酯（20mLX3）萃取，用饱和食盐水（50mL）洗涤，有机相经无水硫酸钠干燥，过滤、旋干得粗产物 2.3（3.4g，产率：93%）。LCMS ESI(+) m/z: 458.2 (M+1)

步骤 D：2-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)丙酸（化合物 2.4）

将化合物 2.3（3.4g, 7.4mmol），1-羟基苯并三唑（0.9g, 7.4mmol）和三乙胺（2.2g, 22.2mmol）溶于 10mL 二氯甲烷中，氮气保护，降温至 0℃，然后向反应液中加入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐（1.4g, 7.4mmol），搅拌一段时间，反应液变澄清，缓慢升温至室温，反应过夜。TLC 监测反应完全。加水稀释反应液，用二氯甲烷（20mLX3）萃取，合并有机相，用饱和食盐水（50mL）洗涤，有机相经无水硫酸钠干燥，过滤、旋干，柱层析纯化得产物 2.4（1.5g，产率：46%）。

步骤 E：2-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-N-(异喹啉-6-基)丙酰胺（化合物 2.5）

将化合物 2.4（500mg, 1.1mmol）溶于 5mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中，然后依次加入 2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯（627mg, 1.6mmol）和 N,N-二异丙基乙胺（283mg, 2.2mmol），在室温下搅拌 5 分钟，再加入 6-氨基异喹啉（190mg, 1.3mmol），在室温下反应 2 小时。LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应，用乙酸乙酯（20mLX3）萃取，合并有机相，用饱和食盐水（50mL）洗涤，有机相经无水硫酸钠干燥，过滤、旋干，柱层析纯化得产物 2.5（443mg，产率：71%）。LCMS ESI(+) m/z: 566.2 (M+1)。

步骤 F：3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-2-(4-(羟基甲基)苯基)-N-(异喹啉-6-基)丙酰胺（化合物 2.6）

将化合物 2.5（443mg, 0.80mmol）溶于 5mL 四氢呋喃中，然后加入 5mL 盐酸水溶液（1M）中，在室温下反应 30 分钟。LCMS 监测反应完全。反应完后加入饱和碳酸氢钠溶液中和，然后用乙酸乙酯（20mLX3）萃取，合并有机相，用饱和食盐水（50mL）洗涤，有机相经无水硫酸钠干燥，过滤、旋干得到粗产物 2.6（242mg，产率：68%）。LCMS ESI(+) m/z: 452.2 (M+1)。

步骤 G：4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-(异喹啉-6-基氨基)-1-氧代丙-2-基)硝酸苄酯（化合物 2.7）

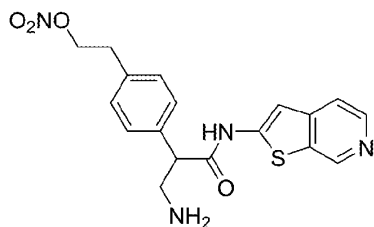
将 2 滴硝酸和 1 滴乙酸酐溶于二氯甲烷中，在室温下搅拌 10 分钟，然后将化合物 2.6（242mg, 0.50mmol）的二氯甲烷溶液慢慢滴入到体系中，反应过程中会有很多化合物 2.6 难溶，再在另一反应瓶中配置同样的硝酸和乙酸酐的二氯甲烷溶液，将不溶的反应液慢慢滴入，重复 3-4 次，直到化合物 2.6 全部溶解。LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应，然后用二氯甲烷（20mLX3）萃取，合并有机相，用饱和食盐水（50mL）洗涤，有机相经无水硫酸钠干燥，过滤、柱层析纯化得产物 2.7（136mg，产率：54%）。LCMS ESI(+) m/z: 497.1 (M+1)。

步骤 H：3-氨基-2-(4-(胍基甲基)苯基)-N-(异喹啉-6-基)丙酰胺（化合物 2）

将化合物 2.7（30mg, 0.06mmol）溶于 1mL 甲醇中，然后加入水合肼，在 40℃ 下反应 5 小时，LCMS 监

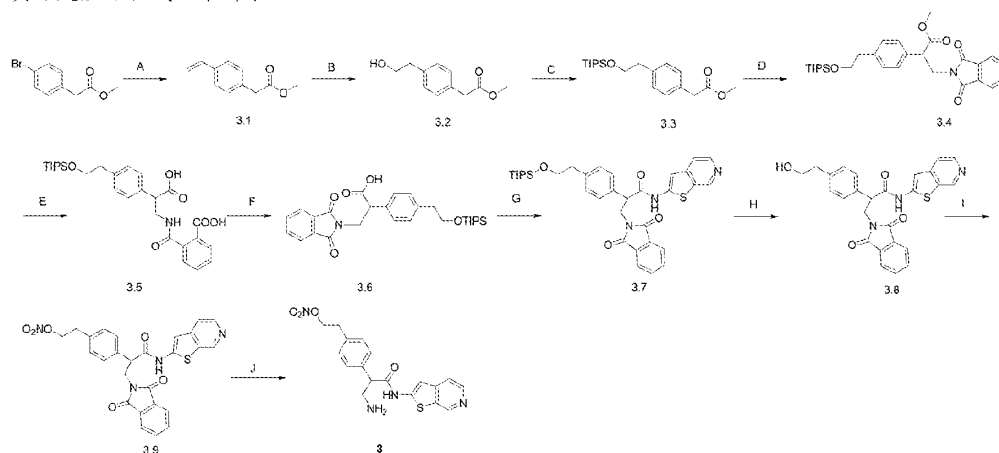
测反应完全。反应完后加入水淬灭反应，然后用乙酸乙酯（10mLX3）萃取三次，合并有机相，减压浓缩，剩余物溶于2mL的甲醇中，过滤，滤液用反相制备纯化，冻干后得到目标产物实施例2（1.1mg，产率：4%）。LCMS ESI (+) m/z: 367.1 (M+1)。

实施例3



4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯乙酸乙酯

具体反应方程式如下所示：



步骤A：2-(4-乙基苯基)乙酸甲酯（化合物3.1）

将2-(4-溴苯基)乙酸甲酯（11.0g, 48.0mmol），三氟(乙基)硼酸钾（7.7g, 57.6mmol）和碳酸铯（31.3g, 96.0mmol）溶于200mL四氢呋喃和20mL水中，然后加入二(三苯基膦)二氯化钯（674mg, 0.96mmol），在85°C和氮气保护下反应过夜。LCMS监测反应完全。过滤、滤液用乙酸乙酯（50mLX3）萃取三次，合并有机相，用饱和的食盐水（100mL）洗涤，有机相经无水硫酸钠干燥，过滤、旋干，柱层析纯化得产物3.1（7.0g，产率：83%）。LCMS ESI (+) m/z: 177.1 (M+1)。

步骤B：2-(4-(2-羟乙基)苯基)乙酸甲酯（化合物3.2）

将化合物3.1（3.5g, 19.9mmol）溶于20mL四氢呋喃中，在冰浴下滴加硼烷（10.0M, 4mL, 40.0mmol），在0°C下反应1小时，再在室温下反应1小时。然后在冰浴下滴加60mL氢氧化钠水溶液（1M），再滴加5mL双氧水（30%），在冰浴下反应30分钟，再在室温下反应30分钟。TLC监测到原料反应完全。加入水淬灭反应，用乙酸乙酯（50mLX3）萃取，合并有机相，用饱和食盐水（100mL）洗涤，有机相经无水硫酸钠干燥，过滤、旋干，柱层析纯化得产物3.2（1.5g，产率：39%）。

步骤C：2-(4-(2-((三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)乙酸甲酯（化合物3.3）

将化合物3.2（1.5g, 7.7mmol）溶于10mL二氯甲烷中，然后加入2,6-二甲基吡啶（1.4mL, 11.6mmol）和三异丙基硅基三氟甲磺酸酯（2.5mL, 9.2mmol）在室温下反应过夜。TLC监测到原料反应完全。加入水淬灭反应，用二氯甲烷（20mLX3）萃取三次，合并有机相，用饱和的食盐水（50mL）洗涤，有机相经无水硫酸钠干燥，过滤、旋干，柱层析纯化得产物3.3（2.1g，产率：78%）。

步骤D：3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-2-(4-(2-((三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)丙酸甲酯（化合物3.4）

将化合物3.3（2.1g, 6.0mmol）溶于20mL无水四氢呋喃中，氮气置换，干冰丙酮降温至-78°C，缓慢滴

加六甲基二硅基胺基锂 (1.0M, 7.2mL, 7.2mmol), 滴加完成后体系于-78°C 搅拌 1 小时, 将 N-溴甲基邻苯二甲酰亚胺 (1.7g, 7.2mmol) 溶于 10mL 四氢呋喃中, 慢慢滴加到反应液中, 控制滴加温度低于-70°C, 滴加结束后反应保持在-78°C 下搅拌 3 小时, TLC 监测到原料反应完全。加入饱和的氯化铵溶液 (10mL) 淬灭反应, 用乙酸乙酯 (20mLX3) 萃取, 饱和食盐水 (50mL) 洗涤。无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 3.4 (1.0g, 产率: 33%)。

步骤 E: 2-((2-羧基-2-(4-(2-((三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)乙基)氨基甲酰基)苯甲酸 (化合物 3.5)

将化合物 3.4 (1.0g, 2.0mmol) 溶于 10mL 四氢呋喃和 3mL 水中, 在 0 摄氏度下加入氢氧化锂一水合物 (252mg, 6.0mmol), 于 0°C 下搅拌 3 小时, LCMS 监测反应完全。减压蒸出有机溶剂, 用 1M 的盐酸水溶液调 pH 至 3-4, 用乙酸乙酯 (20mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干得产物, 3.5 (960mg, 产率: 95%)。LCMS ESI (+) m/z: 514.2 (M+1)。

步骤 F: 3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-2-(4-(2-((三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)丙酸 (化合物 3.6)

将化合物 3.5 (960mg, 1.9mmol), 1-羟基苯并三唑 (257mg, 1.9mmol) 和三乙胺 (0.8mL, 5.7mmol) 溶于 10mL 二氯甲烷中, 氮气保护, 降温至 0°C, 然后向反应液中加入 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (365mg, 1.9mmol), 搅拌一段时间, 反应液变澄清, 缓慢升温至室温, 反应过夜。LCMS 监测反应完全。加水稀释反应液, 用二氯甲烷萃取 (20mLX3), 合并有机相, 用饱和食盐水 (50mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 3.6 (510mg, 产率: 54%)。LCMS ESI (+) m/z: 496.2 (M+1)。

步骤 G: 3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)-2-(4-(2-((三异丙基硅基)氧基)乙基)苯基)丙酰胺 (化合物 3.7)

将化合物 3.6 (70mg, 0.14mmol) 溶于 5mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后依次加入 2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (80mg, 0.21mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (36mg, 0.28mmol), 在室温下搅拌 5 分钟, 再加入噻吩并[2,3-c]吡啶-2-胺 (25mg, 0.17mmol), 在室温下反应 2 小时。LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (10mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 3.7 (62mg, 产率: 71%)。LCMS ESI (+) m/z: 628.3 (M+1)。

步骤 H: 3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-2-(4-(2-羟基乙基)苯基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺 (化合物 3.8)

将化合物 3.7 (62mg, 0.10mmol) 溶于 5mL 四氢呋喃中, 然后加入 5mL 盐酸水溶液 (1M) 中, 40°C 下反应 2 小时。LCMS 监测反应完全。反应完后加入饱和碳酸氢钠溶液中和, 然后用乙酸乙酯 (10mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干得到粗产物 3.8 (47mg, 产率: 100%)。LCMS ESI (+) m/z: 472.1 (M+1)。

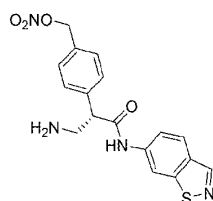
步骤 I: 4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯乙酸乙酯 (化合物 3.9)

将 2 滴硝酸和 1 滴乙酸酐溶于二氯甲烷中, 在室温下搅拌 10 分钟, 然后将化合物 3.8 (30mg, 0.06mmol) 的二氯甲烷溶液慢慢滴入到体系中, 反应过程中会有很多化合物难溶, 再在另一反应瓶中配置同样的硝酸和乙酸酐的二氯甲烷溶液, 将不溶的反应液慢慢滴入, 重复 3-4 次, 直到化合物全部溶解。LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 然后用二氯甲烷 (10mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、柱层析纯化得产物 3.9 (12mg, 产率: 48%)。LCMS ESI (+) m/z: 517.1 (M+1)。

步骤 J: 4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯乙酸乙酯 (化合物 3)

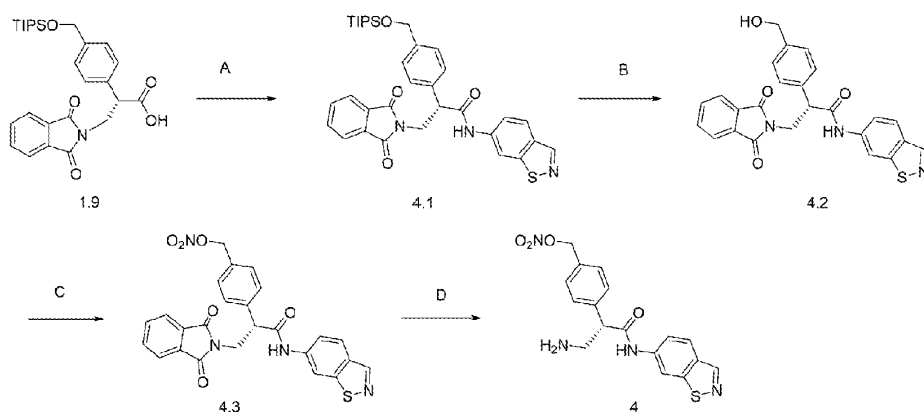
将化合物 3.9 (12mg, 0.03mmol) 溶于 1mL 甲醇中, 然后加入水合肼 (14mg, 0.30mmol), 在 40°C 下反应过夜, LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (10mLX3) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩, 剩余物溶于 2mL 的甲醇中, 过滤, 滤液用反相制备纯化, 冻干后得到目标产物实施例 3 (5mg, 产率: 36%)。LCMS ESI (+) m/z: 387.1 (M+1)。

实施例 4



(S)-4-(3-氨基-1-(苯并[d]异噻唑-6-基氨基)-1-氧代丙-2-基) 硝酸苄酯

具体反应方程式如下所示



步骤 A: 用苯并[d]异噻唑-6-胺代替实施例 1 步骤 J 中的噻吩并[2,3-c]吡啶-2-胺, 合成得到化合物 4.1。LCMS ESI (+)m/z: 614.2 (M+1)。

步骤 B: 采用实施例 1 中步骤 K, 合成得到化合物 4.2。LCMS ESI (+)m/z: 458.1 (M+1)。

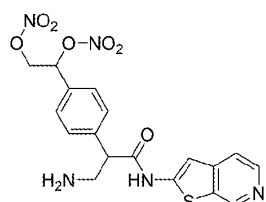
步骤 C: (S)-4-(1-(苯并[d]异噻唑-6-基氨基)-3-(1,3-二氧代异噻唑啉-2-基)-1-氧代丙-2-基) 苄基硝酸酯 (化合物 4.3)

将化合物 4.2 (150mg, 0.33mmol) 溶解在 10mL 二氯甲烷溶液中, 加入乙酸酐 (0.5ml)、硝酸 (0.5ml), 氮气保护, 在 40°C 下搅拌 3 小时。旋干溶剂, 柱层析纯化得到化合物 4.3 (40mg, 产率: 24%)。LCMS ESI (+)m/z: 503.1 (M+1)。

步骤 D: (S)-4-(3-氨基-1-(苯并[d]异噻唑-6-基氨基)-1-氧代丙-2-基) 硝酸苄酯 (化合物 4)

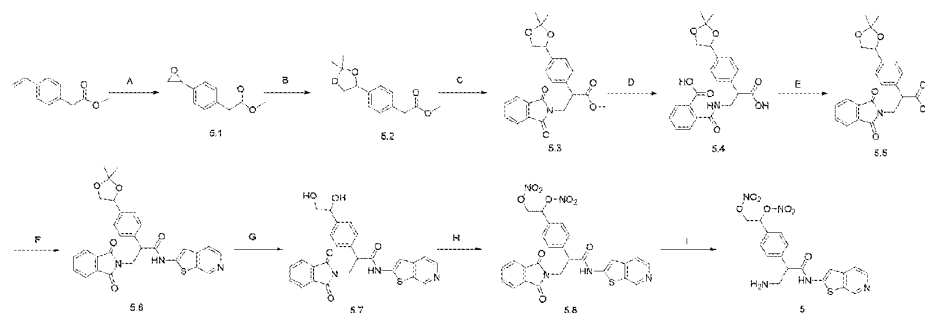
将化合物 4.3 (40mg, 0.08mmol) 溶解在 5mL 甲氧乙醇溶液中, 在 60°C 下搅拌 3 小时, 旋干溶剂, 反向制备纯化得到化合物 4 (1.4mg, 产率: 5%)。LCMS ESI (+)m/z: 373.1 (M+1)。

实施例 5



1-(4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基) 乙烷-1,2-二硝酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-(4-(环氧乙烷-2-基)苯基)乙酸甲酯(化合物 5.1)

将称量好的 2-(4-乙烯基苯基)乙酸甲酯(2.2g, 12.48mmol)溶于 80mL 二氯甲烷中, 在冰浴下分批加入间氯过氧苯甲酸(7.6g, 37.44mmol), 反应液在 0 度搅拌 1 小时, 然后在室温搅拌 16 小时。向反应液中加入饱和亚硫酸钠溶液 300mL, 搅拌 1 小时, 用二氯甲烷(300mL)萃取 2 次, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水(100mL)洗涤 2 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到化合物 5.1(1.84g, 产率: 77%, 无色油状物)。

步骤 B: 2-(4-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)苯基)乙酸甲酯(化合物 5.2)

将化合物 5.1(1.84g, 9.57mmol)溶于 30mL 丙酮中, 然后加入 Amberlyst 15(2.5g, 12.44mmol), 反应液在室温搅拌 20 小时。将反应液过滤, 向滤液中加入饱和碳酸氢钠溶液 150mL, 然后用乙酸乙酯(300mL)萃取 2 次, 分液合并有机相, 有机相用饱和食盐水(100mL)洗涤 1 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化后得到化合物 5.2(1.5g, 收率: 63%, 无色油状物)。

步骤 C: 2-(4-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)苯基)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)丙酸甲酯(化合物 5.3)

在零下 78 摄氏度下, 将化合物 5.2(1.5g, 5.99mmol)溶于无水四氢呋喃(20mL)中, 然后慢慢滴入双三甲基硅基胺基锂(7.2mL, 7.19mmol)到反应液里, 在-78 度和氮气保护下搅拌 0.5 小时, 紧接着将称量好的 N-溴甲基邻苯二甲酰亚胺(1.73g, 7.19mmol)溶解于无水四氢呋喃(10mL)后慢慢滴加到反应瓶中, 之后继续在此温度下搅拌 1.5 小时。用 20mL 氯化铵饱和溶液对反应进行淬灭, 用乙酸乙酯(60mL)萃取 2 次, 分液合并有机相, 有机相用饱和食盐水(30mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化后得到化合物 5.3(2g, 收率: 82%, 白色固体)。LCMS ESI(+)/m/z: 410.1(M+1)。

步骤 D: 2-(2-(羧基-2-(4-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)苯基)乙基)氨基甲酰基)苯甲酸(化合物 5.4)

将化合物 5.3(2g, 4.88mmol)溶解在 35mL 四氢呋喃和 30mL 水中, 加入一水合氢氧化锂(615mg, 14.64mmol), 反应液在室温搅拌 2 小时。向反应液中加入饱和柠檬酸溶液至 pH 为 6, 用乙酸乙酯(40mL)萃取 3 次, 合并有机相, 用饱和食盐水(40 mL)洗 2 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到产物 5.4(1.1g, 产率: 55%, 白色固体)。LCMS ESI(+)/m/z: 414.1(M+1)。

步骤 E: 2-(4-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)苯基)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)丙酸(化合物 5.5)

将化合物 5.4(1.1g, 2.66mmol)溶解在 30mL N,N-二甲基甲酰胺中, 加入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(760mg, 3.99mmol), 1-羟基苯并三唑(540mg, 3.99mmol)和二异丙基乙胺(688mg, 5.32mmol)。反应液在室温搅拌 12 小时。将反应液减压浓缩, 向剩余物加入水 20mL, 用饱和柠檬酸溶液至 pH 为 6, 用乙酸乙酯(40mL)萃取 3 次, 合并有机相, 用饱和食盐水(40 mL)洗 2 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 5.5(760mg, 产率: 72%, 黄色固体)。LCMS ESI(+)/m/z: 396.1(M+1)。

步骤 F: 2-(4-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)苯基)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺(化合物 5.6)

将化合物 5.5(260mg, 0.66mmol)溶解在 12mL N,N-二甲基甲酰胺中, 加入二异丙基乙胺(127mg, 0.99mmol), 6-氨基异喹啉(104mg, 0.69mmol)和 2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六

氟磷酸盐 (300mg, 0.79mmol)。反应液在室温搅拌 1.5 小时。向反应液中加入水 30mL, 用乙酸乙酯 (50mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mL) 洗 2 次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 5.6 (260mg, 产率: 75%, 黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 528.1 (M+1)。

步骤 G: 2-(4-(1,2-二羟乙基)苯基)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺 (化合物 5.7)

将化合物 5.6 (260mg, 0.49mmol) 溶解在 30mL 甲醇和 30mL 乙腈中, 加入 3.3mL 1.5M 的盐酸水溶液, 反应液在 30 度搅拌 2 小时, 将反应液减压浓缩, 得到产物 5.7 (240mg, 产率: 100%, 黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 488.1 (M+1)。

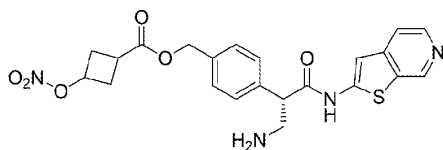
步骤 H: 1-(4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯基)乙烷-1,2-二硝酸二硝酸酯 (化合物 5.8)

将 0.4mL 硝酸溶液加入到 6mL 二氯甲烷中, 反应液冷却至 0 度, 滴加硫酸 0.2mL, 反应液在 0 度搅拌 0.5 小时。向反应液中滴加化合物 5.7 (30mg, 0.06mmol) 的 3mL 二氯甲烷悬浊液。反应液在 0 度搅拌 2 小时。向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 为 8, 用二氯甲烷 (30mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mL) 洗 2 次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 5.8 (5mg, 产率: 14%, 黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 578.1 (M+1)。

步骤 I: 1-(4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯基)乙烷-1,2-二硝酸酯 (化合物 5)

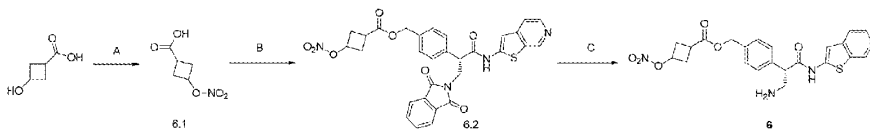
将化合物 5.8 (5mg, 0.01mmol) 溶解在 8mL 乙醇中, 加入水合肼 (17mg, 0.40mmol), 反应液在 50 度和氮气保护下搅拌 6 小时。向反应液中加入 20mL 水, 用乙酸乙酯 (30mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mL) 洗 2 次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用反向制备纯化得到化合物 5 (1.2mg, 产率: 31%, 白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 448.1 (M+1)。

实施例 6



(S)-4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)-3-(硝基氧基)环丁烷羧酸苄酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 3-(硝基氧基)环丁烷羧酸 (化合物 6.1)

在冰浴条件下, 将醋酸酐 (2mL) 加入到 50mL 反应瓶中, 紧接着将浓硝酸 (1mL) 慢慢滴加到反应瓶里, 反应液在冰浴下搅拌 10 分钟。在冰浴条件下, 将 3-羟基环丁烷羧酸 (100mg, 0.862mmol) 溶于醋酸酐 (3mL) 中, 然后将醋酸酐-浓硝酸混合液 (3mL) 慢慢滴加到反应液中, 然后反应液在常温下搅拌 1 小时。通过 TLC (溴甲酚绿显色) 来确认反应完全。将水加入到反应液中, 用乙酸乙酯来萃取 (15mL), 分液合并有机相, 然后有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 硅胶柱纯化, 得到白色固体 6.1 (62mg, 收率: 44.67%)。

步骤 B: (S)-4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 3-(硝基氧基)环丁烷羧酸盐 (化合物 6.2)

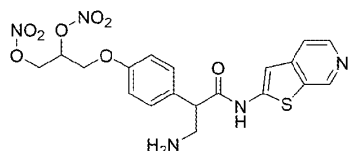
将化合物 1.11 (60mg, 0.131mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (6mL) 中, 然后依次加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (37.7mg, 0.197mmol)、4-二甲氨基吡啶 (24mg, 0.197mmol) 和化合物 6.1 (31.7mg, 0.197mmol), 混合液在常温下搅拌过夜。通过 LCMS 确认反应完全。将水加入到反应液中, 用

乙酸乙酯来萃取 (15mL), 分液合并有机相, 然后有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 硅胶柱纯化, 得到白色固体 6.2 (50mg, 收率: 63.5%)。LCMS ESI (+) m/z : 601.1 (M+1)。

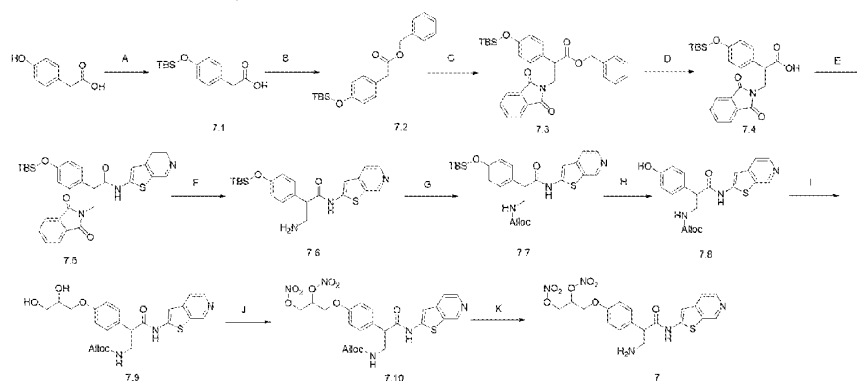
步骤 C: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)3-(硝基氧基)环丁烷羧酸苄酯 (化合物 6)

将化合物 6.2 (83mg, 0.138mmol) 溶于 8mL 的乙醇中, 加水合肼 (69mg, 1.38mmol) 到反应液中, 反应升至 55 度, 在惰性气体氛围下搅拌 2 小时。通过 LCMS 确认反应完全。加水到反应液里, 用乙酸乙酯 (12mL) 萃取, 饱和食盐水洗涤。有机相无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩旋干, 剩余物溶于甲醇 (3mL), 经反向制备纯化后得到白色固体产物实施例 6 (20mg (盐酸盐), 收率: 28.5%, 纯度: 97%)。LCMS ESI (+) m/z : 471.1 (M+1)。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.41 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.52 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 8.21 - 8.12 (m, 4H), 7.49 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J=8.8$ Hz, 3H), 5.26 (p, $J=7.2$ Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.45 (dd, $J=8.8, 5.6$ Hz, 1H), 3.63 (s, 1H), 3.21 - 3.12 (m, 1H), 3.03 - 2.92 (m, 1H), 2.71 - 2.61 (m, 2H), 2.34 (ddd, $J=17.2, 9.6, 2.8$ Hz, 2H)。

实施例 7



3-(4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苯氧基)丙烷-1,2-二硝酸酯
具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-(4-(叔丁基二甲基硅烷基)氧基)苯基)乙酸 (化合物 7.1)

将对羟基苯乙酸 (5.0g, 32.86mmol) 溶解在 400mL 四氢呋喃中, 在 0 度, 加入咪唑 (11g, 164.3mmol) 和叔丁基二甲基氯硅烷 (13.8g, 92.00mmol), 反应液在室温下搅拌 2 小时。向反应液中加入 130mL 饱和碳酸钠溶液, 室温继续搅拌 1 小时。向反应液中加入 2M 盐酸溶液至 pH 为 4, 用乙酸乙酯 (100mLx2) 萃取, 合并有机相, 用食盐水 (200mL) 洗 2 次, 无水硫酸钠干燥。过滤、减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 7.1 (5.78g, 产率: 66%, 无色油状物)。

步骤 B: 2-(4-(叔丁基二甲基硅烷基)氧基)苯基)乙酸苄酯 (化合物 7.2)

将化合物 7.1 (5.78g, 21.70mmol) 溶解在 100mL N,N-二甲基甲酰胺中, 将溶液冷却至 0 度, 加入碳酸钾 (3.6g, 26.04mmol) 和苄溴 (4.45g, 26.04mmol), 反应液在室温搅拌 2 小时。向反应液加入 80mL 水, 用乙酸乙酯 (100mLx3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (40mL) 洗 4 次, 用无水硫酸钠干燥。过滤、减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 7.2 (3.66g, 产率: 47%, 无色油状物)。

步骤 C: 2-(4-(叔丁基二甲基硅烷基)氧基)苯基)-3-(1,3-二氧代异噻唑啉-2-基)丙酸苄酯 (化合物 7.3)

将化合物 7.2 (3.66g, 10.27mmol) 溶解在 30mL 无水四氢呋喃溶液中, 将反应液冷却至 -78 度, 在氮气保护下, 滴加 1M 的六甲基二硅基胺基锂 (12.3mL, 12.3mmol), 反应液在 -78 度和氮气保护下搅拌 1 小

时。然后滴加 2-(溴甲基)异喹啉-1,3-二酮 (2.96g, 12.3mmol) 的四氢呋喃溶液 25mL, 反应液在-78 度搅拌 3 小时。向反应液中加入 30mL 水, 用乙酸乙酯 (60mL) 萃取 3 次, 合并有机相, 用饱和食盐水 (40mL) 洗 2 次, 无水硫酸钠干燥。过滤, 滤液减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 7.3 (3.9g, 产率: 74%, 无色油状物)。LCMS ESI (+)m/z: 516.2 (M+1)。

步骤 D: 2-(4-(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)苯基)-3-(1,3-二氧代异喹啉-2-基)丙酸(化合物 7.4)

将化合物 7.3 (3.9g, 7.56mmol) 溶解在 30mL 四氢呋喃和 60mL 甲醇中, 加入钯碳 (600mg, 10%), 反应液在室温和氢气保护下搅拌 3 小时。将反应液用硅藻土过滤, 滤液减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 7.4 (2.9g, 产率: 90%, 黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 426.2 (M+1)。

步骤 E: 2-(4-(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)苯基)-3-(1,3-二氧代异喹啉-2-基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺(化合物 7.5)

将化合物 7.4 (600mg, 1.41mmol) 溶解在 20mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 加入二异丙基乙胺 (276mg, 2.11mmol), 2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (648mg, 1.69mmol), 和噻吩并[2,3-c]吡啶-2-胺 (233mg, 1.55mmol)。反应液在 25 度和氮气保护下搅拌 2 小时。向反应中加水 (40mL), 然后用乙酸乙酯 (60mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mLX2) 洗, 无水硫酸钠干燥。过滤, 减压浓缩, 柱层析纯化得到产物 7.5 (780mg, 产率: 99%, 黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 558.2 (M+1)。

步骤 F: 3-氨基-2-(4-(叔丁基二甲基)氧基)苯基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺(化合物 7.6)

将化合物 7.5 (1.2g, 2.15mmol) 溶于 20mL 的 33% 的甲胺/乙醇溶液, 反应液在 50 度搅拌 1 小时。将反应液减压浓缩, 柱层析纯化得到化合物 7.6 (655mg, 产率: 71%, 黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 428.2 (M+1)。

步骤 G: 烯丙基 (2-(4-(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)苯基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸酯(化合物 7.7)

将化合物 7.6 (655mg, 1.53mmol) 溶于 30mL 二氯甲烷中, 加入三乙胺 (620mg, 6.12mmol) 和氯甲酸烯丙酯 (369mg, 3.06mmol), 反应液在室温搅拌 5 分钟。向反应液中加入 30mL 水, 然后用二氯甲烷 (50mLX2) 萃取, 分液合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (30mL) 洗涤 1 次, 无水硫酸钠干燥。过滤、旋干, 柱层析纯化后得到化合物 7.7 (630mg, 收率: 80%, 黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 512.2 (M+1)。

步骤 H: 烯丙基 (2-(4-羟基苯基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸酯(化合物 7.8)

将化合物 7.7 (630mg, 1.23mmol) 溶于 15mL 甲醇中, 加入碳酸钾 (255mg, 1.84mmol), 反应液在 40 度搅拌 1 小时。向反应液中加入饱和柠檬酸溶液至 pH 为 7, 用乙酸乙酯 (60mL) 萃取 2 次, 分液合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (30mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤、旋干, 柱层析纯化后得到化合物 7.8 (490mg, 收率: 100%, 黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 398.1 (M+1)。

步骤 I: 烯丙基 (2-(4-(2,3-二羟基丙氧基)苯基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸酯(化合物 7.9)

将化合物 7.8 (100mg, 0.25mmol) 溶解在 10mL N,N-二甲基甲酰胺中, 加入氢氧化钠 (24mg, 0.60mmol) 和缩水甘油 (46mg, 0.60mmol), 反应液在 50 度搅拌 14 小时。向反应液中加入 4M 盐酸/二氧六环溶液至 pH 为 6, 将反应液减压浓缩, 柱层析纯化得到产物 7.9 (35mg, 产率: 30%, 白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 472.1 (M+1)。

步骤 J: 烯丙基 (2-(4-(2,3-双(硝基氧基)丙氧基)苯基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸酯(化合物 7.10)

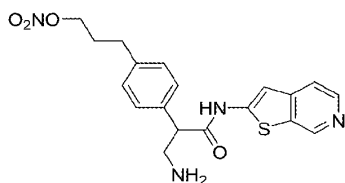
将 30 滴硝酸溶液加入到 40mL 二氯甲烷中, 反应液冷却至 0 度, 滴加硫酸 7 滴, 反应液在 0 度搅拌 1 小时。向反应液中滴加化合物 7.9 (35mg, 0.07mmol) 的 20mL 二氯甲烷悬浊液。反应液在 40 度搅拌 16 小时。向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 为 8, 用二氯甲烷 (30mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mLX2) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥。过滤、减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 7.10 (14mg, 产率: 34%, 无色油状物)。LCMS ESI (+)m/z: 562.1 (M+1)。

步骤 K: 3-(4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯氧基)丙烷-1,2-

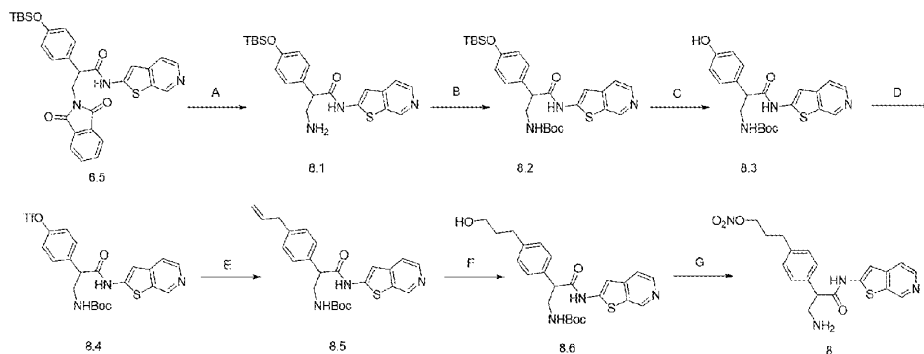
二硝酸酯 (化合物 7)

将化合物 7.10 (14mg, 0.02mmol) 溶解在 30mL 二氯甲烷中, 加入 1,3-二甲基咪唑-2,4,6 (1H, 3H, 5H) - 三酮 (19mg, 0.10mmol) 和四三苯基膦钯 (15mg, 0.01mmol), 反应液在 25 度和氮气保护下搅拌 2 小时。将反应液减压浓缩, 剩余物用反向制备纯化得到实施例 7 (2.8mg, 产率: 24%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 478.1 (M+1)。

实施例 8



3-(4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯基)丙基硝酸酯
具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 3-氨基-2-(4-((叔丁基二甲基)氧基)苯基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺 (化合物 8.1)

将化合物 6.5 (1.5g, 3.5mmol) 溶于 10mL 甲胺乙醇溶液中, 在 50°C 反应 1.5 小时。LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (20mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、柱层析纯化得产物 8.1 (1.0g, 产率: 66%)。LCMS ESI (+) m/z: 428.2 (M+1)。

步骤 B: (2-(4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)苯基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸叔丁酯 (化合物 8.2)

将化合物 8.1 (1.0g, 2.3mmol) 和 N, N-二异丙基乙胺 (0.7mL, 3.5mmol) 溶于 5mL 的 N, N-二甲基甲酰胺中, 然后加入二碳酸二叔丁酯 (0.8mL, 3.5mmol), 在室温下反应 1 小时, LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (20mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、柱层析纯化得产物 8.2 (1.2g, 产率: 100%)。LCMS ESI (+) m/z: 528.2 (M+1)。

步骤 C: (2-(4-羟基苯基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸叔丁酯 (化合物 8.3)

将化合物 8.2 (1.2g, 2.3mmol) 溶于 10mL 甲醇中, 然后加入碳酸钾 (476mg, 3.5mmol), 升温至 50°C 反应 2 小时, LCMS 监测反应完全。将反应液浓缩, 柱层析纯化得产物 8.3 (940mg, 产率: 63%)。LCMS ESI (+) m/z: 414.1 (M+1)。

步骤 D: 4-(3-((叔丁氧基羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯基三氟甲磺酸酯 (化合物 8.4)

将化合物 8.3 (940mg, 1.5mmol) 和吡啶 (474mg, 6.0mmol) 溶于 5mL 二氯甲烷中, 在 0°C 下滴加三氟甲磺酸酐 (846mg, 3.0mmol), 然后在室温下反应 30 分钟, LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 然后用二氯甲烷 (20mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥。

过滤、柱层析纯化得产物 8.4 (220mg, 产率: 27%)。LCMS ESI (+) m/z : 546.1 (M+1)。

步骤 E: (2-(4-烯丙基苯基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸叔丁酯 (化合物 8.5)

将化合物 8.4 (100mg, 0.18mmol), 2-烯丙基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷 (37mg, 0.22mmol) 和碳酸铯 (117mg, 0.36mmol) 溶于 9mL 四氢呋喃和 1mL 水中, 然后加入 [1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯 (6mg, 5mol%), 氮气置换, 在 85°C 下反应过夜, LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (10mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、柱层析纯化得产物 8.5 (78mg, 产率: 99%)。LCMS ESI (+) m/z : 438.2 (M+1)。

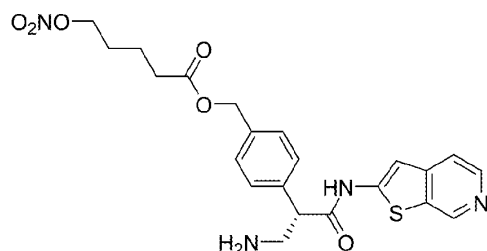
步骤 F: (2-(4-(3-羟丙基)苯基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸叔丁酯 (化合物 8.6)

将化合物 8.5 (78mg, 0.17mmol) 溶于 2mL 四氢呋喃中, 在冰浴下滴加硼烷 (10.0M, 0.02mL, 0.34mmol), 在 0°C 下反应 1 小时, 再在室温下反应 1 小时。然后在冰浴下滴加 5mL 氢氧化钠水溶液 (1M), 再滴加 1mL 双氧水 (30%), 在冰浴下反应 30 分钟, 再在室温下反应 30 分钟。LCMS 监测反应完全。加入水淬灭反应, 用乙酸乙酯萃取 (10mLX3), 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥。过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 8.6 (20mg, 产率: 26%)。LCMS ESI (+) m/z : 456.2 (M+1)。

步骤 G: 3-(4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯基)丙基硝酸酯 (化合物 8)

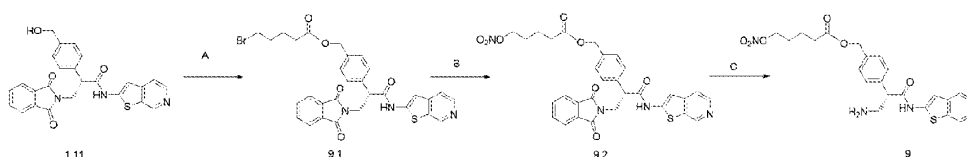
将 2 滴硝酸和 1 滴乙酸酐溶于二氯甲烷中, 在室温下搅拌 10 分钟, 然后将化合物 8.6 (8mg, 0.02mmol) 的二氯甲烷溶液慢慢滴入到体系中, 在室温下反应 1 小时, LCMS 监测反应完全。待反应完后, 减压浓缩反应液, 剩余物溶于 2mL 的甲醇中, 过滤, 滤液用反相制备纯化, 冻干后得到目标产物实施例 8 (1mg, 产率: 11%)。LCMS ESI (+) m/z : 401.1 (M+1)。

实施例 9



(S)-4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 5-(硝基氧基)戊酸酯

具体反应方程式如下所示



步骤 A: (S)-4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 5-戊酸酯 (化合物 9.1)

将化合物 1.11 (150mg, 0.33mmol) 溶解在 10mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 加入二环己基碳二亚胺 (135mg, 0.65mmol)、溴戊酸 (60mg, 0.33mmol)、4-二甲氨基吡啶 (41mg, 0.33mmol), 在室温下搅拌过夜。用饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 用 30mL 乙酸乙酯分三次萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 旋干、柱层析纯化得到产物 9.1 (120mg, 产率: 59%)。LCMS ESI (+) m/z : 620.1, 622.1 (M+1)。

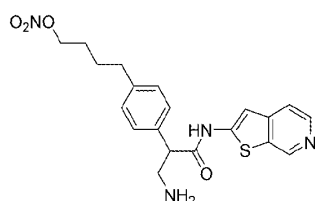
步骤 B: (S)-4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 5-(硝基氧基)戊酸 (化合物 9.2)

将化合物 9.1 (120mg, 0.19mmol) 溶解在 10mL 乙腈溶液中, 加入硝酸银 (36mg, 0.21mmol), 氮气保护下, 在 70°C 搅拌过夜。硅藻土过滤反应液, 旋干, 柱层析纯化得到产物 9.2 (40mg, 产率: 34%)。LCMS ESI (+) m/z: 603.1 (M+1)。

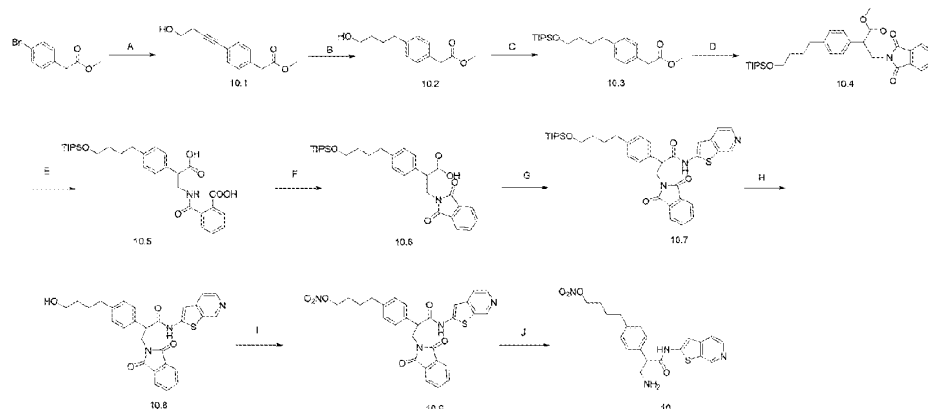
步骤 C: (S)-4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 5-(硝基氧基)戊酸酯 (化合物 9)

将化合物 9.2 (40mg, 0.07mmol) 溶解在 10mL 甲氧乙醇溶液中, 在 60°C 下搅拌 3 小时, 旋干溶剂, 反向制备纯化得到实施例 9 (10mg, 产率: 32%)。LCMS ESI (+) m/z: 473.1 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.38 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.20 - 8.12 (m, 4H), 7.48 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 9.2 Hz, 3H), 5.07 (s, 2H), 4.50 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 4.44 (q, J = 8.2, 5.5 Hz, 1H), 3.66 - 3.59 (m, 1H), 3.20 - 3.13 (m, 1H), 2.41 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.68 - 1.57 (m, 4H)。

实施例 10



4-(4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基)丁基硝酸丁酯
具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-(4-(4-羟基丁-1-炔-1-基)苄基)乙酸甲酯 (化合物 10.1)

将 2-(4-溴苄基)乙酸甲酯 (4.3g, 18.7mmol), 3-丁炔-1-醇 (2.6g, 37.4mmol) 溶于 100mL 三乙胺中, 然后加入四(三苯基膦)钯 (864mg, 4 mol%) 和碘化亚铜 (426mg, 12 mol%), 氮气置换, 在 100°C 下反应 2 小时。LCMS 监测反应完全。过滤, 滤液减压浓缩, 旋干, 柱层析纯化得产物 10.1 (2.8g, 产率: 68%)。LCMS ESI (+) m/z: 219.1 (M+1)。

步骤 B: 2-(4-(4-羟基丁基)苄基)乙酸甲酯 (化合物 10.2)

将化合物 10.1 (2.8g, 12.8mmol) 溶于 20mL 甲醇中, 然后加入钯/碳 (280mg, 10%), 氢气置换三次, 在 40°C 下反应过夜。LCMS 监测反应完全。过滤, 滤液减压浓缩, 旋干, 柱层析纯化得产物 10.2 (2.0g, 产率: 70%)。LCMS ESI (+) m/z: 223.1 (M+1)。

步骤 C: 2-(4-(4-(三异丙基甲硅烷基)氧基)丁基)苄基)乙酸甲酯 (化合物 10.3)

将化合物 10.2 (2.0g, 9.0mmol) 溶于 10mL 二氯甲烷中, 然后加入 2,6-二甲基吡啶 (1.6mL, 13.5mmol) 和三异丙基硅基三氟甲磺酸酯 (3.0mL, 10.8mmol) 在室温下反应过夜。TLC 监测到原料反应完全。加入水淬灭反应, 用二氯甲烷 (50mLx3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (100mLx3) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 10.3 (3.4g, 产率: 100%)。

步骤D: 3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-2-(4-(4-(三异丙基甲硅烷基)氧基)丁基)苯基)丙酸甲酯(化合物10.4)

将化合物10.3(3.4g, 9.0mmol)溶于20mL无水四氢呋喃中,氮气置换,干冰丙酮降温至-78°C,缓慢滴加六甲基二硅基胺基锂(1.0M, 10.8mL, 10.8mmol),滴加完成后体系于-78°C搅拌1小时,将N-溴甲基邻苯二甲酰亚胺(2.6g, 10.8mmol)溶于10mL四氢呋喃中,慢慢滴加到体系中,控制滴加温度低于-70°C,滴加结束后反应保持在-78°C下搅拌3小时,LCMS监测到原料反应完全。加入饱和的氯化铵溶液(10mL)淬灭反应,用乙酸乙酯(50mLX3)萃取,饱和食盐水(100mL)洗涤。无水硫酸钠干燥,过滤、旋干,柱层析纯化得产物10.4(2.9g, 产率: 60%)。LCMS ESI(+) m/z : 538.3 (M+1)。

步骤E: 2-(2-羧基-2-(4-(4-(三异丙基甲硅烷基)氧基)丁基)苯基)乙基)氨基甲酸酯(化合物10.5)

将化合物10.4(2.9g, 5.4mmol)溶于10mL四氢呋喃和3mL水中,在0°C下加入氢氧化锂一水合物(680mg, 16.2mmol),于0°C下搅拌3小时,LCMS监测反应完全。减压蒸出有机溶剂,用1M的盐酸水溶液调pH至3-4,用乙酸乙酯萃取(50mLX3),合并有机相,用饱和食盐水(100mLX3)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥,过滤、旋干得产物10.5(2.8g, 产率: 94%)。LCMS ESI(+) m/z : 542.3 (M+1)。

步骤F: 3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-2-(4-(4-(三异丙基甲硅烷基)氧基)丁基)苯基)丙酸(化合物10.6)

将化合物10.5(2.8g, 5.1mmol), 1-羟基苯并三唑(688mg, 5.1mmol)和三乙胺(2.1mL, 15.3mmol)溶于10mL二氯甲烷中,氮气保护,降温至0°C,然后向反应液中加入1-乙基-3-(2-甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(979mg, 5.1mmol),搅拌一段时间,反应液变澄清,缓慢升温至室温,反应过夜。LCMS监测反应完全。加水稀释反应液,用二氯甲烷(50mLX3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(100mL)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥,过滤、旋干,柱层析纯化得产物10.6(2.3g, 产率: 86%)。LCMS ESI(+) m/z : 524.3 (M+1)。

步骤G: 3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)-2-(4-(4-(三异丙基硅基)氧基)丁基)苯基)丙酰胺(化合物10.7)

将化合物10.6(300mg, 0.57mmol)溶于5mL的N,N-二甲基甲酰胺中,然后依次加入2-(7-氧化苯并三氧唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(327mg, 0.86mmol)和N,N-二异丙基乙胺(147mg, 1.1mmol),在室温下搅拌5分钟,再加入化合物19.5(102mg, 0.68mmol),在室温下反应2小时。LCMS监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应,用乙酸乙酯(20mLX3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(50mL)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥,过滤、旋干,柱层析纯化得产物10.7(373mg, 产率: 100%)。LCMS ESI(+) m/z : 656.3 (M+1)。

步骤H: 3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-2-(4-(4-羟丁基)苯基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺(化合物10.8)

将化合物10.7(373mg, 0.69mmol)溶于2mL四氢呋喃中,然后加入6mL盐酸水溶液(1.0M)中,40°C下反应过夜。LCMS监测反应完全。反应完后加入饱和碳酸氢钠溶液中和,然后用乙酸乙酯(20mLX3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(50mL)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥,过滤、旋干得到粗产物10.8(270mg, 产率: 95%)。LCMS ESI(+) m/z : 500.2 (M+1)。

步骤I: 4-(4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯基)丁基硝酸盐(化合物10.9)

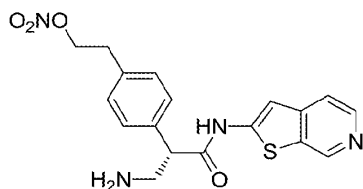
将4滴硝酸和2滴乙酸酐溶于二氯甲烷中,在室温下搅拌10分钟,然后将化合物10.8(30mg, 0.06mmol)的二氯甲烷溶液慢慢滴入到体系中,反应过程中化合物难溶,再在另一反应瓶中配置同样的硝酸和乙酸酐的二氯甲烷溶液,将不溶的反应液慢慢滴入,重复3-4次,直到化合物全部溶解。LCMS监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应,然后用二氯甲烷(10mLX3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(20mL)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥,过滤、柱层析纯化得产物10.9(22mg, 产率: 67%)。LCMS ESI(+) m/z : 545.1 (M+1)。

步骤J: 4-(4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯基)丁基硝酸丁酯(化合物10)

将化合物10.9(22mg, 0.04mmol)溶于1mL甲醇中,然后加入水合肼(20mg, 0.40mmol),在40°C下

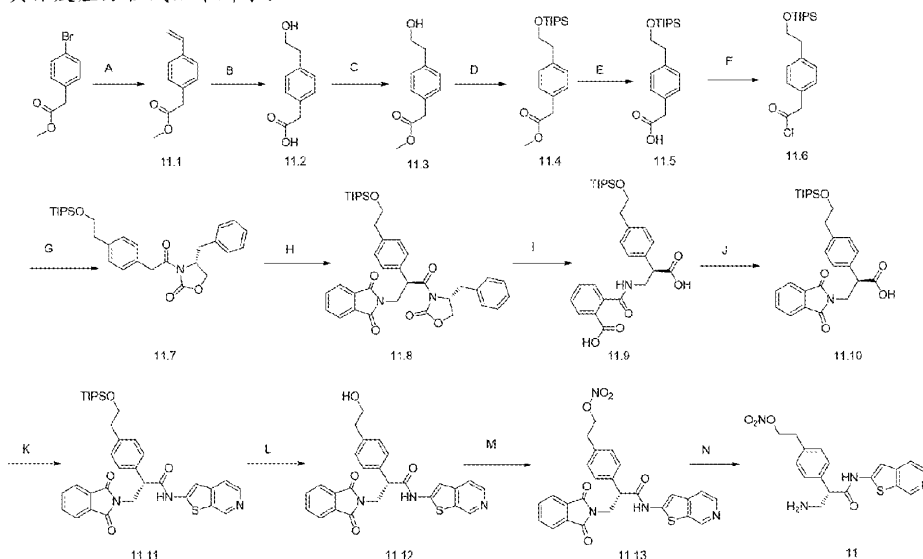
反应过夜, LCMS 监测反应完全。反应完后加入水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (10mLX3) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩, 剩余物溶于 2mL 的甲醇中, 过滤, 滤液用反相制备纯化, 冻干后得到目标产物实施例 10 (2mg, 产率: 10%)。LCMS ESI (+) m/z : 415.1 (M+1)。

实施例 11



(S)-4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯硝酸乙酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-(4-乙烯基苯基)乙酸甲酯 (化合物 11.1)

将 2-(4-溴苯基)乙酸甲酯 (10g, 43.65mmol) 溶于 200mL 四氢呋喃和 20mL 水中, 加入乙烯基三氟硼酸钾 (7g, 52.39mmol), 碳酸铯 (28.6g, 87.31mmol) 和双(三苯基膦)氯化钯 (600mg, 0.87mmol), 反应液在 78 度和氮气保护下搅拌 16 小时。将反应液冷却至室温, 向反应液中加入水 100mL, 用乙酸乙酯 (400mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (100mL) 洗涤 2 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到化合物 11.1 (5.6g, 产率: 73%, 无色油状物)。

步骤 B: 2-(4-(2-羟乙基)苯基)乙酸 (化合物 11.2)

将化合物 11.1 (5.6g, 31.78mmol) 溶于 50mL 四氢呋喃中, 冷却至 0 度, 滴加 10M 的硼烷二甲硫醚溶液 6.4mL。反应液在 0 度和氮气保护下搅拌 1 小时, 然后在 20 度搅拌 1 小时。将反应液冷却至 0 度, 滴加 1M 的氢氧化钠溶液和 30% 的双氧水 56mL。反应液在 0 度搅拌 0.5 小时, 然后在 20 度搅拌 1 小时。向反应液中加入饱和亚硫酸钠溶液 400mL, 然后用 1M 的盐酸溶液调节 pH 为 2, 用乙酸乙酯 (500mL) 萃取 5 次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化后得到化合物 11.2 (3.85g, 收率: 67%, 白色固体)。

步骤 C: 2-(4-(2-羟乙基)苯基)乙酸甲酯 (化合物 11.3)

将化合物 11.2 (3.85g, 21.37mmol) 溶于 45mL 二氯甲烷和 10mL 甲醇中, 冷却至 0 度, 滴加 2M 的三甲基硅基重氮甲烷 11.2mL, 反应液在室温搅拌 0.5 小时。将反应液减压浓缩, 柱层析纯化后得到化合物 11.3 (2.4g, 收率: 58%, 无色油状物)。

步骤 D: 2-(4-(2-((三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)乙酸甲酯 (化合物 11.4)

将化合物 11.3 (2.4g, 12.36mmol) 溶于 40mL 二氯甲烷中, 冷却至 0 度, 加入 2,6-二甲基吡啶 (1.99g, 18.54mmol) 和三异丙基硅基三氟甲磺酸酯 (4.56g, 14.83mmol), 反应液在室温搅拌 16 小时。向反应液中加入水 50mL, 用二氯甲烷 (80mL) 萃取 2 次, 分液合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (30mL) 洗涤 1 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化后得到化合物 11.4 (3.7g, 收率: 85%, 无色油状物)。

步骤 E: 2-(4-(2-(三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)乙酸 (化合物 11.5)

将化合物 11.4 (3.7g, 10.55mmol) 溶解在 15mL 水, 15mL 甲醇和 40mL 四氢呋喃中, 加入一水合氢氧化锂 (1.33g, 31.65mmol), 反应液在室温搅拌 2 小时。向反应液中加入 1M 的盐酸溶液至 pH 为 3, 用乙酸乙酯 (100mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 用饱和食盐水 (40 mL) 洗 2 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到产物 11.5 (3.43g, 产率: 97%, 黄色固体)。

步骤 F: 2-(4-(2-(三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)乙酰氯 (化合物 11.6)

将化合物 11.5 (3.43g, 10.19mmol) 溶解在 40mL 二氯甲烷中, 将反应液冷却至 0 度, 在氮气保护下滴加草酰氯 (1.55g, 12.23mmol), 反应液在室温搅拌 12 小时。将反应液减压浓缩得到产物 11.6 (3.62g, 产率: 100%, 黄色油状物)。

步骤 G: (R)-4-苄基-3-(2-(4-(2-(三异丙基硅基)氧基)乙基)苯基)乙酰基)恶唑烷-2-酮 (化合物 11.7)

将 (R)-4-苄基恶唑烷-2-酮 (1.72g, 9.69mmol) 溶解在 30mL 四氢呋喃中, 将反应液冷却至 -78 度, 在氮气保护下, 滴加 2.5M 的正丁基锂 (4.28mL, 10.71mmol), 反应液在 -78 度搅拌 1 小时。然后向反应液中滴加化合物 11.6 (3.62g, 10.20mmol) 的四氢呋喃溶液 15mL。反应液在 -78 度搅拌 2.5 小时。向反应液中加入氯化铵溶液 30mL, 用乙酸乙酯 (150mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50mL) 洗 2 次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 11.7 (3.15g, 产率: 62%, 无色油状物)。LCMS ESI (+) m/z: 496.3 (M+1)。

步骤 H: 2-((R)-3-((R)-4-苄基-2-氧代恶唑烷-3-基)-3-氧代-2-(4-(2-(三异丙基硅基)氧基)乙基)苯基)丙基)异噁唑-1,3-二酮 (化合物 11.8)

在零下 78 摄氏度下, 将化合物 11.7 (3.15g, 6.35mmol) 溶于 30mL 无水四氢呋喃中, 然后慢慢滴入双三甲基硅基胺基锂 (7.63mL, 7.63mmol) 到反应液里, 在此温度下搅拌 1 小时, 紧接着将称量好的 N-溴甲基邻苯二甲酰亚胺 (1.83g, 7.63mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (20mL) 后慢慢滴加到反应瓶中, 之后在此温度下搅拌 2 小时。用氯化铵饱和溶液对反应进行淬灭, 乙酸乙酯 (200mL) 萃取 2 次, 分液合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (100mL) 洗涤 2 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化后得到化合物 11.8 (2g, 收率: 48%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 655.3 (M+1)。

步骤 I: (R)-2-((2-羧基-2-(4-(2-(三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)乙基)氨基甲酰基)苯甲酸 (化合物 11.9)

将化合物 11.8 (2g, 3.05mmol) 溶于 25mL 甲醇和 25mL 四氢呋喃中, 然后将一水合氢氧化锂 (385mg, 9.16mmol) 溶于水 (20mL) 里滴入到反应液中, 在室温搅拌 3 小时。向反应液中加入水 60mL, 水相用乙酸乙酯 (40mL) 洗 2 次, 然后用 1M 的盐酸溶液调节 pH 为 4, 用乙酸乙酯 (100mL) 萃取 2 次, 分液合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干后得到化合物 11.9 (980mg, 收率: 62%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 514.2 (M+1)。

步骤 J: (R)-3-(1,3-二氧代异噁唑啉-2-基)-2-(4-(2-(三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)丙酸 (化合物 11.10)

将化合物 11.9 (980mg, 1.91mmol) 溶解在 30mL N,N-二甲基甲酰胺中, 加入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酸二亚胺盐酸盐 (548mg, 2.86mmol), 1-羟基苯并三唑 (387mg, 2.86mmol) 和三乙胺 (577mg, 5.72mmol), 反应液在室温搅拌 12 小时。将反应液用 1M 盐酸溶液调节 pH 至 4, 用乙酸乙酯 (60mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mL) 洗 3 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 11.10 (840mg, 产率: 89%, 黄色油状物)。LCMS ESI (+) m/z: 496.2 (M+1)。

步骤 K: (S)-3-(1,3-二氧代异噁唑啉-2-基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)-2-(4-(2-(三异丙基甲硅烷基)氧基)乙基)苯基)丙酰胺 (化合物 11.11)

将化合物 11.10 (840mg, 1.69mmol) 溶解在 30mL N,N-二甲基甲酰胺中, 加入二异丙基乙胺 (438mg,

3.39mmol), 2-(7-氧化苯并三氮唑)-N, N, N', N'-四甲基脲六氟磷酸盐(967mg, 2.54mmol)和噻吩并[2,3-c]吡啶-2-胺(305mg, 2.03mmol)。反应液在室温搅拌2小时。向反应液中加入水30mL, 用乙酸乙酯(50mL)萃取2次, 合并有机相, 用饱和食盐水(30mL)洗2次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物11.11(580mg, 产率: 55%, 黄色固体)。LCMS ESI(+) m/z : 628.3 (M+1)。

步骤L: (S)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-2-(4-(2-羟乙基)苯基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺(化合物11.12)

将化合物11.11(580mg, 0.92mmol)溶解在50mL 四氢呋喃中, 加入1.5M的盐酸水溶液20mL, 反应液在40度搅拌2小时。将反应液冷却至室温, 用饱和碳酸氢钠溶液调节pH至8, 用乙酸乙酯(100mL)萃取2次, 合并有机相, 用饱和食盐水(30mL)洗3次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物11.12(350mg, 产率: 80%, 黄色固体)。LCMS ESI(+) m/z : 472.1 (M+1)。

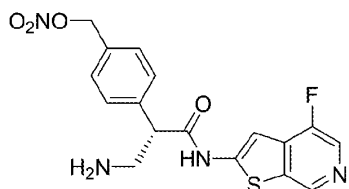
步骤M: (S)-4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯硝酸乙酯(化合物11.13)

将2mL 硝酸溶液加入到50mL 二氯甲烷中, 反应液冷却至0度, 滴加硫酸0.5mL, 反应液在0度搅拌1小时。向反应液中滴加化合物11.12(250mg, 0.53mmol)的10mL 二氯甲烷悬浊液。反应液在40度搅拌8小时。向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液调节pH为8, 用二氯甲烷(80mL)萃取2次, 合并有机相, 用饱和食盐水(30mL)洗2次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物11.13(250mg, 产率: 92%, 黄色固体)。LCMS ESI(+) m/z : 517.1 (M+1)。

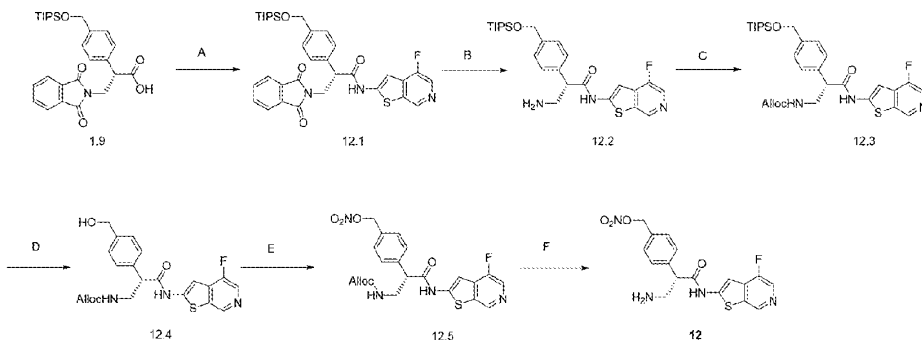
步骤N: (S)-4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯硝酸乙酯(化合物11)

将化合物11.13(250mg, 0.48mmol)溶解在35mL 乙醇中, 加入水合肼(243mg, 4.80mmol), 反应液在50度和氮气保护下搅拌5小时。向反应液中加入70mL 水, 用乙酸乙酯(100mL)萃取2次, 合并有机相, 用饱和食盐水(40mL)洗2次, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用反向制备纯化得到产物11(88mg, 产率: 47%, 白色固体)。LCMS ESI(+) m/z : 387.1 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.75 (s, 1 H), 9.43 (s, 1 H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.07 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.01 (s, 2 H), 7.35 (s, 4 H), 7.26 (s, 1 H), 4.74 (t, J = 6.8 Hz, 2 H), 4.21 (dd, J = 5.4, 8.8 Hz, 1 H), 3.61 (s, 1 H), 3.18 (s, 1 H), 3.00 (t, J = 6.8 Hz, 2 H)

实施例 12



(S)-4-(3-氨基-1-(4-氟噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)氨基)-1-氧代丙-2-基)苯基硝酸酯
具体反应方程式如下所示:



步骤A: (S)-3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-N-(4-氟噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)-2-(4-((三

异丙基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)丙酰胺(化合物 12.1)

将化合物 1.9 (400mg, 0.83mmol) 溶于 6mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入 50% 1-丙基磷酸酐的 N,N-二甲基甲酰胺溶液 (793mg, 1.24mmol)、N,N-二异丙基乙胺 (214mg, 1.66mmol) 和 4-氟噻吩并[2,3-c]吡啶-2-胺 (154mg, 0.92mmol), 将反应常温搅拌 2 小时。通过 LCMS 确认反应完全。加水到反应瓶中, 用乙酸乙酯 (10mLX2) 萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 柱层析纯化后得到白色固体 12.1 (300mg, 收率: 57%)。LCMS ESI (+) m/z: 632.2 (M+1)。

步骤 B: (S)-3-氨基-N-(4-氟噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)-2-(4-((三异丙基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)丙酰胺(化合物 12.2)

将化合物 12.1 (1.1g, 1.74mmol) 溶于乙醇 (12mL) 中, 然后加入水合肼 (870mg, 17.4mmol) 到反应液中, 反应在惰性气体氛围下 55 摄氏度搅拌 2 小时。LCMS 确认反应完全, 反应液用真空泵浓缩旋干, 剩余物溶于乙酸乙酯中, 然后有机相用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 真空浓缩后得到淡黄色固体产物 12.2 (580mg, 收率: 66%)。LCMS ESI (+) m/z: 502.2 (M+1)。

步骤 C: (S)-烯丙基(3-((4-氟噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)氨基)-3-氧代-2-(4-((三异丙基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)丙基)氨基甲酸酯(化合物 12.3)

将化合物 12.2 (580mg, 1.16mmol) 溶于二氯甲烷 (10mL) 中, 然后将称量好的 N,N-二异丙基乙胺 (194mg, 1.51mmol) 和氯甲酸烯丙酯 (167mg, 1.39mmol) 加入反应瓶中, 反应度常温搅拌 1 小时。LCMS 确认反应完全。用二氯甲烷稀释反应液, 之后用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 经柱层析纯化后得到淡黄色固体 12.3 (520mg, 收率: 77%)。LCMS ESI (+) m/z: 586.3 (M+1)。

步骤 D: (S)-烯丙基(3-((4-氟噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)氨基)-2-(4-(羟甲基)苯基)-3-氧代丙基)氨基甲酸酯(化合物 12.4)

将化合物 12.3 (520mg, 0.89mmol) 溶于四氢呋喃 (10mL) 和甲醇 (1mL) 中, 然后将 1.5mol/L 的稀盐酸 (6mL) 加入反应瓶中, 将反应置于 60 摄氏度的油浴中搅拌 2 小时。LCMS 确认反应完全。将饱和的碳酸氢钠溶液加入到反应瓶中, 然后用乙酸乙酯 (12mL) 萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 真空浓缩后粗品用甲基叔丁基醚打浆, 得到粗品白色固体 12.4 (400mg, 收率: 100%)。LCMS ESI (+) m/z: 430.1 (M+1)。

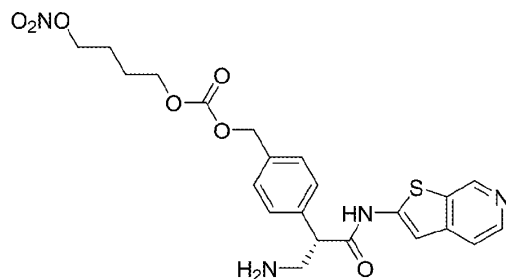
步骤 E: (S)-烯丙基(3-((4-氟噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)氨基)-2-(4-(硝基氧基)甲基)苯基)-3-氧代丙基)氨基甲酸酯(化合物 12.5)

将乙酸酐 (15 滴) 和浓硝酸 (30 滴) 溶于 50mL 二氯甲烷中, 反应液常温搅拌 20 分钟, 然后将化合物 12.4 (320mg, 0.75mmol) 加入反应液中, 常温下继续搅拌 50 分钟。LCMS 检测到反应完全, 将饱和碳酸氢钠溶液加到反应瓶中, 用二氯甲烷 (15mL) 萃取, 饱和食盐水洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥。过滤、旋干, 剩余物经柱层析纯化后得到白色固体 12.5 (123mg, 收率: 35%)。LCMS ESI (+) m/z: 475.1 (M+1)。

步骤 F: (S)-4-(3-氨基-1-((4-氟噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)氨基)-1-氧代丙-2-基)苄基硝酸酯(化合物 12)

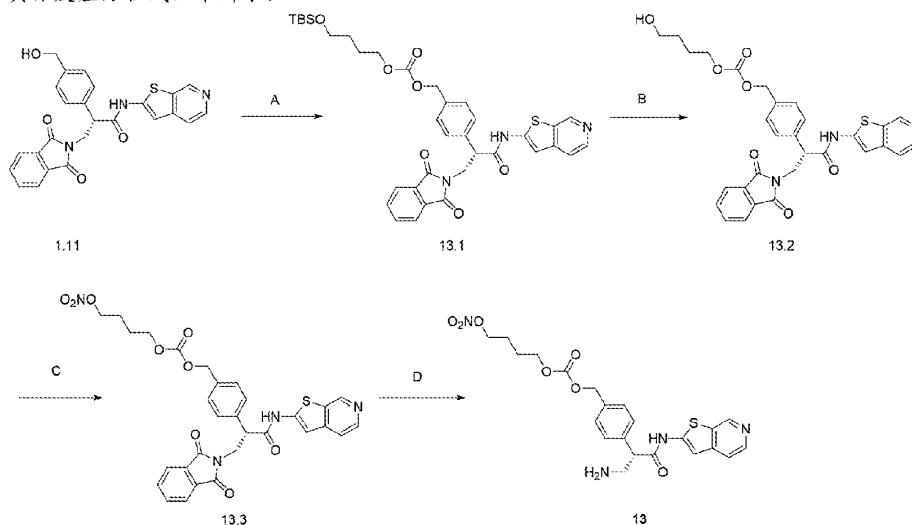
将化合物 12.5 (123mg, 0.26mmol) 溶于 8mL 的二氯甲烷中, 然后加入四(三苯基膦)钯 (30mg, 0.026mmol) 和 1,3-二甲基巴比妥酸 (44.6mg, 0.286mmol) 到反应液中, 常温搅拌 1 小时。LCMS 检测反应完全。加饱和的碳酸氢钠溶液到反应瓶中, 用二氯甲烷 (12mL) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 旋干, 剩余物经反向制备, 冻干后得到白色固体 12 (65mg, 收率: 50%, 纯度: 98%)。LCMS ESI (+) m/z: 391.1 (M+1)。

实施例 13



(S)-4-(3-(氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(4-(硝基氧基)丁基)碳酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: (S)-4-(4-(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁基 4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)氨基)丙-2-基)碳酸酯(化合物 13.1)

在冰浴下,将 4-(叔丁基二甲基硅烷基)氧基)丁-1-醇(100mg, 0.49mmol)溶于二氯甲烷(8mL)中,然后加入三光气(87mg, 0.29mmol)和吡啶(46mg, 0.59mmol)到反应液中,然后常温搅拌 3 小时。再将化合物 1.11(40mg, 0.088mmol)和吡啶(7mg, 0.096mmol)加入到反应瓶中,常温搅拌过夜。LCMS 确认反应完全,反应液用二氯甲烷稀释,依次用饱和碳酸氢钠、0.5mol/L 的稀盐酸和饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,经柱层析纯化后得到淡黄色油状产物 13.1(25mg, 收率: 42%)。LCMS ESI(+)
m/z: 688.2(M+1)。

步骤 B: (S)-4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)氨基)丙-2-基)苄基(4-羟基丁基)碳酸酯(13.2)

将化合物 13.1(25mg, 0.036mmol)溶于四氢呋喃(5mL)和甲醇(1mL)中,然后将 4mol/L 的盐酸-二氧六环溶液(0.1mL)加入反应瓶中,反应常温搅拌 10 分钟。LCMS 确认反应完全,反应液真空浓缩后得到粗品白色固体 13.2(15mg, 收率: 72%)。LCMS ESI(+)
m/z: 574.2(M+1)。

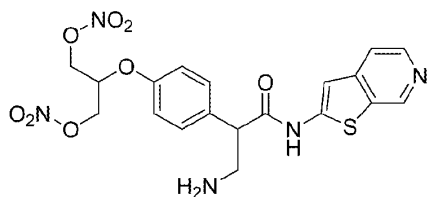
步骤 C: (S)-4-(3-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)氨基)丙-2-基)苄基(4-(硝基氧基)丁基)碳酸酯(化合物 13.3)

将乙酸酐(1 滴)和浓硝酸(2 滴)溶于二氯甲烷(10mL)中,反应液常温搅拌 20 分钟,然后将化合物 13.2(15mg, 0.026mmol)加入反应瓶中,反应继续在常温搅拌 20 分钟。通过 LCMS 确认反应完全,将饱和的碳酸氢钠溶液加入到反应瓶中,然后用二氯甲烷(10mL)萃取,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥。过滤,经柱层析纯化后得到淡黄色油状产物 13.3(5mg, 收率: 31%)。LCMS ESI(+)
m/z: 619.1(M+1)。

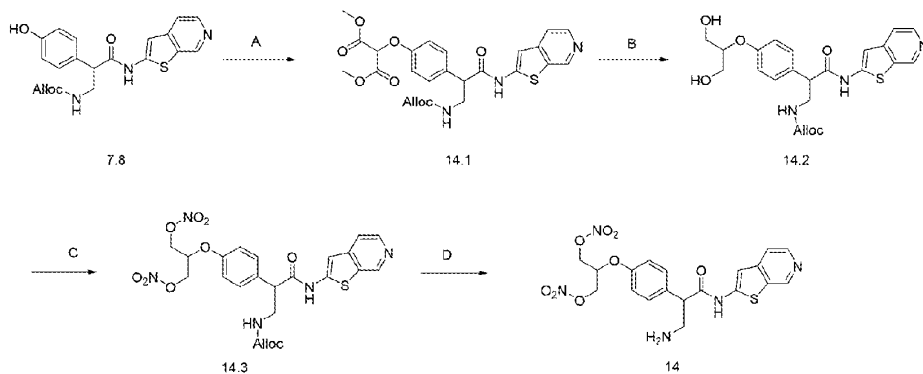
步骤 D: (S)-4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(4-(硝基氧基)丁基)碳酸酯(化合物 13)

将化合物 13.3 (5mg, 0.008mmol) 溶于乙醇 (5mL) 中, 然后加入水合肼 (1 滴) 到反应液中, 反应在惰性气体氛围下 55 摄氏度搅拌 1.5 小时。通过 LCMS 确认反应完全。水被加入到反应液里, 用乙酸乙酯 (10mL) 进行萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩旋干, 残渣溶于甲醇 (1mL), 反向制备纯化后得到白色固体实施例 13 (1.5mg (三氟乙酸盐), 收率: 31%, 纯度: 95%)。LCMS ESI (+) m/z: 489.1 (M+1)。

实施例 14



2-(4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄氧基)丙烷-1,3-二硝酸酯具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-(4-(3-((烯丙氧基)羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄氧基)丙二酸二甲酯(化合物 14.1)

将化合物 7.8 (500mg, 1.26mmol) 溶解在 20mL N,N-二甲基甲酰胺中, 加入 2-溴丙二酸二甲酯 (319mg, 1.51mmol) 和碳酸钾 (260mg, 1.89mmol), 反应液在 50 度搅拌 1.5 小时。向反应液中加入水 25mL, 用乙酸乙酯 (80mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 用饱和食盐水 (40mL) 洗 2 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 14.1 (250mg, 产率: 38%, 黄色油状物)。LCMS ESI (+) m/z: 528.1 (M+1)。

步骤 B: 烯丙基(2-(4-((1,3-二羟基丙烷-2-基)氧基)苄基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸酯(化合物 14.2)

将化合物 14.1 (250mg, 0.47mmol) 溶解在 15mL 四氢呋喃中, 反应液冷却至 0 度, 分批加入硼氢化钠 (107mg, 2.84mmol), 反应液在 0 度搅拌 20 分钟, 滴加甲醇 15mL, 反应液在室温搅拌 1 小时。向反应液加入硼氢化锂 (100mg, 4.70mmol), 反应液在 50 度搅拌 3 小时。向反应液加入 1M 盐酸溶液至 pH 为 6, 将反应液减压浓缩, 剩余物用反向制备纯化得到产物 14.2 (130mg, 产率: 58%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 472.1 (M+1)。

步骤 C: 烯丙基(2-(4-((1,3-双(硝基氧基)丙-2-基)氧基)苄基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸酯(化合物 14.3)

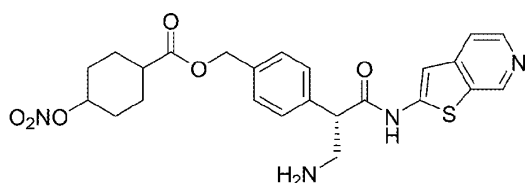
将 3mL 硝酸溶液加入到 100mL 二氯甲烷中, 反应液冷却至 0 度, 滴加硫酸 0.7mL, 反应液在 0 度搅拌 1 小时。向反应液中加入化合物 14.2 (130mg, 0.27mmol), 反应液在 40 度搅拌 4 小时。向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 为 8, 用二氯甲烷 (80mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mL) 洗 2 次,

用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物用柱层析纯化得到产物 14.3 (8mg, 产率: 5%, 黄色固体)。LCMS ESI (+) m/z : 562.1 (M+1)。

步骤 D: 2-(4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄氧基)丙烷-1,3-二硝酸酯(化合物 14)

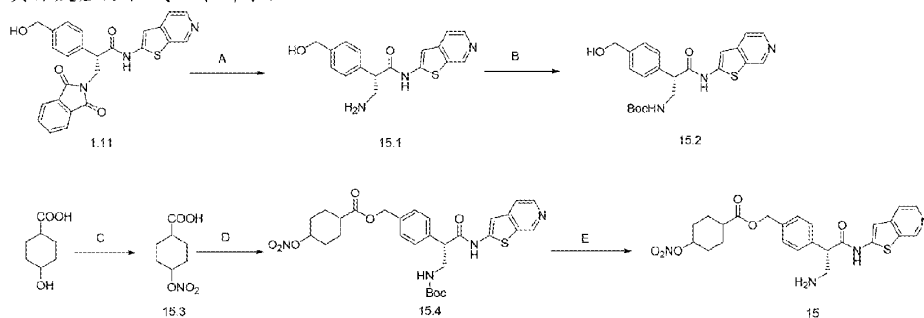
将化合物 14.3 (8mg, 0.01mmol) 溶解在 8mL 二氯甲烷中, 加入 1,3-二甲基咪唑啉-2,4,6(1H, 3H, 5H)-三酮 (2.7mg, 0.02mmol) 和四三苯基磷钨 (2mg, 0.002mmol), 反应液在室温和氮气保护下搅拌 0.5 小时。将反应液减压浓缩, 剩余物用反向制备纯化得到实施例 14 (6.5mg, 产率: 96%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z : 478.1 (M+1)。

实施例 15



(S)-4-(3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 4-(硝基氧基)环己烷-1-甲酸

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: (S)-3-氨基-2-(4-(羟甲基)苄基)-N-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)丙酰胺(化合物 15.1)

将化合物 1.11 (6g, 13.13mmol) 溶于乙醇 (130mL) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (25mL) 中, 然后加水合肼 (6.56g, 131.3mmol) 到反应液中, 反应在 60 度搅拌 3 小时。LCMS 确认反应完全, 反应液冷却到室温后硅藻土过滤, 滤液真空浓缩旋干, 得到粗品化合物 15.1 (5g)。LCMS ESI (+) m/z : 328.1 (M+1)。

步骤 B: (S)-叔丁基(2-(4-(羟甲基)苄基)-3-氧代-3-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸酯(化合物 15.2)

将粗品化合物 15.1 (5g, 15.3mmol) 溶于 60mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 加入三乙胺 (6.18g, 61.2mmol) 和二碳酸二叔丁酯 (6.67g, 30.6mmol), 反应在常温搅拌 0.5 小时。通过 LCMS 确认反应完全, 加水到反应液里, 用乙酸乙酯 (35mL) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤、浓缩旋干, 剩余物经硅胶柱纯化后得到淡黄色固体产物 15.2 (3.5g, 纯度: 97%)。LCMS ESI (+) m/z : 428.1 (M+1)。

步骤 C: 4-(硝基氧基)环己烷-1-羧酸(化合物 15.3)

将 4-羟基环己烷-1-羧酸 (200mg, 1.39mmol) 溶于 1mL 的乙酸酐中, 冰水浴下加入浓硝酸和乙酸酐的混酸溶液 (0.2mL 硝酸, 0.4mL 醋酸酐), 在 0°C 下搅拌 1 小时, TLC 监测反应完全。待反应完后, 加入 20mL 水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (10mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 15.3 (210mg, 产率: 80%)。

步骤 D: (S)-4-(3-(叔丁氧羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 4-(硝基氧基)-1-羧酸环己烷(化合物 15.4)

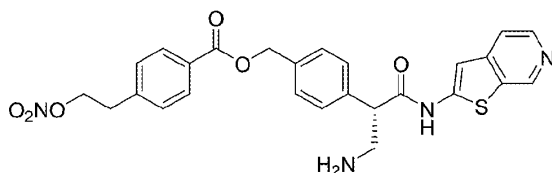
将化合物 15.2 (100mg, 0.23mmol) 和化合物 15.3 (49mg, 0.26mmol) 溶于 3mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (68mg, 0.35mmol) 和 4-二甲氨基吡啶

(28mg, 0.23mmol), 在室温下反应过夜。TLC 监测反应完全, 加水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (20mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 15.4 (127mg, 产率: 91%)。

步骤 E: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 4-(硝基氧基)环己烷-1-甲酸 (化合物 15)

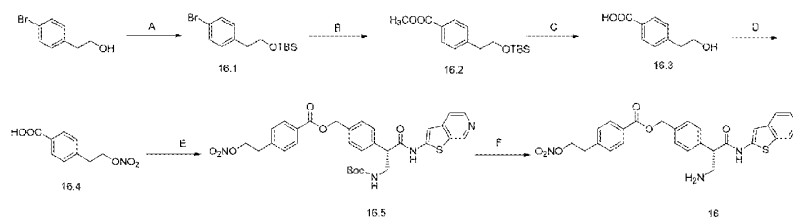
将化合物 15.4 (127mg, 0.215mmol) 溶于 5mL 的甲醇中, 加入 2mL 盐酸甲醇溶液 (4M), 在室温下搅拌 1 小时, 然后将体系升温至 50°C 反应 1 小时, TLC 监测反应完全。待反应完后, 减压浓缩反应液, 剩余物溶于 5mL 的甲醇和水溶液中, 过滤, 滤液用反相制备纯化, 冻干后得到目标产物实施例 15 (19mg, 产率: 18%, 纯度: 97%)。LCMS ESI (+) m/z: 499.2 (M+1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13.36 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 8.12 - 8.06 (m, 1H), 7.48 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 8.6 Hz, 3H), 5.17 (s, 1H), 5.08 (d, J = 3.9 Hz, 2H), 5.05 - 4.88 (m, 1H), 4.54 - 4.30 (m, 1H), 3.63 (s, 1H), 3.18 (s, 2H), 2.02 (dd, J = 21.9, 11.0 Hz, 3H), 1.93 - 1.68 (m, 2H), 1.68 - 1.33 (m, 4H)。

实施例 16



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 4-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 4-(溴苯乙氧基) (叔丁基) 二甲基硅烷 (化合物 16.1)

将 4-溴苯乙醇 (2g, 9.95mmol) 和咪唑 (1.7g, 25mmol) 溶于 20mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 在冰水浴下分批加入叔丁基二甲基氯硅烷 (3g, 19.9mmol), 然后该体系在室温下搅拌 2 小时。TLC 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (30mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (40mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 16.1 (2.82g, 产率: 90%)。

步骤 B: 4-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)苯甲酸甲酯 (化合物 16.2)

将化合物 16.1 (2.82g, 8.95mmol) 和 [1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯 (659mg, 0.1mmol) 溶于 30mL 的 N,N-二甲基甲酰胺和 90mL 的甲醇混合溶剂中, 然后加入 10mL 三乙胺, 该体系在 80°C 和 CO 氛围下反应过夜。LCMS 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (40mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (40mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 16.2 (1.84g, 产率: 70%)。

步骤 C: 4-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)苯甲酸 (化合物 16.3)

将化合物 16.2 (736mg, 2.5mmol) 溶于 5mL 的甲醇中, 然后加入一水氢氧化锂 (315mg, 7.5mmol), 在室温下反应过夜。LCMS 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 用 6N 的盐酸水溶液调节 pH 至 3 并搅拌半小时, 再用乙酸乙酯 (30mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 16.3 (254mg, 产率: 61%)。

步骤 D: 4-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸(化合物 16.4)

将化合物 16.3 (100mg, 0.6mmol) 溶于 3mL 的二氯甲烷中, 在冰水浴下加入浓硝酸和浓硫酸的混合酸溶液 (0.4mL 的浓硝酸, 0.1mL 的浓硫酸), 然后在室温下反应 2 小时。TLC 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 用二氯甲烷 (15mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 16.4 (92mg, 产率: 73%)。

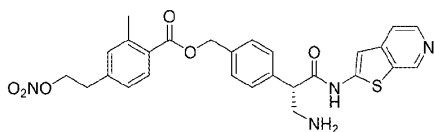
步骤 E: (S)-4-(3-(叔丁氧羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基 4-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯(化合物 16.5)

将化合物 15.2 (100mg, 0.234mmol) 和化合物 16.4 (55mg, 0.258mmol) 溶于 3mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入 1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (67mg, 0.351mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (28mg, 0.234mmol), 在室温下反应过夜。TLC 监测反应完全。加入水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (20mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 16.5 (117mg, 产率: 81%)。

步骤 F: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 4-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯(化合物 16)

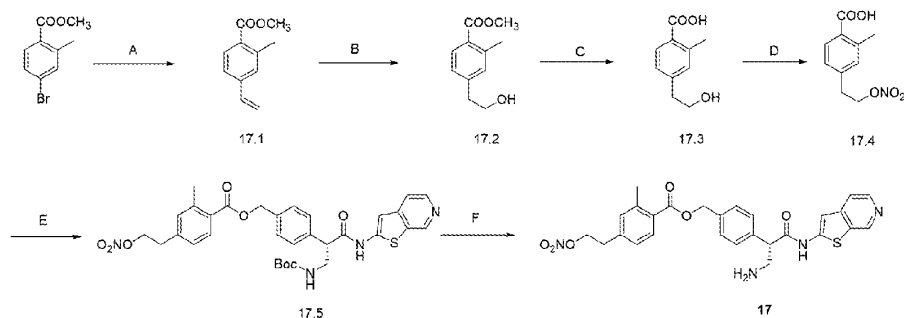
将化合物 16.5 (117mg, 0.19mmol) 溶于 5mL 的甲醇中, 加入 1.5mL 盐酸甲醇溶液 (4M), 先在室温下搅拌 1 小时, 然后将体系升温至 50°C 反应 1 小时, TLC 监测反应完全。待反应完后, 减压浓缩反应液, 剩余物溶于 5mL 的甲醇和水溶液中, 过滤, 滤液用反相制备纯化, 冻干后得到目标产物实施例 16 (83mg, 产率: 84%, 纯度: 94%)。LCMS ESI (+) m/z: 521.2 (M+1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.47 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.22 (s, 3H), 8.14 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.51 (d, J = 3.2 Hz, 3H), 7.44 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 5.33 (s, 2H), 4.78 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.48 (dd, J = 8.4, 5.6 Hz, 1H), 3.64 (s, 1H), 3.18 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 3.09 (t, J = 6.4 Hz, 2H)。

实施例 17



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2-甲基-4-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-甲基-4-乙烯基苯甲酸甲酯(化合物 17.1)

将 4-溴-2-甲基苯甲酸甲酯 (2g, 8.73mmol) 溶于 40mL 四氢呋喃和 4mL 水中, 加入乙烯基三氟硼酸钾 (1.4g, 10.48mmol), 碳酸铯 (5.7g, 17.46mmol) 和双(三苯基膦)氯化钯 (122mg, 0.17mmol), 反应液在 78 度和氮气保护下搅拌 16 小时。将反应液冷却至室温, 向反应液中加入水 50mL, 用乙酸乙酯 (60mLX2) 萃取, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (30mLX2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到化合物 17.1 (1.3g, 产率: 85%, 黄色油状物)。

步骤 B: 4-(2-羟乙基)-2-甲基苯甲酸甲酯 (化合物 17.2)

将化合物 17.1 (1.3g, 7.39mmol) 溶于 10mL 四氢呋喃中, 冷却至 0 度, 滴加 10M 的硼烷二甲硫醚溶液 2.2mL。反应液在 0 度和氮气保护下搅拌 1 小时, 然后在 20 度搅拌 1 小时。将反应液冷却至 0 度, 先后滴加 2M 的氢氧化钠溶液 10 mL 和 30% 的双氧水 2.5mL。反应液在 0 度搅拌 0.5 小时, 然后在 20 度搅拌 1 小时。向反应液中加入饱和亚硫酸钠溶液 100mL, 然后用 2M 的盐酸溶液调节 pH 为 2, 用乙酸乙酯 (100mLX3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化后得到化合物 17.2 (0.61g, 收率: 42%, 无色液体)。

步骤 C: 4-(2-羟乙基)-2-甲基苯甲酸 (化合物 17.3)

将化合物 17.2 (610mg, 3.14mmol) 溶于 6mL 的甲醇中, 然后加入 2M 的氢氧化钠溶液 5mL, 搅拌回流 4 小时。LCMS 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 用 6N 的盐酸水溶液调节 pH 至 3 并搅拌半小时, 再用乙酸乙酯 (30mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 17.3 (509mg, 产率: 90%, 白色固体)。

步骤 D: 2-甲基-4-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸 (化合物 17.4)

将化合物 17.3 (200mg, 1.11mmol) 溶于 5mL 的二氯甲烷中, 在冰水浴下加入浓硝酸和浓硫酸的混合酸溶液 (1.4mL 的浓硝酸, 0.35mL 的浓硫酸), 然后在室温下反应 5 小时。TLC 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (15mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 17.4 (192mg, 产率: 77%, 白色固体)。

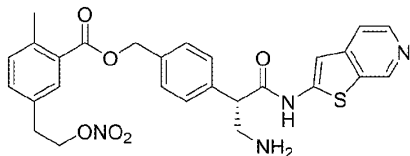
步骤 E: (S)-4-(3-(叔丁氧羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基苄基 2-甲基-4-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯 (化合物 17.5)

将化合物 15.2 (100mg, 0.234mmol) 和化合物 17.4 (58mg, 0.258mmol) 溶于 3mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入 1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (68mg, 0.351mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (28mg, 0.234mmol), 在室温下反应过夜。TLC 监测反应完全。加入水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (20mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 17.5 (115mg, 产率: 78%, 淡黄色固体)。

步骤 F: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2-甲基-4-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯 (化合物 17)

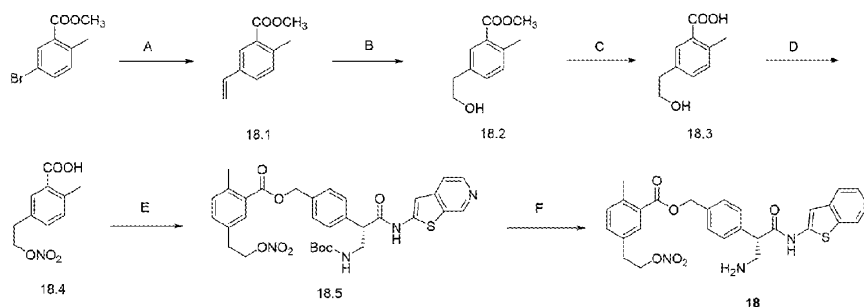
将化合物 17.5 (98mg, 0.15mmol) 溶于 1mL 的甲醇中, 加入 3mL 盐酸甲醇溶液 (4M), 室温下搅拌 2 小时, TLC 监测反应完全。待反应完后, 减压浓缩反应液, 剩余物溶于 5mL 的甲醇和水溶液中, 过滤, 滤液用反相制备纯化, 冻干后得到目标产物化合物 17 (72mg, 产率: 90%, 纯度: 98.8%)。LCMS ESI (+) m/z: 535.2 (M+1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13.52 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.24 (s, 3H), 8.15 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.51 (q, J = 8.4 Hz, 4H), 7.41 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.23 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.30 (s, 2H), 4.76 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.50 (dd, J = 8.4, 5.5 Hz, 1H), 3.65 (s, 1H), 3.18 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 3.02 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.50 (s, 3H).

实施例 18



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2-甲基-5-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-甲基-5-乙烯基苯甲酸甲酯 (化合物 18.1)

将 5-溴-2-甲基苯甲酸甲酯 (2g, 8.73mmol) 溶于 40mL 四氢呋喃和 4mL 水中, 加入乙烯基三氟硼酸钾 (1.4g, 10.48mmol), 碳酸铯 (5.7g, 17.46mmol) 和双(三苯基膦)氯化钯 (122mg, 0.17mmol), 反应液在 78 度和氮气保护下搅拌 16 小时。将反应液冷却至室温, 向反应液中加入水 50mL, 用乙酸乙酯 (60mLX2) 萃取, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (30mLX2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到化合物 18.1 (1.13g, 产率: 74%, 黄色油状物)。

步骤 B: 5-(2-羟乙基)-2-甲基苯甲酸甲酯 (化合物 18.2)

将化合物 18.1 (1.13g, 6.42mmol) 溶于 10mL 四氢呋喃中, 冷却至 0 度, 滴加 10M 的硼烷二甲硫醚溶液 2.2mL。反应液在 0 度和氮气保护下搅拌 1 小时, 然后在 20 度搅拌 1 小时。将反应液冷却至 0 度, 先后滴加 2M 的氢氧化钠溶液 10mL 和 30% 的双氧水 2.5mL。反应液在 0 度搅拌 0.5 小时, 然后在 20 度搅拌 1 小时。向反应液中加入饱和亚硫酸钠溶液 100mL, 然后用 2M 的盐酸溶液调节 pH 为 2, 用乙酸乙酯 (100mLX3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化后得到化合物 18.2 (0.62g, 收率: 50%, 无色液体)。

步骤 C: 5-(2-羟乙基)-2-甲基苯甲酸 (化合物 18.3)

将化合物 18.2 (620mg, 3.20mmol) 溶于 6mL 的甲醇中, 然后加入 2M 的氢氧化钠溶液 5mL, 搅拌回流 4 小时。LCMS 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 用 6N 的盐酸水溶液调节 pH 至 3 并搅拌半小时, 再用乙酸乙酯 (30mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干得产物 18.3 (570mg, 产率: 99%, 白色固体)。

步骤 D: 2-甲基-5-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸 (化合物 18.4)

将化合物 18.3 (200mg, 1.11mmol) 溶于 5mL 的二氯甲烷中, 在冰水浴下加入浓硝酸和浓硫酸的混合酸溶液 (1.4mL 的浓硝酸, 0.35mL 的浓硫酸), 然后在室温下反应 5 小时。TLC 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (15mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 18.4 (191mg, 产率: 76%, 淡黄色固体)。

步骤 E: (S)-4-(3-(叔丁氧羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2-甲基-5-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯 (化合物 18.5)

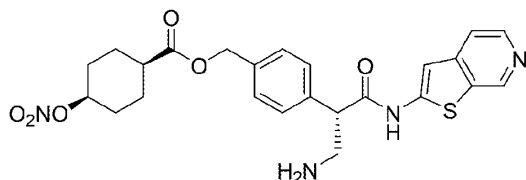
将化合物 15.2 (100mg, 0.234mmol) 和化合物 18.4 (58mg, 0.258mmol) 溶于 3mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (68mg, 0.351mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (28mg, 0.234mmol), 在室温下反应过夜。TLC 监测反应完全。加入水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (20mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 18.5 (88mg, 产率: 59%, 淡黄色固体)。

步骤 F: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2-甲基-5-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯 (化合物 18)

将化合物 18.5 (88mg, 0.14mmol) 溶于 1mL 的甲醇中, 加入 3mL 盐酸甲醇溶液 (4M), 室温下搅拌 2 小时, TLC 监测反应完全。待反应完后, 减压浓缩反应液, 剩余物溶于 5mL 的甲醇和水溶液中, 过滤, 滤液用反相制备纯化, 冻干后得到目标产物化合物 18 (64mg, 产率: 86%, 纯度: 97%)。LCMS ESI (+) m/z: 535.2 (M+1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13.54 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.26 (s, 3H), 8.15 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.52 (q, J = 8.4 Hz, 4H), 7.46

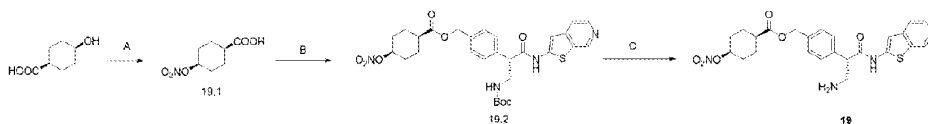
- 7.35 (m, 2H), 7.28 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 5.32 (s, 2H), 4.72 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.51 (dd, $J = 8.4, 5.4$ Hz, 1H), 3.65 (s, 1H), 3.17 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 3.01 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.48 (s, 3H).

实施例 19



4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(1s, 4R)-4-(硝基氧基)环己烷-1-羧酸盐

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: (1s, 4s)-4-(硝基氧基)环己烷-1-甲酸(化合物 19.1)

将化合物(1s, 4s)-4-羟基环己烷-1-羧酸(200mg, 1.39mmol)溶于1.5mL的乙酸酐中,冰水浴下加入浓硝酸和乙酸酐的混酸溶液(0.8mL 硝酸, 1.6mL 醋酸酐),在0°C下搅拌4小时,TLC监测反应完全。待反应完后,加入30mL乙酸乙酯稀释,将反应液先后用水(10 mLX3)和饱和食盐水(10mLX2)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥,过滤、旋干,柱层析纯化得产物19.1(220mg, 产率: 90%, 白色固体)。

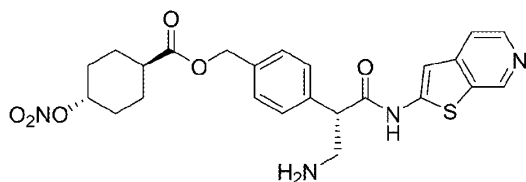
步骤 B: 4-((S)-3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(1s, 4R)-4-(硝基氧基)环己烷-1-甲酸(化合物 19.2)

将化合物15.2(100mg, 0.234mmol)和化合物19.1(50mg, 0.257mmol)溶于3mL的N,N-二甲基甲酰胺中,然后加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(68mg, 0.351mmol)和4-二甲氨基吡啶(28mg, 0.234mmol),在室温下反应过夜。TLC监测反应完全。加入水淬灭反应,用乙酸乙酯(20mLX2)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(10mLX2)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥,过滤、旋干,柱层析纯化得产物19.2(72mg, 产率: 51%)。

步骤 C: 4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(1s, 4R)-4-(硝基氧基)环己烷-1-羧酸盐(化合物 19)

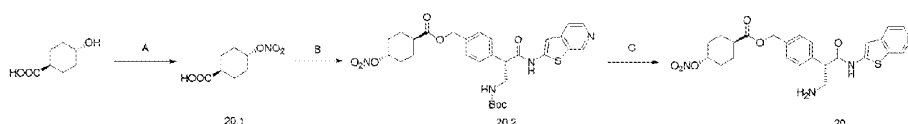
将化合物19.2(72mg, 0.12mmol)溶于3mL的二氯甲烷中,加入2mL三氟乙酸,在室温下搅拌2小时,TLC监测反应完全。待反应完后,加入饱和碳酸氢钠(40mL)淬灭反应,用二氯甲烷(20mLX3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(30mL)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥,过滤、旋干。将剩余物溶于10mL的乙酸乙酯中,加入0.2mL氯化氢乙酸乙酯溶液(2M)并搅拌1小时,真空旋干溶剂,固体用乙酸乙酯和甲醇的混合溶液打浆、过滤。滤饼用超纯水溶解、过滤,用反相制备纯化,冻干后得到目标产物实施例19(54mg, 产率: 90%, 纯度: 98%)。LCMS ESI(+) m/z: 499.2(M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13.50 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.52 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 8.23 (s, 3H), 8.14 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.45 - 7.23 (m, 3H), 5.17 (s, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.48 (dd, $J = 8.4, 5.6$ Hz, 1H), 3.64 (s, 1H), 3.64 (s, 1H), 3.24 - 3.04 (m, 1H), 3.21 - 3.02 (m, 1H), 2.58 - 2.52 (m, 1H), 1.90 - 1.81 (m, 2H), 1.81 - 1.71 (m, 4H), 1.69 - 1.57 (m, 2H)。

实施例 20



4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(1r, 4S)-4-(硝基氧基)环己烷-1-羧酸盐

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(1r, 4S)-4-(硝基氧基)环己烷-1-羧酸盐 (化合物 20.1)

将化合物 (1r, 4r)-4-羟基环己烷-1-羧酸 (200mg, 1.39mmol) 溶于 1.5mL 的乙酸酐中, 冰水浴下加入浓硝酸和乙酸酐的混酸溶液 (0.8mL 硝酸, 1.6mL 醋酸酐), 在 0°C 下搅拌 4 小时, TLC 监测反应完全。待反应完后, 加入 30mL 乙酸乙酯稀释, 将反应液先后用水 (10 mLX3) 和饱和食盐水 (10mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 20.1 (210mg, 产率: 80%, 白色固体)。

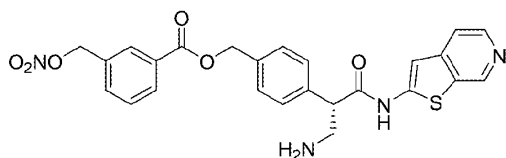
步骤 B: 4-((S)-3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(1r, 4S)-4-(硝基氧基)环己烷-1-羧酸盐 (化合物 20.2)

将化合物 15.2 (100mg, 0.234mmol) 和化合物 20.1 (50mg, 0.257mmol) 溶于 3mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (68mg, 0.351mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (28mg, 0.234mmol), 在室温下反应过夜。TLC 监测反应完全。加入水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (30mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 20.2 (126mg, 产率: 90%, 淡黄色固体)。

步骤 C: 4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(1r, 4S)-4-(硝基氧基)环己烷-1-羧酸盐 (化合物 20)

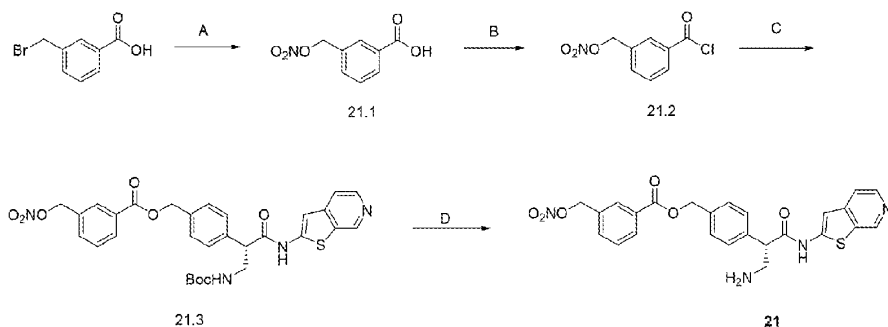
将化合物 20.2 (126mg, 0.21mmol) 溶于 3mL 的二氯甲烷中, 加入 2mL 三氟乙酸, 在室温下搅拌 2 小时, TLC 监测反应完全。待反应完后, 加入饱和碳酸氢钠 (40mL) 淬灭反应, 用二氯甲烷 (20mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mL) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干。将剩余物溶于 10mL 的乙酸乙酯中, 加入 0.2mL 氯化氢乙酸乙酯溶液 (2M) 并搅拌 1 小时, 真空旋干溶剂, 固体用乙酸乙酯和甲醇的混合溶液打浆、过滤。滤饼用超纯水溶解、过滤, 冻干后得到目标产物实施例 20 (58mg, 产率: 55%, 纯度: 96.5%)。LCMS ESI (+) m/z: 499.2 (M+1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13.06 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.44 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 8.19 (s, 3H), 7.92 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.26 (s, 1H), 5.08 (s, 2H), 5.05 - 4.92 (m, 1H), 4.41 (dd, J = 8.8, 5.6 Hz, 1H), 3.68 - 3.54 (m, 1H), 3.14 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 2.43 (tt, J = 11.2, 3.6 Hz, 1H), 2.12 - 1.89 (m, 4H), 1.64 - 1.36 (m, 4H)。

实施例 21



(S)-4-((3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)3-((硝基氧基)甲基)苯甲酸甲酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 3-(3-(硝基氧基)甲基)苯甲酸 (化合物 21.1)

将 3-溴甲基苯甲酸 (537mg, 2.5mmol) 溶于 10mL 乙腈中, 加入硝酸银 (510mg, 3.0mmol), 反应液在室温下避光搅拌过夜。待 TLC 监测反应完全, 将反应液浓缩后, 用乙酸乙酯 (20mL) 溶解, 过滤, 滤液旋干得到化合物 21.1 (495mg, 产率: 99%, 白色固体)。

步骤 B: 3-(3-(硝基氧基)甲基)苯甲酰氯 (化合物 21.2)

将化合物 21.1 (71mg, 0.36mmol) 溶于 4mL 二氯甲烷中, 在冰水浴下加入草酰氯 (0.06mL, 0.72mmol) 和 2 滴 DMF, 反应液在室温下搅拌 1 小时。待 TLC 监测反应完全, 将反应液浓缩后得到化合物 21.2 粗产物, 直接用于下一步反应。

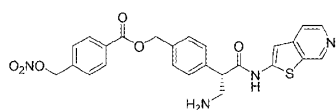
步骤 C: (S)-4-(3-(3-(叔丁氧羰基)氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苯基 3-(3-(硝基氧基)甲基)苯甲酸酯 (化合物 21.3)

将上一步得到的化合物 21.2 (0.36mmol)、化合物 15.2 (51mg, 0.12mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (1.5mg, 0.01mmol) 溶于 5mL 四氢呋喃和 3mL 二氯甲烷的混合溶剂中, 在冰水浴下加入三乙胺 (0.05mL, 0.36mmol)。待反应完全后, 反应液用二氯甲烷 (10mL) 稀释, 先后用饱和碳酸氢钠溶液 (10mL)、水 (10mL) 和饱和食盐水 (10mL) 洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化后再进行薄层色谱层析分离纯化得到化合物 21.3 (28.6mg, 收率: 39%, 淡黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 607.2 (M+1)。

步骤 D: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基) 3-(3-(硝基氧基)甲基)苯甲酸酯 (化合物 21)

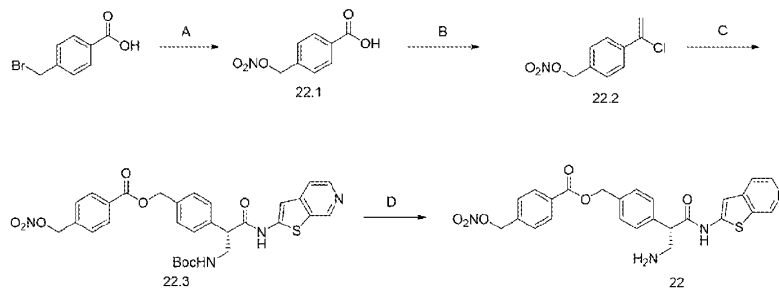
将化合物 21.3 (28.6mg, 0.047mmol) 溶于 2mL 甲醇中, 加入氯化氢甲醇溶液 (4M, 1mL), 在室温下反应 2 小时。待 LCMS 监测反应完全, 将反应液浓缩, 用反向制备纯化得到实施例 21 (13.7mg, 产率: 64%, 白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 507.1 (M+1)。

实施例 22



(S)-4-(3-(3-(硝基氧基)甲基)苯基) 4-(3-(硝基氧基)甲基)苯甲酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 4-((硝基氧基)甲基)苯甲酸(化合物 22.1)

将 4-溴甲基苯甲酸(537mg, 2.5mmol)溶于 10mL 乙腈中, 加入硝酸银(510mg, 3.0mmol), 反应液在室温下避光搅拌过夜。将反应液浓缩后, 用乙酸乙酯(20mL)溶解, 过滤, 滤液旋干得到化合物 22.1(476mg, 产率: 97%, 白色固体)。

步骤 B: 3-((硝基氧基)甲基)苯甲酰氯(化合物 22.2)

将化合物 22.1(94.6mg, 0.48mmol)溶于 5mL 二氯甲烷中, 在冰水浴下加入草酰氯(0.08mL, 0.96mmol)和 2 滴 DMF, 反应液在室温下搅拌 1 小时。待 TLC 监测反应完全, 将反应液浓缩后得到化合物 22.2 粗产物, 直接用于下一步反应。

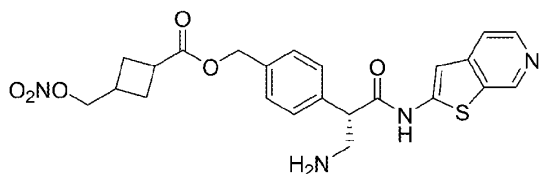
步骤 C: (S)-4-(3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 4-((硝基氧基)甲基)苯甲酸酯(化合物 22.3)

将上一步得到的化合物 22.2(0.48mmol), 化合物 15.2(102.5mg, 0.24mmol)和 4-二甲氨基吡啶(3mg, 0.024mmol)溶于 8mL 的四氢呋喃和 3mL 的二氯甲烷的混合溶剂中, 在冰水浴下加入三乙胺(0.07mL, 0.48mmol)。待反应完全后, 反应液用二氯甲烷(15mL)稀释, 分别用饱和碳酸氢钠溶液(15mL)、水(15mL)和饱和食盐水(15mL)洗涤。有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化后再进行薄层色谱层析分离纯化得到化合物 22.3(70mg, 收率: 48%, 淡黄色固体)。LCMS ESI(+) m/z : 607.2(M+1)。

步骤 D: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)4-((硝基氧基)甲基)苯甲酸苄酯(化合物 22)

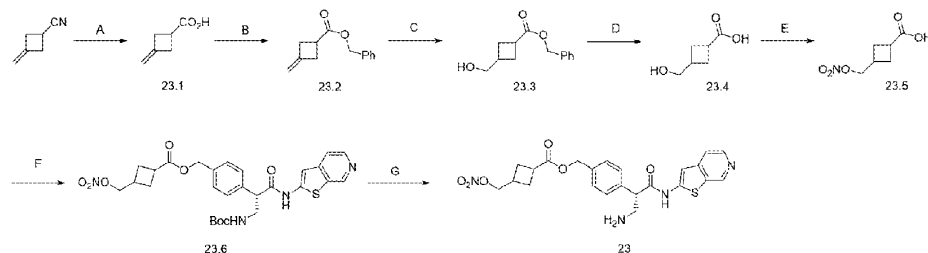
将化合物 22.3(70mg, 0.115mmol)溶于氯化氢甲醇溶液(4M, 3mL)后在室温下反应。待 LCMS 监测反应完全, 将反应液浓缩, 用反向制备纯化得到产物实施例 22(36.7mg, 产率: 59%, 白色固体)。LCMS ESI(+) m/z : 507.1(M+1)。

实施例 23



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 3-((硝基氧基)甲基)环丁烷-1-羧酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 3-亚甲基环丁烷-1-羧酸(化合物 23.1)

将 3-亚甲基环丁烷-1-腈(3.1g, 33.7mmol)溶于 20mL 乙醇中, 加入氢氧化钾(7.6g, 135mmol)的水溶液(20mL), 80°C 反应 3 小时。待 LCMS 监测反应完全, 旋去有机溶剂, 水相用浓盐酸调节至 pH<2, 用乙酸乙酯萃取(50mL×2)。合并的有机相用饱和食盐水(50mL)洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物 23.1(3.88g, 产率: 100%, 无色油液)。LCMS ESI(+) m/z : 113.1(M+1)。

步骤 B: 3-亚甲基环丁烷-1-羧酸苄酯(化合物 23.2)

将化合物 23.1(1.8g, 16mmol)溶于 20mL N,N-二甲基甲酰胺, 加入碳酸钾(3.32g, 24mmol)和溴化苄(2.09mL, 17.6mmol), 室温反应过夜。待 LCMS 监测反应完全后, 将反应液过滤, 滤液浓缩, 用水

(50mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (50mL×2)。合并的有机相用饱和食盐水洗 (50mL×5), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物 23.2 (2.85g, 产率: 88%, 无色油液)。LCMS ESI (+)m/z: 203.2 (M+1)。

步骤 C: 3-(羟甲基) 环丁烷-1-羧酸苄酯 (化合物 23.3)

氮气保护下, 将化合物 23.2 (1.41g, 7mmol) 溶于 10mL 四氢呋喃, 在冰盐浴下滴加 2.1mL 硼烷二甲硫醚溶液 (10M), 滴加完毕后在室温下反应 1 小时。待 TLC 监测反应完全, 在冰盐浴下先后加入 7mL 氢氧化钠水溶液 (3M) 和 2.4mL 过氧化氢溶液 (30%), 在室温下继续反应 2 小时。待 TLC 监测反应完全, 用饱和亚硫酸钠溶液 (5mL) 淬灭反应, 加水 (20mL) 稀释后用乙酸乙酯 (50mL×2) 萃取。合并有机相, 饱和食盐水洗 (50mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物 23.3 (749mg, 产率: 49%, 无色油液)。LCMS ESI (+)m/z: 221.2 (M+1)。

步骤 D: 3-(羟甲基) 环丁烷-1-羧酸 (化合物 23.4)

将化合物 23.3 (716mg, 3.25mmol) 溶于 10mL 甲醇, 加入氢氧化钠 (390mg, 9.7mmol) 的水溶液 (5mL), 室温搅拌反应。待 LCMS 监测反应完全, 反应液用水 (20mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (25mL×3), 合并有机相, 饱和食盐水 (50mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干得到化合物 23.4 (236mg, 产率: 56%, 无色液体)。

步骤 E: 3-(硝基氧基) 甲基 环丁烷-1-羧酸 (化合物 23.5)

在冰水浴下将 1mL 发烟硝酸滴加到 2mL 乙酸酐中, 搅拌 5 分钟。将化合物 23.4 (200mg, 1.54mmol) 溶于 5mL 乙酸酐, 冰水浴下滴加上述硝酸乙酸酐溶液, 保温反应 1 小时。待 TLC 监测反应完全, 将反应液用水 (20mL) 稀释, 乙酸乙酯 (20mL×2) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (20mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物 23.5 (155.6mg, 产率: 58%, 淡棕色液体)。

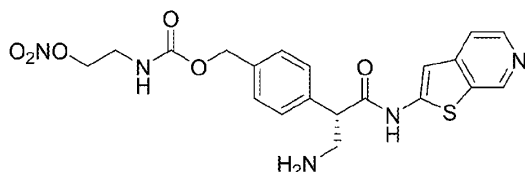
步骤 F: (S)-4-(3-(叔丁氧羰基) 氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基) 丙-2-基) 苄基 3-(硝基氧基) 甲基 环丁烷-1-羧酸酯 (化合物 23.6)

将化合物 23.5 (75mg, 0.43mmol), 化合物 15.2 (100mg, 0.23mmol) 和 4-二甲基氨基吡啶 (41.5mg, 0.34mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (5mL), 加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (88mg, 0.46mmol), 在室温下反应过夜。待 TLC 监测反应完全, 将反应液用水 (20mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (20mL×2), 合并有机相, 饱和食盐水 (20mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物 23.6 (158.1mg, 产率: 81%, 淡黄色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 585.2 (M+1)。

步骤 G: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基) 丙烷-2-基) 苄基 3-(硝基氧基) 甲基 环丁烷-1-羧酸酯 (化合物 23)

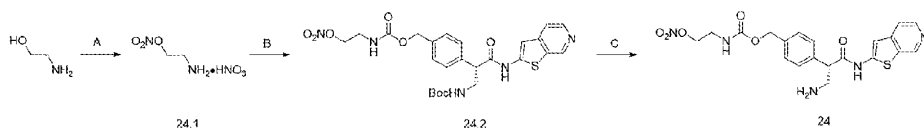
将化合物 23.6 (75mg, 0.128mmol) 溶于 3mL 二氯甲烷后, 加入 0.3mL 三氟乙酸, 在室温下反应 1 小时。待 LCMS 监测反应完全, 将反应液浓缩, 加入 20mL 乙酸乙酯, 先后用饱和碳酸氢钠溶液 (20mL) 和饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 用反向制备纯化得到产物实施例 23 (47.8mg, 产率: 72%, 白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 485.2 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.56 (s, 1 H), 9.48 (s, 1 H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.26 (s, 3 H), 8.15 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 7.51 (d, J = 8.0 Hz, 2 H), 7.43 - 7.35 (m, 3 H), 5.08 (d, J = 7.2 Hz, 2 H), 4.58 (d, J = 7.2 Hz, 1 H), 4.52 - 4.44 (m, 2 H), 3.72 - 3.57 (m, 1 H), 3.31 - 3.21 (m, 1 H), 3.20 - 3.08 (m, 1 H), 2.69 - 2.56 (m, 1 H), 2.36 - 2.21 (m, 2 H), 2.14 - 1.94 (m, 2 H)。

实施例 24



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基) 丙-2-基) 苄基 (2-(硝基氧基) 乙基) 氨基甲酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-氨基硝酸乙酯硝酸盐 (24.1)

在冰水浴下,将3mL发烟硝酸滴加到12mL乙酸酐中,搅拌30分钟。随后在冰水浴下加入乙醇胺(977.3mg, 16mmol),保持温度低于5°C搅拌30分钟。将反应液浓缩,加入50mL乙醚打浆1小时,过滤得到产物24.1 (1.95g, 产率: 72%, 白色固体)。

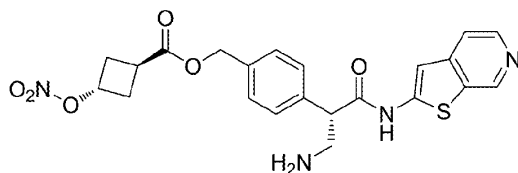
步骤 B: (S)-叔丁基(2-(4-((2-(硝基氧基)乙基)氨基甲酸酯基)氧基)甲基)苯基)-3-氧代-3-(硫代[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙基)氨基甲酸酯 (24.2)

氮气保护下,将化合物15.2 (64mg, 0.15mmol)和三光气(22.2mg, 0.075mmol)溶于3mL四氢呋喃,在冰水浴下加入二异丙基乙胺(19.4mg, 0.15mmol)和4-二甲氨基吡啶(3.7mg, 0.03mmol)的四氢呋喃(1mL)溶液,保持温度反应1小时。待TLC监测反应完全,加入化合物24.1 (50.7mg, 0.3mmol)和二异丙基乙胺(38.8mg, 0.3mmol)的四氢呋喃(1mL)溶液,室温反应1小时。待TLC监测反应完全,乙酸乙酯(20mL)稀释反应液,先后用饱和氯化铵溶液(20mL)和饱和食盐水(20mL)洗,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,柱层析纯化得到产物24.2 (24.8mg, 产率30%, 淡黄色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 560.2 (M+1)。

步骤 C: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(2-(硝基氧基)乙基)氨基甲酸酯 (化合物24)

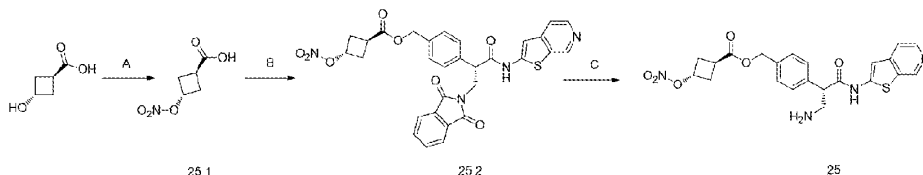
将化合物24.2 (24.8mg, 0.044mmol)溶于1.5mL甲醇中,加入氯化氢甲醇溶液(4M, 1.5mL)后在室温下反应。待反应完全,将反应液浓缩,用反向制备纯化得到产物实施例24 (11.6mg, 产率: 53%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 460.1 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.50 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.24 (s, 3H), 8.15 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.55 - 7.45 (m, 3H), 7.43 - 7.32 (m, 3H), 5.02 (s, 2H), 4.59 - 4.40 (m, 3H), 3.72 - 3.57 (m, 1H), 3.36 - 3.31 (m, 2H), 3.20 - 3.10 (m, 1H)。

实施例 25



(1R, 3S)-4-((S)-3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 3-(硝基氧基)环丁烷羧酸苄酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: (1R, 3R)-3-(硝基氧基)环丁烷甲酸 (化合物 25.1)

在冰浴条件下,将称量好的醋酸酐(3mL)加入到单口反应瓶(50mL)中,紧接着把浓硝酸(1.5mL)慢慢滴加到反应瓶里,反应液在冰浴下搅拌10分钟。在冰浴条件下,将(1R, 3R)-3-羟基环丁烷羧酸(150mg, 1.29mmol)溶于醋酸酐(4mL)中,然后将醋酸酐-浓硝酸混合液(4.5mL)慢慢滴加到反应液中,然后反应液在常温下搅拌1小时。通过TLC(溴甲酚绿显色)来确认反应完全。将水加入到反应液中,用乙酸乙酯来萃取(15mL),分液合并有机相,然后有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,硅

胶柱纯化, 得到白色固体 25.1 (120mg, 收率: 58%)。

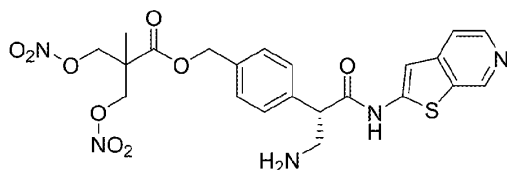
步骤 B: (1R, 3S)-4-((S)-3-(1,3-二氧代异吲哚-2-基)-1-氧代-1-(硫代[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-(硝基)-3-(硝基氧基)环丁烷羧酸苄酯 (化合物 25.2)

将化合物 1.11 (100mg, 0.219mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (6mL) 中, 然后依次加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (63.3mg, 0.33mmol)、4-二甲氨基吡啶 (40.26mg, 0.33mmol) 和化合物 25.1 (42.34mg, 0.26mmol), 混合液在常温搅拌过夜。通过 LCMS 检测反应完全。加水到反应液中, 用乙酸乙酯来萃取 (15mLX2), 合并有机相, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤、旋干, 剩余物用硅胶柱纯化得到淡黄色固体 25.2 (105mg, 收率: 80%)。LCMS ESI (+) m/z: 601.1 (M+1)。

步骤 C: 1R, 3S)-4-((S)-3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基-3-(硝基氧基)环丁烷羧酸苄酯 (化合物 25)

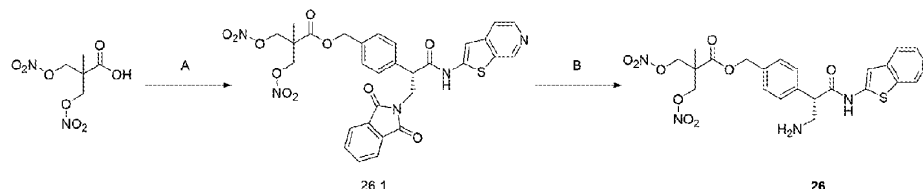
将化合物 25.2 (105mg, 0.175mmol) 溶于乙醇 (8mL) 中, 加水合肼 (87.5mg, 1.75mmol) 到反应液中, 反应在惰性气体氛围下 60 摄氏度搅拌 2 小时。通过 LCMS 检测反应完全。加水到反应液里, 用乙酸乙酯 (12mLX2) 萃取。有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤、浓缩旋干, 剩余物溶于 3mL 甲醇中, 用反向制备纯化, 冻干后得到淡黄色固体实施例 25 (25mg, 收率: 30%, 纯度: 96%)。LCMS ESI (+) m/z: 471.1 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.40 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 8.22 - 8.12 (m, 4H), 7.49 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.43 - 7.37 (m, 3H), 5.45 - 5.35 (m, 1H), 5.12 (s, 2H), 4.48 - 4.42 (m, 1H), 3.64 (s, 1H), 3.25 (ddd, J = 14.4, 9.7, 4.6 Hz, 2H), 3.21 - 3.11 (m, 1H), 2.62 (ddd, J = 12.1, 7.3, 4.9 Hz, 2H), 2.48 - 2.44 (m, 1H)。

实施例 26



(S)-4-((3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基-2-甲基-3-(硝基氧基)-2-((硝基氧基)甲基)丙酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: (S)-4-((3-(1,3-二氧代异吲哚-2-基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基-2-3-(硝基氧基)-2-((硝基氧基)甲基)丙酸甲酯 (化合物 26.1)

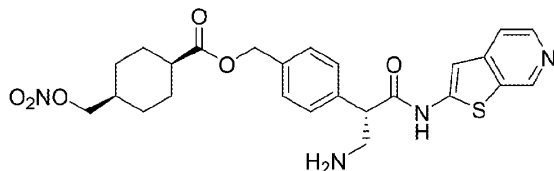
将化合物 1.11 (50mg, 0.11mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (6mL) 中, 然后加入 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N',N'-四甲基脒 (62.7mg, 0.165mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (35.5mg, 0.275mmol), 反应液常温搅拌 30 分钟, 然后加入 2-甲基-3-(硝基氧基)-2-((硝基氧基)甲基)丙酸 (29.57mg, 0.132mmol), 混合液在常温搅拌过夜。通过 LCMS 确认反应完全。将水加入到反应液中, 用乙酸乙酯萃取 (15mL), 分液合并有机相, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。过滤, 旋干, 硅胶柱纯化, 得到淡黄色固体 26.1 (40mg, 收率: 55%)。LCMS ESI (+) m/z: 664.1 (M+1)。

步骤 B: (S)-4-((3-氨基-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基-2-甲基-3-(硝基氧基)-2-((硝基氧基)甲基)丙酸酯 (化合物 26)

将化合物 26.1 (40mg, 0.06mmol) 溶于 7mL 的乙醇中, 然后加入水合肼 (30mg, 0.6mmol) 到反应液中, 反应在惰性气体氛围下 60 摄氏度搅拌 2 小时。通过 LCMS 确认反应完全。加水到反应液里, 用乙酸乙酯 (12mL) 萃取, 饱和食盐水洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩旋干, 残渣溶于甲醇 (3mL),

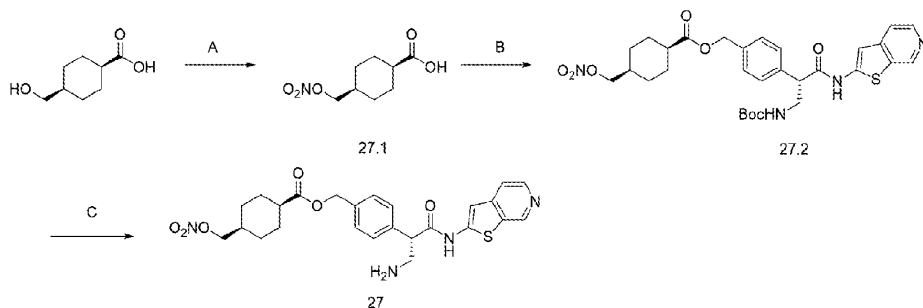
反向制备纯化后得到白色固体产物实施例 26 (10.5mg (盐酸盐), 收率: 30.5%, 纯度: 98%)。LCMS ESI (+) m/z : 534.1 (M+1). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.35 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.52 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 8.22 - 8.11 (m, 4H), 7.48 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.42 - 7.36 (m, 3H), 5.17 (s, 2H), 4.78 - 4.69 (m, 4H), 4.44 (dd, $J=8.8, 5.0$ Hz, 1H), 3.64 (s, 1H), 3.20 - 3.11 (m, 1H), 1.29 (s, 3H).

实施例 27



4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 (1s, 4R)-4-((硝基氧基)甲基)环己烷-1-甲酸

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 反式-4-((硝基氧基)甲基)环己烷-1-甲酸 (27.1)

在冰水浴下, 将 2mL 浓硝酸滴加到 2mL 浓硫酸中, 搅拌 100 分钟。随后在冰水浴下加入反式-4-((羟甲基)环己烷-1-甲酸 (60mg, 0.38mmol) 的二氯甲烷 (4mL) 溶液, 保持温度低于 5°C 搅拌 50 分钟。待 TLC 监测反应完全, 在冰水浴下将反应液用水 (20mL) 稀释, 二氯甲烷 (20mL × 2) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物 27.1 (63mg, 产率: 81%, 白色固体)。

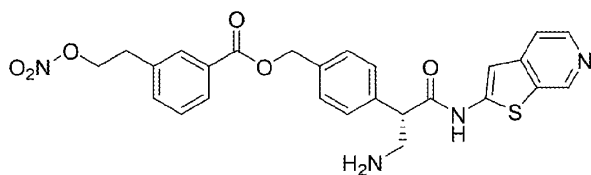
步骤 B: 反式-((S)-4-(3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基 4-((硝基氧基)甲基)环己烷-1-甲酸 (27.2)

将化合物 27.1 (43.25mg, 0.21mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (54.8mg, 0.28mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (33.5mg, 0.28mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (3mL), 加入化合物 15.2 (60.8mg, 0.14mmol), 在室温下反应过夜。待 LCMS 监测反应完全, 将反应液用水 (15mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (15mL × 2), 合并有机相, 饱和食盐水 (20mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物 27.2 (62.7mg, 产率: 72%, 淡黄色固体)。LCMS ESI (+) m/z : 613.1 (M+1)。

步骤 C: 反式-((S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 4-((硝基氧基)甲基)环己烷-1-羧酸盐 (化合物 27)

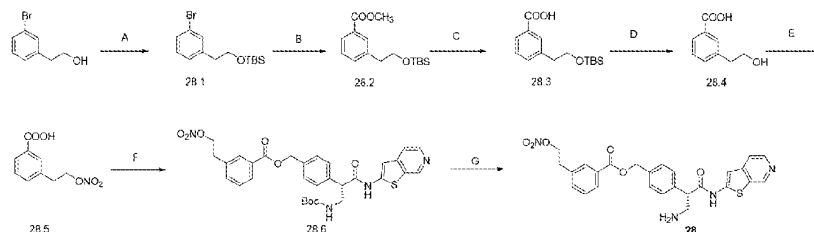
将化合物 27.2 (57mg, 0.093mmol) 溶于 5mL 氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4M), 室温下反应 1 小时。待 LCMS 监测反应完全, 将反应液浓缩至干, 用反向制备纯化得到产物实施例 27 (30.9mg, 产率: 60%, 淡黄色固体)。LCMS ESI (+) m/z : 513.1 (M+1)。

实施例 28



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 3-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: (3-溴苯乙氧基)(叔丁基)二甲基硅烷(化合物 28.1)

将 3-溴苯乙醇 (1.89g, 9.4mmol) 和咪唑 (2.56g, 36.16mmol) 溶于 50mL 的二氯甲烷中, 在室温下加入叔丁基二甲基氯硅烷 (2.83g, 18.78mmol), 然后该体系在室温下搅拌 2.5 小时。TLC 监测反应完全。待反应完后, 依次用水 (30mLX2), 饱和碳酸氢钠溶液 (30mLX2), 用饱和食盐水 (30mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 28.1 (2.64g, 产率: 89%)。

步骤 B: 3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)苯甲酸甲酯(化合物 28.2)

将化合物 28.1 (2.64g, 8.37mmol) 和 [1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯 (612mg, 0.0837mmol) 溶于 15mL 的 N,N-二甲基甲酰胺和 45mL 的甲醇混合溶剂中, 然后加入 15mL 三乙胺, 该体系在 80°C 和一氧化碳氛围下反应过夜。LCMS 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 浓缩后用乙酸乙酯 (30mLX3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (40mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 28.2 (2g, 产率: 81%)。

步骤 C: 3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)苯甲酸(化合物 28.3)

将化合物 28.2 (2g, 6.79mmol) 溶于 20mL 的甲醇中, 然后加入 20mL 四氢呋喃和 15mL 水, 然后加入一水合氢氧化锂 (859mg, 20.37mmol), 在室温下反应过夜。LCMS 监测反应完全。待反应完后, 用 1M 的盐酸水溶液调节 pH 至 3 并搅拌半小时, 再用乙酸乙酯 (60mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mLX1) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 28.3 (1.2g, 产率: 63%)。

步骤 D: 3-(2-羟乙基)苯甲酸(化合物 28.4)

将化合物 28.3 (700mg, 2.5mmol) 溶于 10mL 乙酸乙酯中, 然后加入 3mL 的氯化氢/甲醇 (4M) 溶液, 室温下搅拌反应 1.5 小时, 反应结束后, 浓缩, 残余物柱层析得到产物 28.4 (258mg, 产率: 62%)

步骤 E: 3-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸(化合物 28.5)

向冰水浴下的 30mL 的二氯甲烷中加入浓硝酸和浓硫酸的混合酸溶液 (20 滴的浓硝酸, 4 滴的浓硫酸), 冰浴下搅拌 1 小时, 然后加入化合物 28.4 (250mg, 1.5mmol), 并在室温下反应 4 小时。TLC 监测反应完全。待反应完后, 加水淬灭反应, 用二氯甲烷 (40mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30mLX3) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 28.5 (235mg, 产率: 74%)。

步骤 F: (S)-4-(3-((叔丁基氧羰基)氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 3-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯(化合物 28.6)

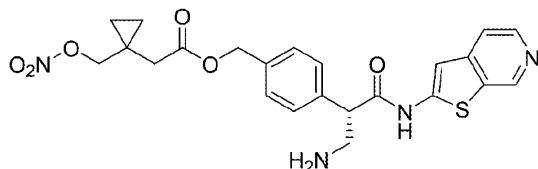
将化合物 15.2 (161mg, 0.378mmol) 和化合物 28.5 (114mg, 0.539mmol) 溶于 3mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入 1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (155mg, 0.808mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (98.6mg, 0.808mmol), 在室温下反应过夜。TLC 监测反应完全。加入水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (20mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 28.6 (185mg, 产率: 79%)。

步骤 G: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 3-(2-(硝基氧基)乙基)苯甲酸酯(化合物 28)

将化合物 28.6 (100mg, 0.16mmol) 溶于 6mL 的甲醇中, 加入 4mL 盐酸甲醇溶液 (4M), 在室温下搅拌 3 小时, TLC 监测反应完全。待反应完后, 减压浓缩反应液, 剩余物溶于 5mL 的甲醇和水溶液中, 过滤, 滤液用反相制备纯化, 冻干后得到目标产物化合物实施例 28 (76mg, 产率: 91%, 纯度: 99%)。LCMS ESI (+)

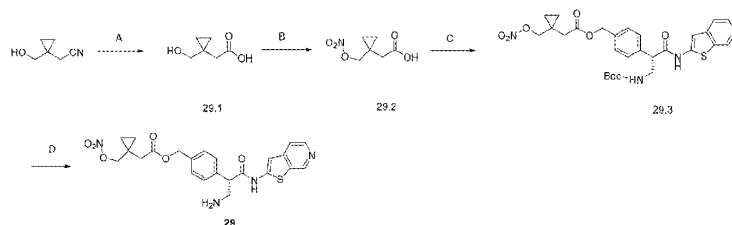
m/z: 521.2(M+1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.55 (s, 1 H), 9.48 (s, 1 H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.25 (s, 3 H), 8.15 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 7.94 – 7.81 (m, 2 H), 7.59 (d, J = 7.6 Hz, 1 H), 7.56 – 7.45 (m, 5 H), 7.41 (s, 1 H), 5.35 (s, 2 H), 4.76 (t, J = 6.4 Hz, 2 H), 4.51 (dd, J = 5.6, 8.4 Hz, 1 H), 3.63–3.66 (m, 1 H), 3.22 – 3.12 (m, 1 H), 3.08 (t, J = 6.4 Hz, 2 H).

实施例 29



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2-(1-(硝基氧基)甲基)乙酸环丙酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 2-(1-(羟甲基)环丙基)乙酸 (化合物 29.1)

将化合物 2-(1-(羟甲基)环丙基)乙腈 (1g, 9mmol) 溶于 15mL 乙醇中, 然后加入氢氧化钾 (5g, 89.12mmol) 的水 (20mL) 溶液, 在 80°C 下, 搅拌反应 16 小时, TLC 监测反应结束后, 浓缩除去乙醇, 然后冷却至 0°C, 用浓盐酸调节 PH 至 1-2, 然后用乙酸乙酯 (80mLX2) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到化合物 29.1 (870mg, 产率: 74%)

步骤 B: 2-(1-((硝基氧基)甲基)环丙基)乙酸 (化合物 29.2)

在 0°C 下, 1mL 浓硝酸加入到 2mL 乙酸酐中, 然后将混合物在 0°C 下搅拌 10 分钟, 然后将混合物在 0°C 下滴加到化合物 29.1 (200mg, 1.54mmol) 的醋酸酐 (15mL) 溶液中, 保持 0°C 并搅拌 1.5 小时。TLC 监测反应结束后, 加入水 (20mL), 用二氯甲烷 (40mLX2) 萃取, 合并的有机相分别用水, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析得到化合物 29.2 (56mg, 收率: 21%)

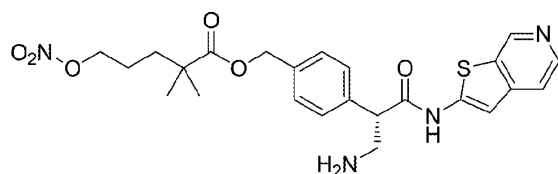
步骤 C: (S)-4-(3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2-(1-((硝基氧基)甲基)环丙基)乙酸酯 (化合物 29.3)

将化合物 29.2 (56mg, 0.319mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (10mL) 中, 加入 1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酸二亚胺盐酸盐 (92mg, 0.479mmol), 4-二甲氨基吡啶 (59mg, 0.483mmol) 以及化合物 15.2 (68mg, 0.159mmol), N₂ 保护下室温搅拌过夜, LC-MS 监测反应结束后, 加入水 (30mL), 再用乙酸乙酯 (40mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤、浓缩, 柱层析得到化合物 29.3 (72mg, 收率: 77%)。LCMS ESI (+) m/z: 585.2(M+1).

步骤 D: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2-(1-((硝基氧基)甲基)乙酸环丙酯 (化合物 29)

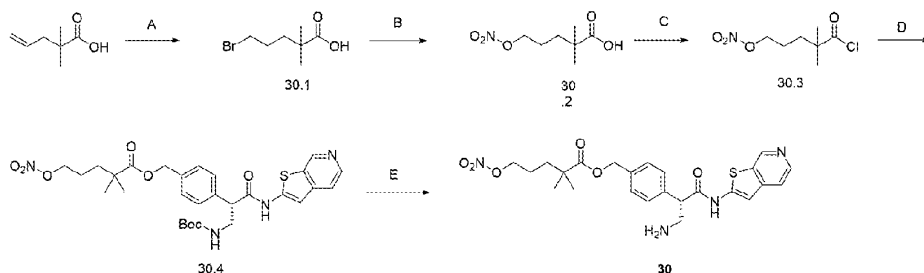
将化合物 29.3 (72mg, 0.123mmol) 溶于 15mL 的四氢呋喃中, 加入 30mL 的氯化氢/甲醇溶液 (4M), 在室温下搅拌 5 小时, TLC 监测反应完全。待反应完后, 减压浓缩反应液, 用碳酸氢钠溶液调节 pH = 8-10, 用乙酸乙酯萃取 (50mLX2), 然后用饱和食盐水洗涤 (30mLX1), 有机相浓缩后送 p-HPLC 反相制备, 冻干后得到目标产物实施例 29 (17mg, 产率: 28%, 纯度: 81%)。LCMS ESI (+) m/z: 485.1(M+1).

实施例 30



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2,2-二甲基-5-(硝基氧基)戊酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 5-溴-2,2-二甲基戊酸 (化合物 30.1)

将化合物 2,2-二甲基戊-4-烯酸 (900mg, 7.02mmol) 溶于正己烷 (35mL) 中, 然后冰浴冷却至 0°C, 该温度下加入氢溴酸的醋酸溶液 (3.44g, 33%含量), 然后室温下搅拌 4 小时, TLC 监测反应结束后, 向混合物中加入水 (40mL), 然后用乙酸乙酯萃取 (50mL×2), 合并有机相用水 (30mL×2), 饱和食盐水 (30mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到化合物 30.1 (1.36g, 收率: 93%)。

步骤 B: 2,2-二甲基-5-(硝基氧基)戊酸 (化合物 30.2)

将化合物 30.1 (1.1g, 5.26mmol) 溶于乙腈 (16mL) 中, 然后加入硝酸银 (1.79, 10.59mmol), 氮气保护下, 升温至 80°C 反应 6 小时。待反应结束后, 冷却至室温, 过滤, 将滤液浓缩, 剩余物用柱层析得到化合物 30.2 (340mg, 收率: 31%)。

步骤 C: 5-氯-4,4-二甲基-5-氧戊基硝酸盐 (化合物 30.3)

将化合物 30.2 (150mg, 0.78mmol) 溶解在二氯甲烷 (16mL) 中, 氮气保护下, 冰浴冷却至 0°C, 加入草酰氯 (0.133mL) 和催化量的 N,N-二甲基甲酰胺, 室温下搅拌 3 小时, 反应结束后, 浓缩得到化合物 30.3 的粗产物, 直接用于下一步。

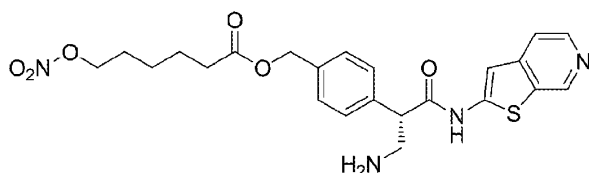
步骤 D: (S)-4-(3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2,2-5-(硝基氧基)戊酸二甲酯 (化合物 30.4)

将化合物 15.2 (168mg, 351.27mmol) 溶于四氢呋喃 (20mL) 中, 加入二异丙基乙胺 (303mg, 2.35mmol) 后混合物冷却至 0°C, 再滴加上述化合物 30.3 粗产物的二氯甲烷 (10mL) 溶液, 以及 4-二甲氨基吡啶 (96mg, 0.786mmol), 混合物室温搅拌 1 小时, LCMS 监测反应结束后, 加入水 (30mL), 用乙酸乙酯萃取 (50mL×2), 合并有机相用饱和食盐水洗涤 (30mL×1), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 剩余物用柱层析得到化合物 30.4 (150mg, 收率: 64%)。LCMS ESI(+) m/z: 601.2(M+1)。

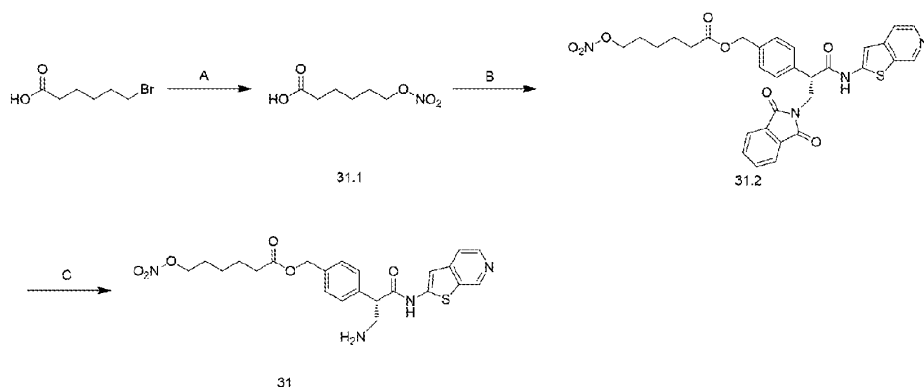
步骤 E: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 2,2-二甲基-5-(硝基氧基)戊酸酯 (化合物 30)

将化合物 30.4 (150mg, 0.25mmol) 溶于 8mL 的二氯甲烷中, 加入三氟乙酸 (2mL), 室温搅拌 1 小时, LC-MS 监测反应结束后, 用碳酸氢钠溶液调节 pH 至 8, 然后用乙酸乙酯 (50mL×2) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤 (30mL×1), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 剩余物经过 p-HPLC 制备得到产物实施例 30 (82mg, 收率: 66%)。LCMS ESI(+) m/z: 501.2(M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.63 (s, 1 H), 9.50 (s, 1 H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.30 (s, 3 H), 8.16 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 7.51 (d, J = 8.4 Hz, 2 H), 7.43 (s, 1 H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2 H), 5.07 (s, 2 H), 4.52 (dd, J = 5.2, 8.8 Hz, 1 H), 4.48 - 4.40 (m, 2 H), 3.65 (d, J = 4.4 Hz, 1 H), 3.20 - 3.07 (m, 1 H), 1.64 - 1.47 (m, 4 H), 1.14 (s, 6 H)。

实施例 31



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)6-(硝基氧基)己酸苄酯
具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 6-(硝基氧基)己酸(化合物 31.1)

将称量好的 6-溴己酸(500mg, 2.56mmol)溶于 8mL 的乙腈中,把硝酸银(871mg, 5.13mmol)加入到反应液里。避光,在惰性气体氛围下,反应液在 85 摄氏度下搅拌 5 小时。通过 TLC(溴甲酚绿显色)来确认反应完全。将反应液中析出的固体用硅藻滤掉,滤饼用乙腈洗涤,将滤液旋干,剩余物溶于乙酸乙酯中,有机相依次用水(15mL)和饱和食盐水(15mL)洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤、旋干,得到无色液体 31.1(400mg, 收率: 88%)。

步骤 B: (S)-4-(3-(1,3-二氧异噁唑-2-基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 6-(硝基氧基)己酸酯(化合物 31.2)

将化合物 1.11(100mg, 0.219mmol)溶于 7mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中,加入 1-(3-(二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(63.3mg, 0.33mmol)、4-二甲氨基吡啶(40.26mg, 0.33mmol)和化合物 31.1(46.55mg, 0.263mmol),混合液在常温搅拌过夜。LCMS 确认反应完全。加水到反应液中,用乙酸乙酯来萃取(15mL),分液合并有机相,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤、旋干,剩余物用硅胶柱纯化,得到淡黄色固体 31.2(80mg, 收率: 59%)。LCMS ESI(+) m/z : 617.2(M+1)。

步骤 C: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)6-(硝基氧基)己酸苄酯(化合物 31)

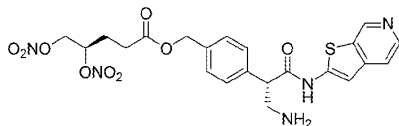
将化合物 31.2(80mg, 0.13mmol)溶于 8mL 的乙醇中,加入水合肼(65mg, 1.3mmol),加热反应到 60 摄氏度,在惰性气体氛围下搅拌 3 小时。通过 LCMS 确认反应完全。加水淬灭反应,用乙酸乙酯(12mL)萃取,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩旋干,剩余物溶于甲醇/四氢呋喃

(1.5mL/1.5mL),反向制备纯化后得到淡黄色固体产物实施例 31(35mg, 收率: 52%, 纯度: 96%)。LCMS ESI(+) m/z : 487.2(M+1). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 13.54 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.25 (s, 3H), 8.15 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.42 - 7.36 (m, 3H), 5.07 (s, 2H), 4.52 - 4.45 (m, 3H), 3.70 - 3.56 (m, 1H), 3.20 - 3.10 (m, 1H), 2.36 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.68 - 1.60 (m, 2H), 1.56 (dt, J = 15.2, 7.6 Hz, 2H), 1.39 - 1.28 (m, 2H)。

实施例 32

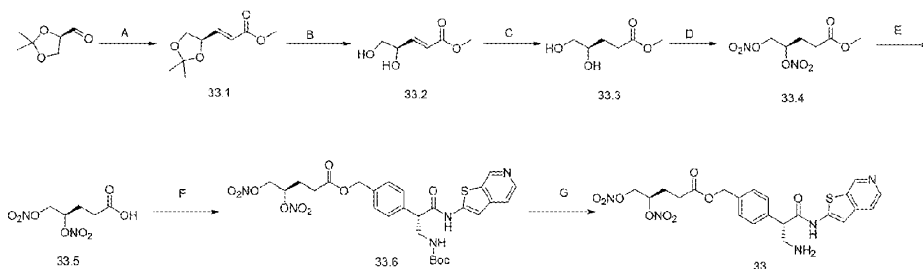
(d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 8.25 - 8.13 (m, 4H), 7.49 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.41 - 7.35 (m, 3H), 5.11 (s, 2H), 4.71 (s, 2H), 4.47 (dd, $J = 8.4, 5.6$ Hz, 1H), 3.64 (s, 1H), 3.17 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 1.31 (dd, $J = 7.2, 4.2$ Hz, 2H), 1.19 (dd, $J = 7.2, 4.4$ Hz, 2H).

实施例 33



4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基(R)-4,5-双(硝基氧基)戊酸

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: (S, E)-3-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)丙烯酸甲酯(化合物 33.1)

将化合物(2-甲氧基乙基)磷酸二甲酯(2.28mL, 15.36mmol)在0℃下缓慢的滴加到15mL含有氯化钠(60%, 614mg, 15.36mmol)的乙二醇二甲醚中并搅拌0.5小时, 然后再加入(S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-甲醛(2g, 15.36mmol), 室温下搅拌2小时。TLC监测反应完全。待反应完后, 加入饱和的氯化铵溶液淬灭反应, 用乙酸乙酯(100mL)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水(50mL)洗涤。有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得到化合物33.1(1.645g, 产率: 58%, 无色油状液体)。

步骤 B: (S, E)-4,5-二羟基戊-2-烯酸甲酯(化合物 33.2)

将化合物33.1(1.16g, 6.23mmol)溶于7.5mL的乙酸水溶液(80%)中, 并加热到80℃搅拌3小时。TLC监测反应完全。待反应完后, 将反应液直接旋干, 柱层析纯化得到化合物33.2(706mg, 产率: 78%, 无色油状液体)。

步骤 C: (R)-4,5-二羟基戊酸甲酯(化合物 33.3)

将化合物33.2(706mg, 4.84mmol)溶于10mL的乙醇中, 在氢气氛围下, 加入钌碳(10%, 71mg)并在室温下搅拌过夜。TLC监测反应完全。待反应完后, 反应液用硅藻土过滤, 将滤液旋干, 剩余物用柱层析纯化得到化合物33.3(558mg, 产率: 78%, 无色油状液体)。

步骤 D: (R)-4,5-双(硝基氧基)戊酸甲酯(化合物 33.4)

将化合物33.3(100mg, 0.68mmol)溶于1mL的乙酸酐中, 冰水浴下加入浓硝酸和乙酸酐的混酸溶液(0.8mL 硝酸, 1.6mL 醋酸酐), 在0℃下搅拌4小时, TLC监测反应完全。待反应完后, 加入30mL乙酸乙酯稀释, 将反应液先后用水(10 mLX2), 饱和的碳酸氢钠溶液(10mL)和饱和食盐水(10mLX2)洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 得到粗产品33.4(138mg, 产率: 85%, 淡黄色液体)。

步骤 E: (R)-4,5-双(硝基氧基)戊酸(化合物 33.5)

将化合物33.4(93mg, 0.39mmol)溶于1.5mL四氢呋喃和0.5mL水的混合溶液中, 在冰水浴下加入一水合氢氧化锂(20mg, 0.47mmol), 并在该温度下搅拌1小时, TLC监测反应完全。待反应完后, 用2M的盐酸溶液调节pH为4, 用乙酸乙酯(20mL)萃取, 有机相经饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得到化合物33.5(45mg, 产率: 85%, 无色油状液体)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.28 (s, 1H), 5.70 - 5.22 (m, 1H), 4.94 (dd, $J = 12.8, 2.4$ Hz, 1H), 4.72 (dd, $J = 12.8, 6.0$ Hz, 1H), 2.48 - 2.17 (m, 2H), 2.13 - 1.70 (m, 2H)。

步骤 F: 4-((S)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-

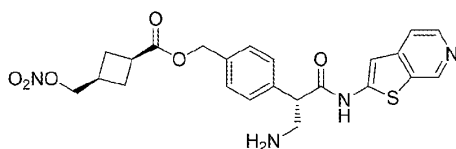
基) 苄基 (R) - 4,5-双(硝基氧基) 戊酸酯 (化合物 33.6)

将化合物 15.2 (51mg, 0.12mmol) 和化合物 33.5 (40mg, 0.18mmol) 溶于 2mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入 1-乙基-(3-二甲氨基氨基丙基) 碳酰二亚胺盐酸盐 (46mg, 0.24mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (22mg, 0.18mmol), 在室温下反应过夜。LCMS 监测反应完全。加入水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (30mLX2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10mLX2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤、旋干, 柱层析纯化得产物 33.6 (55mg, 产率: 72%, 淡黄色固体)。

步骤 G: 4-((S) -3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基) 丙-2-基) 苄基 (R) -4,5-双(硝基氧基) 戊酸 (化合物 33)

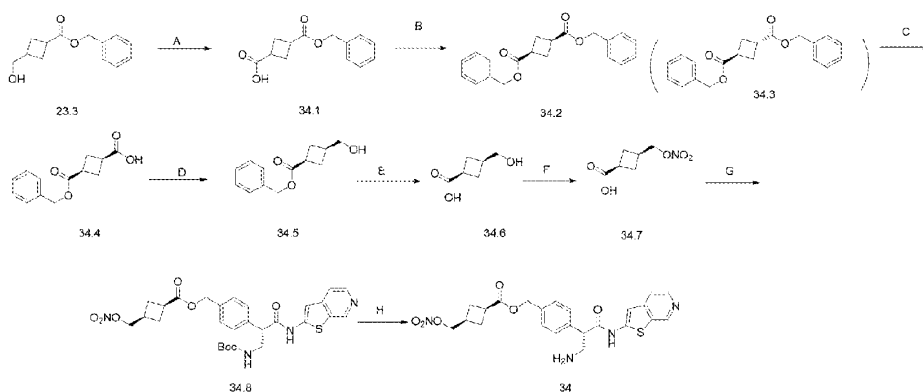
将化合物 33.6 (55mg, 0.087mmol) 溶于 2mL 的乙酸乙酯中, 加入 2mL 的乙酸乙酯盐酸溶液 (2M), 在室温下搅拌 2 小时, LCMS 监测反应完全。待反应完后, 将溶剂旋干, 残留物用超纯水溶解、过滤, 反相制备纯化, 冻干后得到目标产物实施例 33 (45mg, 产率: 97%, 纯度: 99%)。LCMS ESI (+) m/z: 534.1 (M+1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13.22 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.11 (s, 4H), 7.46 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.40 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.34 (s, 1H), 5.49-5.40 (m, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.92 (dd, J = 12.8, 2.8 Hz, 1H), 4.71 (dd, J = 12.8, 6.0 Hz, 1H), 4.39 (s, 1H), 3.63 (s, 1H), 3.17 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 2.59-2.53 (m, 2H), 2.08-1.87 (m, 2H)。

实施例 34



(1S, 3R) -4-((S) -3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基) 丙烷-2-基) 苄基 3-((硝基氧基) 甲基) 环丁烷羧酸盐

具体反应方程式如下所示:



步骤 A: 3-((苄氧基) 羧基) 环丁烷羧酸 (化合物 34.1)

将化合物 23.3 (2.33g, 10.58mmol) 溶于 30mL 二氯甲烷, 30mL 乙腈和 30mL 水中, 冷却至 0 度, 加入高碘酸钠 (6.8g, 31.73mmol) 和一水合三氯化钨 (233mg, 1.06mmol), 将反应液升到室温, 反应 6 小时。反应液用乙酸乙酯 (100mL) 稀释, 搅拌下加入 1M 的盐酸溶液直至固体全部溶解, 水相用乙酸乙酯 (50mL) 萃取 1 次, 合并的有机相用 10% 的亚硫酸氢钠溶液 (30mL) 洗 2 次, 饱和食盐水 (30mL) 洗 1 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物 34.1 (2.3g, 产率: 93%, 无色油状物)。LCMS ESI (+) m/z: 235.1 (M+1)。

步骤 B: (1S, 3S) -二苄基环丁烷-1,3-二羧酸酯 (化合物 34.2) 和 (1r, 3r) -二苄基环丁烷-1,3-二羧酸酯 (化合物 34.3)

将化合物34.1 (2.3g, 9.82mmol) 溶于30mL的N, N-二甲基甲酰胺, 加入碳酸钾 (4.07g, 29.46mmol) 和溴化苄 (5.04g, 29.46mmol), 室温反应过夜。待LCMS监测反应完全后, 向反应液中加入水 (50mL), 用乙酸乙酯 (70mL) 萃取2次。合并的有机相用饱和食盐水 (50mL) 洗4次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到极性相对较小产物34.2 (1.29g, 无色油状物) 和极性相对较大产物34.3 (1.58g, 无色油液, 产率: 90%)。

步骤C: (1s, 3s) -3- (苄氧基) 羧基) 环丁烷羧酸 (化合物34.4)

将化合物34.2 (1.19g, 3.67mmol) 溶于15mL四氢呋喃, 15mL甲醇和15mL水中, 加入氢氧化钠 (146.7mg, 3.67mmol), 反应液在室温下反应3小时。待TLC监测反应完全, 向反应液中加入2 M的盐酸溶液至pH为3, 然后用乙酸乙酯 (60mL) 萃取2次, 合并的有机相用饱和食盐水 (30mL) 洗1次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物34.4 (380mg, 产率: 44%, 无色油状物)。LCMS ESI (+) m/z: 235.1 (M+1)。

步骤D: (1s, 3s) -3- (羟甲基) 环丁烷甲酸苄酯 (化合物34.5)

将化合物34.4 (380mg, 1.62mmol) 溶于15mL四氢呋喃, 在冰浴和氮气保护下滴加0.24mL硼烷二甲硫醚溶液 (10M), 滴加完毕后在室温下反应3小时。待TLC监测反应完全, 在冰浴下先后加入5mL甲醇和4mL 2 M的盐酸溶液, 在室温下继续搅拌10分钟。向反应液中加入水 (20mL), 用乙酸乙酯 (50mL×4) 萃取。合并的有机相, 用饱和食盐水洗 (30mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物34.5 (245mg, 产率: 69%, 无色油状物)。LCMS ESI (+) m/z: 221.1 (M+1)。

步骤E: (1s, 3s) -3- (羟甲基) 环丁烷羧酸 (化合物34.6)

将化合物34.5 (245mg, 1.11mmol) 溶于6mL甲醇和15mL四氢呋喃中, 加入氢氧化钠 (89mg, 2.22mmol) 的水溶液 (5mL), 室温搅拌反应3小时。待TLC监测反应完全, 反应液用水 (40mL) 稀释, 乙酸乙酯洗 (25mL×3), 然后将水相用2M的盐酸溶液调节pH至2, 用乙酸乙酯萃取 (40mL×6), 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干得到化合物34.6 (145mg, 产率: 100%, 白色固体)。

步骤F: (1s, 3s) -3- (硝基氧基) 甲基) 环丁烷羧酸 (化合物34.7)

在冰水浴下将1.5mL浓硝酸滴加到3mL乙酸酐中, 搅拌5分钟。将化合物34.6 (145mg, 1.11mmol) 溶于5mL乙酸酐, 冰水浴下滴加上述硝酸乙酸酐溶液, 0度反应3小时。待TLC监测反应完全, 将反应液用水 (20mL) 稀释, 乙酸乙酯 (40mL×2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物34.7 (110mg, 产率: 56%, 白色固体)。

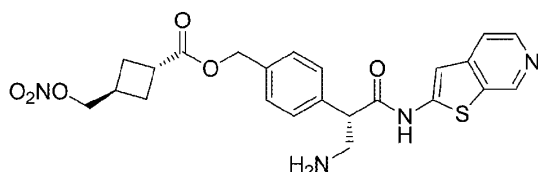
步骤G: (1s, 3R) -4- ((S) -3- (叔丁氧羰基) 氨基) -1-氧代-1- (噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基) 丙-2-基 3- ((硝基氧基) 甲基) 环丁烷甲酸苄酯 (化合物34.8)

将化合物34.7 (50mg, 0.28mmol) 溶于20mL N, N-二甲基甲酰胺中, 加入1- (3-二甲氨基丙基) -3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (82mg, 0.42mmol), 4-二甲氨基氨基吡啶 (53mg, 0.42mmol) 和化合物15.2 (85mg, 0.20mmol), 反应液在室温下反应过夜。待TLC监测反应完全, 将反应液用水 (30mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (40mL×2), 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 剩余物用柱层析纯化得到产物34.8 (90mg, 产率: 78%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 585.2 (M+1)。

步骤H: (1s, 3R) -4- ((S) -3-氨基-1-氧-1- (噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基) 丙烷-2-基) 苄基 3- ((硝基氧基) 甲基) 环丁烷羧酸盐 (化合物34)

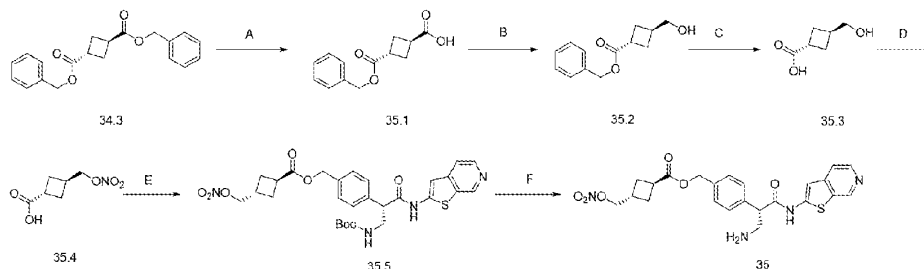
将化合物34.8 (90mg, 0.15mmol) 溶于8mL二氯甲烷后, 加入1.5mL三氟乙酸, 在室温下反应1小时。待LCMS监测反应完全, 向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液pH为8, 用乙酸乙酯 (50mL×2) 萃取, 合并的有机相用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 用反向制备纯化得到产物实施例34 (64mg, 产率: 85%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 485.1 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.53 (s, 1 H), 9.48 (s, 1 H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.24 (s, 3 H), 8.15 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 7.50 (d, J = 8.0 Hz, 2 H), 7.43 - 7.34 (m, 3 H), 5.09 (s, 2 H), 4.58 (d, J = 7.2 Hz, 2 H), 4.53 - 4.44 (m, 1 H), 3.62 - 3.66 (m, 1 H), 3.22 - 3.29 (m, 1 H), 3.19 - 3.08 (m, 1 H), 2.59 - 2.68 (m, 1 H), 2.27 - 2.34 (m, 2 H), 2.03 - 2.10 (m, 2 H)。

实施例35



(1R, 3S)-4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基3-((硝基氧基)甲基)环丁烷羧酸盐

具体反应方程式如下所示:



步骤A: (1R, 3r)-3-((苄氧基)羧基)环丁烷羧酸(化合物35.1)

将化合物34.3 (1.48g, 4.56mmol)溶于15mL四氢呋喃, 15mL甲醇和15mL水中, 加入氢氧化钠(182mg, 4.56mmol), 反应液在室温下反应3小时。待TLC监测反应完全, 向反应液中加入2 M的盐酸溶液至pH为3, 然后用乙酸乙酯(60mL)萃取2次, 合并的有机相用饱和食盐水(30mL)洗1次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物35.1 (380mg, 产率: 36%, 无色油状物)。LCMS ESI (+)m/z: 235.1 (M+1)。

步骤B: (1r, 3r)-3-((羟甲基)环丁烷甲酸苄酯(化合物35.2)

将化合物35.1 (380mg, 1.62mmol)溶于15mL四氢呋喃, 在冰浴和氮气保护下滴加0.24mL硼烷二甲硫醚溶液(10M), 滴加完毕后在室温下反应3小时。待TLC监测反应完全, 在冰浴下先后加入5mL甲醇和4mL 2 M的盐酸溶液, 在室温下继续搅拌10分钟。向反应液中加入水(20mL), 用乙酸乙酯(50mL×4)萃取。合并的有机相, 用饱和食盐水洗(30mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物35.2 (300mg, 产率: 84%, 无色油状物)。LCMS ESI (+)m/z: 221.1 (M+1)。

步骤C: (1r, 3r)-3-((羟甲基)环丁烷羧酸(化合物35.3)

将化合物35.2 (300mg, 1.36mmol)溶于6mL甲醇和15mL四氢呋喃中, 加入氢氧化钠(109mg, 2.72mmol)的水溶液(5mL), 室温搅拌反应3小时。待TLC监测反应完全, 反应液用水(40mL)稀释, 乙酸乙酯洗(25mL×3), 然后将水相用2M的盐酸溶液调节pH至2, 用乙酸乙酯萃取(40mL×6), 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干得到化合物35.3 (177mg, 产率: 100%, 无色油状物)。

步骤D: (1r, 3r)-3-((硝基氧基)甲基)环丁烷羧酸(化合物35.4)

在冰水浴下将1.5mL浓硝酸滴加到3mL乙酸酐中, 搅拌5分钟。将化合物35.3 (177mg, 1.36mmol)溶于5mL乙酸酐, 冰水浴下滴加上述硝酸乙酸酐溶液, 0度反应3小时。待TLC监测反应完全, 将反应液用水(20mL)稀释, 乙酸乙酯(40mL×2)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水(20mL)洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物35.4 (120mg, 产率: 50%, 无色油状物)。

步骤E: (1r, 3S)-4-((S)-3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)3-((硝基氧基)甲基)环丁烷甲酸苄酯(化合物35.5)

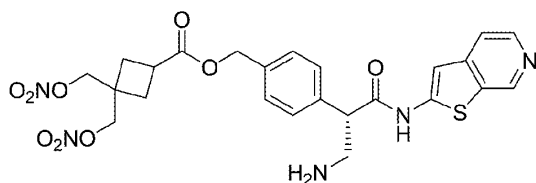
将化合物35.4 (50mg, 0.28mmol)溶于20mL N, N-二甲基甲酰胺中, 加入1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(82mg, 0.42mmol), 4-二甲氨基吡啶(53mg, 0.42mmol)和化合物15.2(85mg, 0.20mmol), 反应液在室温下反应过夜。待TLC监测反应完全, 将反应液用水(30mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(40mL×2), 合并有机相, 用饱和食盐水(20mL×2)洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物35.5 (96mg, 产率: 82%, 白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 585.2 (M+1)。

步骤F: (1r, 3S)-4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基

3-((硝基氧基)甲基)环丁烷羧酸盐(化合物35)

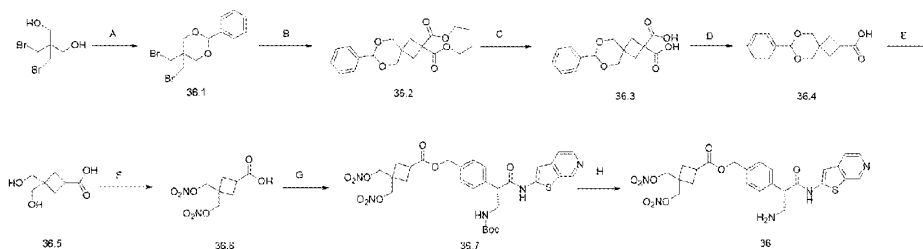
将化合物35.5 (96mg, 0.164mmol) 溶于8mL二氯甲烷后, 加入1.5mL三氟乙酸, 在室温下反应1小时。待LCMS监测反应完全, 向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液pH为8, 用乙酸乙酯 (50mL X 2) 萃取, 合并的有机相用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 用反向制备纯化得到产物实施例35 (66mg, 产率: 83%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 485.1 (M+1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.53 (s, 1 H), 9.47 (d, J = 5.2 Hz, 1 H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.37 - 8.08 (m, 4 H), 7.49 (t, J = 8.4 Hz, 2 H), 7.44 - 7.32 (m, 3 H), 5.07 (s, 2 H), 4.61 - 4.40 (m, 3 H), 3.63 (s, 1 H), 3.09-3.18 (m, 2 H), 2.68 - 2.54 (m, 1 H), 2.34 - 2.19 (m, 2 H), 2.08 - 1.95 (m, 2 H)。

实施例36



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基3,3-双((硝基氧基)甲基)环丁烷羧酸盐

具体反应方程式如下所示:



步骤A: 5,5-双(溴甲基)-2-苯基-1,3-二恶烷(化合物36.1)

将2,2-双(溴甲基)丙烷-1,3-二醇(10g, 38.18mmol)溶于140mL 甲苯中, 加入苯甲醛(4.25g, 40.09mmol)和对甲苯磺酸(657mg, 3.82mmol), 将反应液升到120度, 反应4小时。将反应液冷却至室温, 用饱和碳酸氢钠溶液(40mL)洗3次, 饱和食盐水洗(30mL)洗1次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 剩余物用甲醇室温重结晶得到产物36.1 (12.7g, 产率: 95%, 白色固体)。

步骤B: 7-苯基-6,8-二氧杂螺[3.5]壬烷-2,2-二羧酸二乙酯(化合物36.2)

将丙二酸二乙酯(2.0g, 12.49mmol)滴加到含有钠氢(500mg, 12.49mmol)的20mL N,N-二甲基甲酰胺的悬浊液中, 搅拌至不再放出气泡, 加入化合物36.1(2.19g, 6.24mmol)的10mL的N,N-二甲基甲酰胺溶液, 反应液在140度反应3小时。待LCMS监测反应完全后, 将反应液冷却至室温, 加入氯化铵溶液(30mL), 用乙酸乙酯(70mL)萃取2次。合并的有机相用饱和食盐水(50mL)洗4次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物36.2 (1.4g, 产率: 64%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 349.2 (M+1)。

步骤C: 7-苯基-6,8-二氧杂螺[3.5]壬烷-2,2-二羧酸(化合物36.3)

将化合物36.2 (1.4g, 4.02mmol) 溶于20mL乙醇和15mL水中, 加入氢氧化钾(676mg, 12.06mmol), 反应液在80度反应0.5小时。待LCMS监测反应完全, 将反应液减压浓缩除去乙醇, 向反应液中加入2 M的盐酸溶液至pH为4, 固体析出, 过滤, 干燥, 得到产物36.3 (1.09g, 产率: 93%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 293.1 (M+1)。

步骤D: 7-苯基-6,8-二氧杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸(化合物36.4)

将化合物36.3 (1.09g, 3.73mmol) 溶于20mL吡啶, 将反应液回流20小时。待LCMS监测反应完全, 将反应液减压浓缩除去吡啶, 剩余物用2M 盐酸溶液调节pH为5, 用乙酸乙酯(50mL X 2)萃取。合并的有机相, 用饱和食盐水洗(30mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物36.4 (500mg, 产率:

54%，白色固体）。LCMS ESI (+)m/z: 249.1 (M+1)。

步骤E: 3,3-双(羟甲基)环丁烷羧酸(化合物36.5)

将化合物36.4 (350mg, 1.41mmol)溶于25mL甲醇中，加入钨碳(100mg)，反应液在室温和氢气氛围中搅拌反应36小时。待TLC监测反应完全，将反应液用硅藻土过滤，滤液减压浓缩得到化合物36.5 (220mg, 产率: 98%，白色固体)。

步骤F: 3,3-双((硝基氧基)甲基)环丁烷羧酸(化合物36.6)

在冰水浴下将1.5mL浓硝酸滴加到3mL乙酸酐中，搅拌10分钟。将化合物36.5 (110mg, 0.69mmol)溶于15mL乙酸酐，冰水浴下滴加上述硝酸乙酸酐溶液，室温反应2小时。待TLC监测反应完全，将反应液用水(20mL)稀释，乙酸乙酯(40mL×2)萃取，合并有机相，用饱和食盐水(20mL)洗，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，柱层析纯化得到产物36.6 (57mg, 产率: 33%，白色固体)。

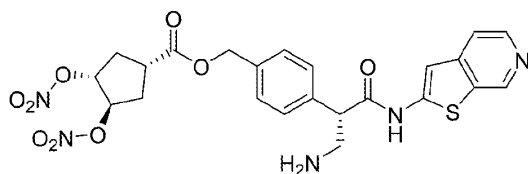
步骤G: (S)-4-(3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基3,3-双((硝基氧基)甲基)环丁烷羧酸酯(化合物36.7)

将化合物36.6 (50mg, 0.20mmol)溶于20mL N,N-二甲基甲酰胺中，加入1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(57mg, 0.30mmol), 4-二甲氨基氨基吡啶(37mg, 0.30mmol)和化合物15.2(77mg, 0.18mmol)，反应液在室温下反应过夜。待LCMS监测反应完全，将反应液用水(30mL)稀释，乙酸乙酯萃取(40mL×2)，合并有机相，用饱和食盐水(20mL×2)洗，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，柱层析纯化得到产物36.7 (82mg, 产率: 69%，白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 660.2 (M+1)。

步骤H: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基3,3-双((硝基氧基)甲基)环丁烷羧酸盐(化合物36)

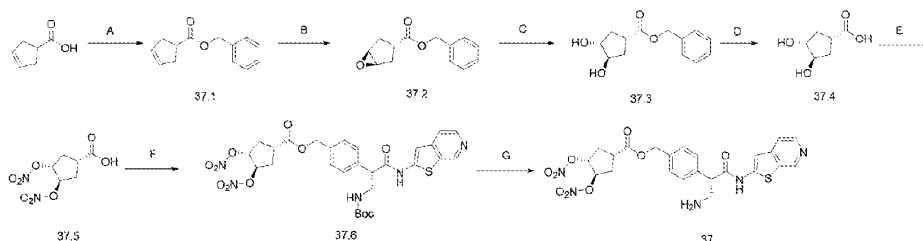
将化合物36.7 (82mg, 0.124mmol)溶于10mL二氯甲烷后，加入2mL三氟乙酸，在室温下反应2小时。待LCMS监测反应完全，向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液pH为8，用乙酸乙酯(50mL×2)萃取，合并的有机相用饱和食盐水(20mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，用反向制备纯化得到产物实施例36(58mg, 产率: 84%，白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 560.1 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.36 (s, 1 H), 9.46 (s, 1 H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.25 - 8.08 (m, 4 H), 7.52 - 7.44 (m, 2 H), 7.42 - 7.34 (m, 3 H), 5.10 (s, 2 H), 4.66 (s, 2 H), 4.51 (s, 2 H), 4.47 - 4.40 (m, 1 H), 3.60-3.68 (m, 1 H), 3.33 - 3.29 (m, 1 H), 3.21 - 3.07 (m, 1 H), 2.32 - 2.14 (m, 4 H)。

实施例37



(3R, 4R)-4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基3,4-双((硝基氧基)环戊烷羧酸盐

具体反应方程式如下所示:



步骤A: 环戊-3-烯甲酸苄酯(化合物37.1)

将环戊-3-烯羧酸(1g, 8.93mmol)溶于12mL N,N-二甲基甲酰胺中，加入碳酸钾(2.5g, 17.86mmol)

和苄溴 (1.83g, 10.72mmol), 反应液在室温搅拌过夜。向反应液加入水 (20mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (40mL) 萃取2次, 合并有机相, 用饱和食盐水洗 (30mL) 洗2次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物37.1 (1.69g, 产率: 94%, 无色油状物)。LCMS ESI (+)m/z: 203.1 (M+1)。

步骤B: (1R, 3s, 5S) -6-氧杂双环[3.1.0]己烷-3-羧酸苄酯 (化合物37.2)

将化合物37.1 (650mg, 3.22mmol) 溶解于15mL 二氯甲烷中, 冷却至0度, 将间氯过氧苯甲酸 (724mg, 4.20mmol) 分批加入, 反应液在室温搅拌3小时。有白色固体析出, 将反应液过滤, 滤液依次用饱和碳酸氢钠溶液 (20mL), 20%的亚硫酸钠溶液 (20mL) 和饱和食盐水 (20mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物37.2 (460mg, 产率: 88%, 无色油状物)。LCMS ESI (+)m/z: 219.1 (M+1)。

步骤C: (3R, 4R) -3,4-二羟基环戊烷甲酸苄酯 (化合物37.3)

将化合物37.2 (460mg, 2.11mmol) 溶于4mL四氢呋喃和4mL水中, 加入0.17mL硫酸溶液, 反应液在室温搅拌过夜。向反应液中加入饱和碳酸氢钠至pH为8, 用乙酸乙酯 (50mL) 萃取2次, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 柱层析纯化得到产物37.3 (290mg, 产率: 58%, 无色油状物)。LCMS ESI (+)m/z: 237.1 (M+1)。

步骤D: (3R, 4R) -3,4-二羟基环戊烷羧酸 (化合物37.4)

将化合物37.3 (330mg, 1.4mmol) 溶于6mL甲醇中, 加入钨碳 (33mg), 反应液在室温和氢气氛围中搅拌3小时。将反应液用硅藻土过滤, 滤液减压浓缩得到产物37.4 (200mg, 产率: 98%, 白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 145.1 (M-1)。

步骤E: (3R, 4R) -3,4-双(硝基氧基)环戊烷羧酸 (化合物37.5)

在冰水浴下将1mL浓硝酸滴加到2mL乙酸酐中, 搅拌10分钟。将化合物37.4 (100mg, 0.69mmol) 溶于2mL乙酸酐, 冰水浴下滴加上述硝酸乙酸酐溶液, 在0度反应1小时。待TLC监测反应完全, 将反应液用水 (20mL) 稀释, 乙酸乙酯 (40mL×2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物37.5 (95mg, 产率: 59%, 无色油状物)。

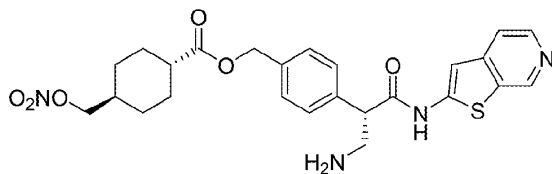
步骤F: (3R, 4R) -4-((S) -3-((叔丁氧羰基) 氨基) -1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基) 丙-2-基 3,4-双(硝基氧基) 环戊烷甲酸苄酯 (化合物37.6)

将化合物37.5 (40mg, 0.17mmol) 溶于5mL N, N-二甲基甲酰胺中, 加入1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (49mg, 0.255mmol), 4-二甲氨基基吡啶 (31mg, 0.255mmol) 和化合物15.2 (44mg, 0.102mmol), 反应液在室温下反应过夜。待LCMS监测反应完全, 将反应液用水 (30mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (40mL×2), 合并有机相, 用饱和食盐水 (20mL×2) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析纯化得到产物37.6 (50mg, 产率: 46%, 白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 646.2 (M+1)。

步骤G: (3R, 4R) -4-((S) -3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基) 丙烷-2-基) 苄基 3,4-双(硝基氧基) 环戊烷羧酸盐 (化合物37)

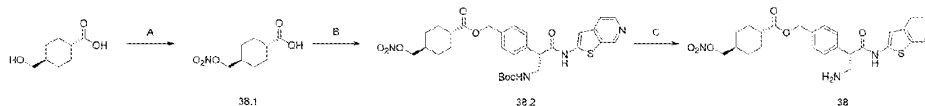
将化合物37.6 (50mg, 0.08mmol) 溶于4mL的二氯甲烷中, 加入0.8mL三氟乙酸, 在室温下反应2小时。待LCMS监测反应完全, 向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液至pH为8, 用乙酸乙酯 (50mL×2) 萃取, 合并的有机相用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 用反向制备纯化得到产物实施例37 (27mg, 产率: 60%, 白色固体)。LCMS ESI (+)m/z: 546.1 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.42 (s, 1 H), 9.47 (s, 1 H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 8.20 (s, 3 H), 8.14 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 7.54 - 7.45 (m, 2 H), 7.39-7.41 (m, 3 H), 5.70 - 5.51 (m, 2 H), 5.11 (s, 2 H), 4.55 - 4.37 (m, 1 H), 3.62-3.66 (m, 1 H), 3.22 - 3.05 (m, 2 H), 2.60 - 2.53 (m, 1 H), 2.45 - 2.35 (m, 1 H), 2.14-2.21 (m, 1 H), 2.10 - 1.99 (m, 1 H)。

实施例38



(1R, 4S)-4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基-4-((硝基氧基)甲基)环己烷甲酸

具体反应方程式如下所示:



步骤A: (1R, 4R)-4-((硝基氧基)甲基)环己烷羧酸 (化合物38.1)

在冰水浴下,将3mL浓硝酸滴加到3mL浓硫酸中,搅拌10分钟。随后在冰水浴下加入(1R, 4R)-4-(羟甲基)环己烷羧酸(100mg, 0.63mmol)的二氯甲烷(2mL)溶液,保持温度低于5℃搅拌30分钟。待TLC监测反应完全,在冰水浴下将反应液用水(20mL)稀释,二氯甲烷(20mL×2)萃取,合并有机相,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,柱层析纯化得到产物38.1(102mg, 产率: 79%, 白色固体)。

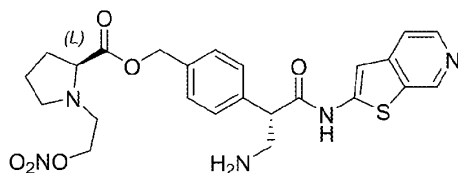
步骤B: (1R, 4S)-4-((S)-3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)-4-((硝基氧基)甲基)环己烷甲酸苄酯 (化合物38.2)

将化合物38.1(43.5mg, 0.21mmol), 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(54.8mg, 0.28mmol)和4-二甲基氨基吡啶(33.5mg, 0.28mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(3mL),加入化合物15.2(60.8mg, 0.14mmol),在室温下反应过夜。待LCMS监测反应完全,将反应液用水(15mL)稀释,乙酸乙酯萃取(15mL×2),合并有机相,饱和食盐水(20mL×5)洗,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,柱层析纯化得到产物38.2(82.5mg, 产率: 94%, 淡黄色固体)。LCMS ESI(+)/m/z: 613.2 (M+1)。

步骤C: (1R, 4S)-4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基-4-((硝基氧基)甲基)环己烷甲酸 (化合物38)

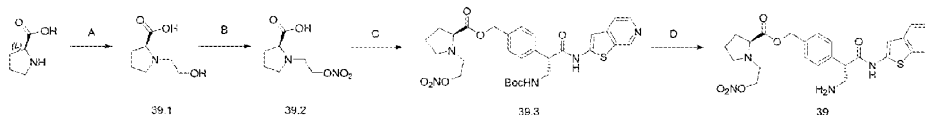
将化合物38.2(80mg, 0.13mmol)溶于5mL氯化氢的乙酸乙酯溶液(4M),室温下反应1小时。待LCMS监测反应完全,将反应液浓缩至干,用反向制备纯化得到产物实施例38(40.4mg, 产率: 60%, 白色固体)。LCMS ESI(+)/m/z: 513.2 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.53 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.25 (s, 3H), 8.14 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.38 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 5.06 (s, 2H), 4.52 - 4.44 (m, 1H), 4.34 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.70 - 3.58 (m, 1H), 3.21 - 3.08 (m, 1H), 2.30 (tt, J = 12.0, 3.2 Hz, 1H), 1.93 (d, J = 10.4 Hz, 2H), 1.79 - 1.62 (m, 3H), 1.34 (qd, J = 12.8, 3.2 Hz, 2H), 1.06 (qd, J = 12.8, 3.2 Hz, 2H)。

实施例39



(S)-4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基-1-(2-(硝基氧基)乙基)吡咯烷-2-羧酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤A: (S)-1-(2-羟乙基)吡咯烷-2-羧酸 (化合物39.1)

将L-脯氨酸(921mg, 8mmol)和氢氧化钾(1.35g, 24mmol)溶于20mL异丙醇,滴加2-溴乙醇(1.2g, 9.6mmol),在40℃下反应过夜。待LCMS监测反应完全,用盐酸调节至pH<4。减压旋去有机溶剂,加入20mL乙醇和20mL二氯甲烷搅拌2h后过滤,滤液浓缩,用20mL丙酮和2mL甲醇重结晶得到化合物39.1(968mg, 产

率76%，白色固体)。

步骤B: (S)-4-(2-(硝基氧基)乙基)吡咯烷-2-羧酸(化合物39.2)

在冰水浴下，将3mL浓硝酸滴加到3mL浓硫酸中，搅拌10分钟。随后在冰水浴下加入化合物39.1(500mg, 3.1mmol)的二氯甲烷(10mL)溶液，保持温度低于5℃搅拌1小时。待TLC监测反应完全，在冰水浴下将反应液用二氯甲烷(40mL)稀释，用碳酸钠固体调节至pH = 5左右，旋去有机溶剂，加入30mL二氯甲烷和乙醇的混合溶液(1:1)，在室温下搅拌1小时后，过滤，滤液浓缩，得到产物39.2(337mg, 产率: 53%，黄色固体)。

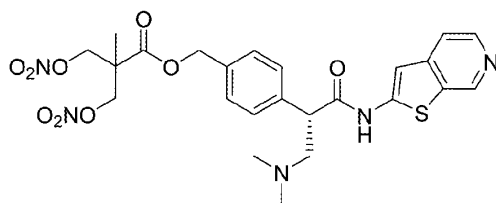
步骤C: (S)-4-((S)-3-(叔丁氧羰基)氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基 1-(2-(硝基氧基)乙基)吡咯烷-2-羧酸酯(化合物39.3)

将化合物39.2(73mg, 0.36mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(69mg, 0.36mmol)和4-二甲氨基吡啶(44mg, 0.36mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(3mL)，加入化合物15.2(51mg, 0.12mmol)，在室温下反应过夜。待LCMS监测反应完全，将反应液用水(15mL)稀释，乙酸乙酯萃取(15mL×2)，合并有机相，饱和食盐水(20mL×5)洗，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，柱层析纯化得到产物39.3(47mg, 产率: 64%，淡黄色固体)。LCMS ESI(+)/m/z: 614.2 (M+1)。

步骤D: (S)-4-((S)-3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基1-(2-(硝基氧基)乙基)吡咯烷-2-羧酸酯(化合物39)

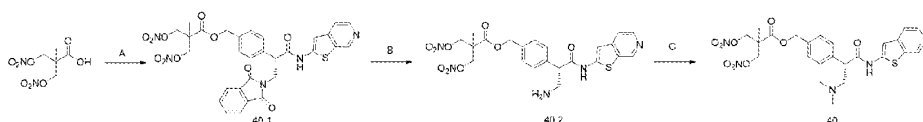
将化合物39.3(47mg, 0.076mmol)溶于5mL氯化氢的乙酸乙酯溶液(4M)，室温下反应1小时。待LCMS监测反应完全，将反应液浓缩至干，用反向制备纯化得到产物实施例39(19mg, 产率: 52%，白色固体)。LCMS ESI(+)/m/z: 514.2 (M+1)。

实施例40



(S)-4-(3-(2-(2-(2-(2-nitrooxyethyl)pyrrolidine-2-carboxylate)benzyl)-1-oxo-1-(thiopheno[2,3-c]pyridin-2-ylamino)propan-2-yl)benzyl 2-methyl-3-(2-nitrooxyethyl)-2-((2-nitrooxyethyl)methyl)propanoate

具体反应方程式如下所示:



步骤A: (S)-4-(3-(1,3-二氧异吲哚-2-基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基2-3-(硝基氧基)-2-((硝基氧基)甲基)丙酸甲酯(化合物40.1)

将2-甲基-3-(硝基氧基)-2-((硝基氧基)甲基)丙酸(146mg, 0.32mmol)、1-[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐(182mg, 0.48mmol)和二异丙基乙胺(123.8mg, 0.96mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(10mL)，加入化合物15.2(107.5mg, 0.32mmol)，在室温下反应3小时。待TLC监测反应完全，将反应液用水(30mL)稀释，乙酸乙酯萃取(30mL×2)，合并有机相，饱和食盐水(30mL×5)洗，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，柱层析纯化得到产物40.1(157mg, 产率: 74%，淡黄色固体)。LCMS ESI(+)/m/z: 664.1 (M+1)。

步骤B: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基2-甲基-3-(硝基氧基)-2-((硝基氧基)甲基)丙酸酯(化合物40.2)

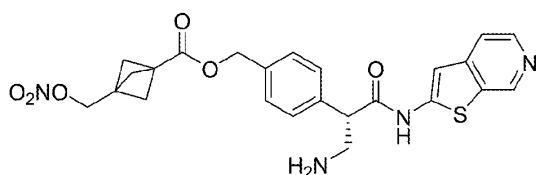
将化合物40.1(157mg, 0.237mmol)溶于5mL乙醇，加入水合肼(118mg, 2.37mmol)，55℃反应2小时。待LCMS监测反应完全，将反应液用水(20mL)稀释，乙酸乙酯萃取(20mL×2)，合并有机相，饱和食盐水(20mL)洗，无水硫酸钠干燥，过滤，旋干，柱层析纯化得到产物40.2(75mg, 产率: 59%，淡黄

色固体)。LCMS ESI(+) m/z : 534.1 (M+1)。

步骤C: (S)-4-(3-(二甲基氨基)-1-氧代-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基 2-甲基-3-(硝基氧基)-2-((硝基氧基)甲基)丙酸酯(化合物40)

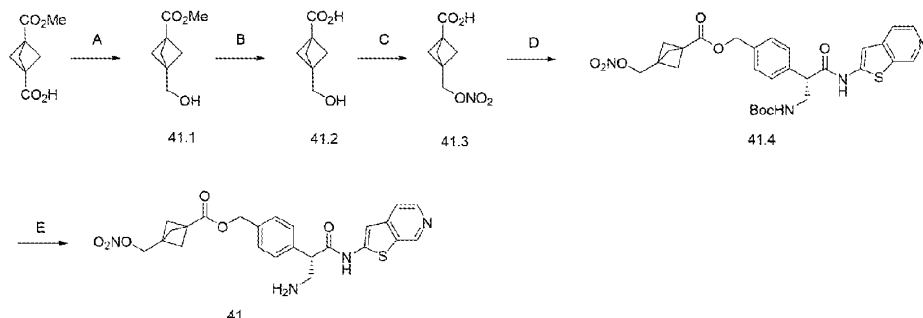
在氮气保护下,将化合物40.2(75mg, 0.14mmol)、甲醛(57mg, 37-40%的水溶液, 0.7mmol)和一滴乙酸溶于5mL甲醇,在冰水浴下加入氨基硼氢化钠(26.4mg, 0.42mmol),并在室温下反应1小时。待LCMS监测反应完全,反应液用饱和碳酸氢钠溶液(10mL)淬灭,加水(10mL)稀释,乙酸乙酯萃取(20mL×2),合并有机相,饱和食盐水(20mL)洗,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,柱层析纯化得到粗产物,继续用反向制备纯化得到产物实施例40(48mg, 产率: 57%, 白色固体)。LCMS ESI(+) m/z : 562.2 (M+1)。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.47 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.54 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.40 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 5.17 (s, 2H), 4.86 - 4.69 (m, 5H), 4.07 - 3.96 (m, 1H), 3.49 - 3.41 (m, 1H), 2.79 (s, 6H), 1.29 (s, 3H)。

实施例41



(S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基 3-((硝基氧基)甲基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸酯

具体反应方程式如下所示:



步骤A: 3-(羟甲基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸甲酯(化合物41.1)

在氮气保护下,将3-(甲氧基羰基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸(493mg, 2.9mmol)溶于15mL四氢呋喃,在冰水浴下滴加硼烷的二甲硫醚溶液(0.44mL, 10M, 4.35mmol),并在室温下反应3小时。待TLC监测反应完全,用5mL甲醇和4mL盐酸(2M)淬灭反应。减压旋去有机溶剂后,用水(20mL)稀释,乙酸乙酯萃取(20mL×2),合并有机相,饱和食盐水(20mL)洗,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,柱层析纯化得到产物41.1(402mg, 产率: 89%, 白色固体)。

步骤B: 3-(羟甲基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸(化合物41.2)

将化合物41.1(400mg, 2.5mmol)溶于10mL四氢呋喃和10mL甲醇,加入氢氧化钠(200mg, 5mmol)的水溶液(5mL),在室温下反应过夜。待TLC监测反应完全,减压旋去有机溶剂后,用水(15mL)稀释,乙酸乙酯(15mL×2)洗。水层用盐酸调节至pH<4,乙酸乙酯萃取(20mL×2),合并有机相,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,柱层析纯化得到产物41.2(287mg, 产率: 81%, 白色固体)。

步骤C: 3-((硝基氧基)甲基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸(化合物41.3)

在冰水浴下,将5mL浓硝酸滴加到5mL浓硫酸中,搅拌10分钟。随后在冰水浴下加入化合物41.2(285mg, 2mmol)的二氯甲烷(5mL)溶液,保持温度低于5℃搅拌2小时。待TLC监测反应完全,将反应液倒入20mL冰水中稀释,乙酸乙酯萃取(20mL×2),合并有机相,饱和食盐水(20mL)洗,无水硫酸钠干燥,过滤,

旋干，柱层析纯化得到产物41.3 (303mg, 产率: 81%, 白色固体)。

步骤D: (S)-4-(3-((叔丁氧羰基)氨基)-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙烷-2-基)苄基3-((硝基氧基)甲基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸酯(化合物41.4)

将化合物41.3 (33.7mg, 0.18mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (46mg, 0.24mmol) 和4-二甲氨基吡啶 (29.3mg, 0.24mmol) 溶于N,N-二甲基甲酰胺(2mL), 加入化合物15.2 (51mg, 0.12mmol), 在室温下反应过夜。待LCMS监测反应完全, 将反应液用水 (15mL) 稀释, 乙酸乙酯萃取 (15mL×2), 合并有机相, 饱和食盐水 (20mL×3) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 剩余物用柱层析纯化得到产物41.4 (54.9mg, 产率: 77%, 淡黄色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 597.2 (M+1)。

步骤E: (S)-4-(3-氨基-1-氧-1-(噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基氨基)丙-2-基)苄基3-((硝基氧基)甲基)双环[1.1.1]戊烷-1-羧酸酯(化合物41)

将化合物41.4 (54mg, 0.09mmol) 溶于3mL乙酸乙酯和3mL氯化氢的乙酸乙酯溶液 (4M), 室温下反应2.5小时。待LCMS监测反应完全, 将反应液浓缩至干, 用反向制备纯化得到产物实施例41 (40mg, 产率: 83%, 白色固体)。LCMS ESI (+) m/z: 497.2 (M+1)。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.56 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.52 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.21 (s, 3H), 8.15 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.43 - 7.31 (m, 3H), 5.08 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 4.53 - 4.40 (m, 1H), 3.70 - 3.56 (m, 1H), 3.22 - 3.08 (m, 1H), 2.02 (s, 6H)。

实施例 42:

ROCK2 激酶抑制剂活性测试

<一>实验过程。

1) 按照实验需求准备4X ROCK2反应溶液, 4X ATP反应溶液, 4X底物溶液, 4X化合物溶液。

2) 向384多孔板中依次加入2.5 μ L, 4X激酶溶液, 和2.5 μ L, 已经稀释好的不同浓度梯度的4X测试化合物溶液, 每个浓度设置2个复孔, 同时设置酶溶液空白对照组和阴性对照组 (DMSO组), 1000转, 离心1分钟, 混匀酶和化合物, 向384多孔板中加入2.5 μ L, 4X底物溶液, 1000转离心1分钟, 向384多孔板中加入2.5 μ L, 4XATP溶液, 1000转离心1分钟起始酶反应, 室温孵育1.5小时。

ROCK2反应的各组分终浓度分别为: ROCK2: 1nM, 底物: 500nM, ATP: 6 μ M, 测试化合物终浓度范围为: 100nM-5 μ M

3) 按照实验需求配制4X Streptavidin-XL-665检测溶液。

4) 酶反应结束后, 向384多孔板每孔中加入5 μ L, 4X Streptavidin-XL-665检测溶液, 1000转, 离心1分钟, 向384多孔板每孔中加入5 μ L, 4X STK Antibody-cryptate检测抗体溶液, 1000转, 离心1分钟, 室温条件下孵育1小时。

5) 抗体孵育结束后, 在Envision读板仪上用HTRF程序测定各孔的信号值。

<二> 数据分析

1) 以酶溶液空白对照组为 100%抑制率和阴性对照组 (DMSO 组) 为 0%抑制率, 计算检测化合物各个浓度对应的百分比抑制率。

2) 在 GraphPad Prism 软件中对检测化合物的浓度对数值和相对应的百分比抑制率进行非线性回归分析, 得到检测化合物的半数抑制浓度 (IC₅₀)。

用此方法检测得到化合物 ROCK2 激酶抑制剂活性 (IC₅₀) 如下表:

Ex#	IC ₅₀ (nM)	Ex#	IC ₅₀ (nM)
1	0.5	21	1.23
2	5.59	22	1.6
3	10.8	23	1.13
4	1.78	24	0.45

5	19.2	25	1.78
6	1.3	26	9.9
7	2.19	27	4.62
8	5.9	28	1.32
9	1.02	29	2.74
10	19.32	30	16.5
11	6.01	31	1.58
12	2.95	33	3.11
13	1.51	34	1.18
14	77.34	35	1.04
15	1.63	36	6.5
16	1.86	37	32.55
17	5.44	38	1.43
18	4.62	39	19.69
19	1.33	40	29.22
20	1.43	41	2.05

实施例 43: 细胞活性测试**<一>实验过程**

1) 消化处于对数生长期的 A7R5 细胞, 每孔 2E5 个细胞接种在 6 孔板中, 5%CO₂, 37° C 培养过夜, 24 小时后将细胞培养基替换为含有 0.05%FBS 的饥饿培养基, 饥饿细胞 20 小时。

2) 去除饥饿培养基, 用配制好的化合物浓度梯度处理细胞 60 分钟, 设置 VIP-5021 (10uM) 为阳性对照, DMSO 组为阴性对照。

3) 化合物处理结束后, 吸走化合物溶液, PBS 清洗 2 次, 每孔加入 100ul 细胞裂解液, 用细胞刮板轻轻刮下细胞, 并将细胞转移至离心管中, 冰上裂解 60 分钟。

4 裂解结束后, 4° C, 14000rpm 离心 15 分钟, 收集裂解液上清, 采用 BCA 方法进行蛋白定量, 调整蛋白浓度, 按照比例加入上样缓冲液, 100° C, 处理 10 分钟, 使蛋白变性。

5) 组装好电泳设备, 每个样品上样 20ug 总蛋白, 固定电压 125V, 电泳 90 分钟, 电泳结束后, 组装转膜系统, 固定电流 300mA, 转膜 120 分钟, 转膜结束后, 取出 PVDF 膜, PBS 清洗 2 次, 加入封闭液, 室温封闭 60 分钟, 去除封闭液, 加入含有一抗 (Phospho-Myosin Light Chain2 (Ser19)) 溶液 (抗体稀释倍数 1: 1000), 选定 GAPDH 作为内参, 4° C, 孵育过夜。

6) PBST 清洗 3 次, 加入含有对应种属的 HRP-抗体 (二抗稀释倍数 1: 2000), 室温孵育 60 分钟, PBST 清洗 3 次, 准备 HRP 化学发光底物, 按照 0.1 毫升每平方厘米滴加在 PVDF 膜上, 作用 30 秒, 使用凝胶成像仪 (ChemiDoc XRS+ (BIO-RAD)) 采集化学发光信号。

7) 使用 image J 软件对各个条带进行定量分析, 以 GAPDH 表达量为内参, 校正各个样品中 Phospho-Myosin Light Chain2 (Ser19) 的磷酸化蛋白水平。

〈二〉 数据分析

1) 以最高浓度化合物样品的 MLC2(Ser19)蛋白磷酸化水平为 100%抑制率, 以阴性对照组 (DMSO 组) 的 MLC2(Ser19)蛋白磷酸化水平为 0%抑制率, 计算检测化合物各个浓度对应的百分比抑制率

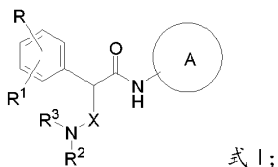
2) 在 GraphPad Prism 软件中对检测化合物的浓度对数值和相对应的百分比抑制率进行非线性回归分析, 得到检测化合物的细胞水平的半数抑制浓度 (IC₅₀)。

用此方法检测得到化合物细胞活性 (IC₅₀) 如下表:

Ex#	IC ₅₀ (nM)	Ex#	IC ₅₀ (nM)
1	53	9	30.3
7	8.8	11	21.4
8	35.8	13	39.5

权 利 要 求 书

1. 一种 NO 供体的小分子化合物，其特征在于：为由如下结构式 I 所示的化合物或其立体异构体，几何异构体，互变异构体，消旋体，氘代同位素衍生物，水合物，溶剂化物，代谢产物以及药学上可接受的盐或前药；



其中，环 A 为取代或未取代的杂芳环；

X 选自 $(CH_2)_n$ ，其中 n 选自 0、1、2、3；

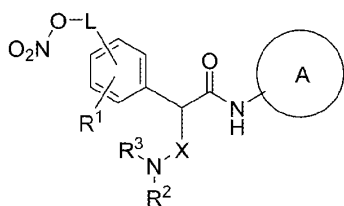
R 为末端-O-NO₂的取代基；

R¹ 选自氢、羟基、卤素、氨基、氰基、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基，取代或未取代的杂烷基；

R²、R³ 分别独立地选自氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、氨基保护基；

或者，R² 与 R³ 相连构成取代或未取代的环杂烷基。

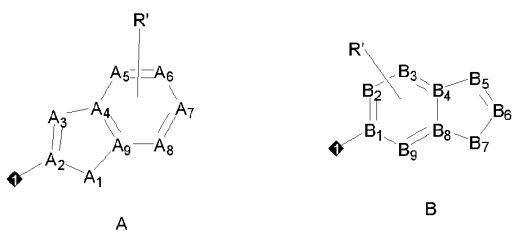
2. 如权利要求 1 所述的一种 NO 供体的小分子化合物，其特征在于，为由如下结构式所示的化合物或其立体异构体，几何异构体，互变异构体，消旋体，氘代同位素衍生物，水合物，溶剂化物，代谢产物以及药学上可接受的盐或前药：



L 是一个链接基团，选自取代或未取代的亚烷基，取代或未取代的亚杂烷基，选自取代或未取代的亚烷氧基，取代或未取代的环烷基，取代或未取代的杂环基，取代或未取代的芳基，取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的酯基。

3. 如权利要求 1 所述的一种 NO 供体的小分子化合物，其特征在于：

所述环 A 为选自式 A，或式 B；



R' 为杂芳环上一个或多个取代的取代基团；

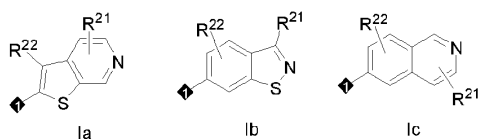
所述取代基团选自氢、羟基、卤素、氨基、氰基、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的杂烷基；

A₁、A₂、A₃、A₄、A₅、A₆、A₇、A₈、A₉ 中的至少一个选自氮、硫、氧；

B₁、B₂、B₃、B₄、B₅、B₆、B₇、B₈、B₉ 中的至少一个选自氮、硫、氧。

4. 如权利要求 1 所述的一种 NO 供体的小分子化合物，其特征在于：

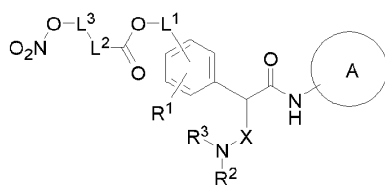
所述环 A 为选自式 Ia，或式 Ib，或式 Ic；



R^{21} 选自氢、羟基、卤素、氨基、氰基、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的杂烷基；

R^{22} 选自氢、卤素、氰基、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烷氧基。

5. 如权利要求 1 所述的一种 NO 供体的小分子化合物，其特征在于，为由如下结构式所示的化合物或其立体异构体，几何异构体，互变异构体，消旋体，氘代同位素衍生物，水合物，溶剂化物，代谢产物以及药学上可接受的盐或前药：

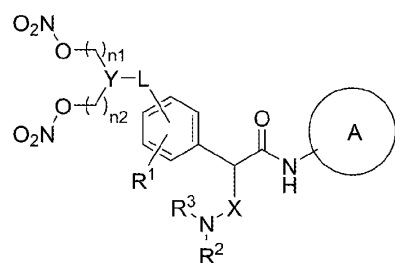


其中， L^1 为化学键，或是取代或未取代的亚烷基；

L^2 选自取代或未取代的亚烷基，取代或未取代的亚烷氧基，取代或未取代的环烷基，取代或未取代的芳基，取代或未取代的杂芳基；

L^3 为化学键，或取代或未取代的亚烷氧基。

6. 如权利要求 1 所述的一种 NO 供体的小分子化合物，其特征在于，为由如下结构式所示的化合物或其立体异构体，几何异构体，互变异构体，消旋体，氘代同位素衍生物，水合物，溶剂化物，代谢产物以及药学上可接受的盐或前药：



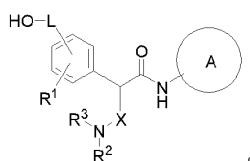
n_1 为 0，或自然数；

n_2 为 0，或自然数；

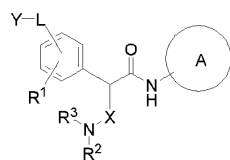
Y 选自取代或未取代的烷基，取代或未取代的环烷基，取代或未取代的杂环基，取代或未取代的芳基，取代或未取代的杂芳基。

7. 如权利要求 1 所述的一种 NO 供体的小分子化合物的制备方法，其特征在于：

将如下结构所示的化合物中的羟基经硝化反应获得：

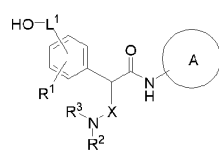


8. 如权利要求 1 所述的一种 NO 供体的小分子化合物的制备方法, 其特征在于:
将如下结构所示的化合物中的卤素经硝化反应获得;

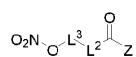


Y 为卤素。

9. 如权利要求 3 所述的一种 NO 供体的小分子化合物的制备方法, 其特征在于:
由如下式 IIIa 与式 IIIb 所示的化合物进行偶合反应获得;



IIIa



IIIb

Z 为卤素。

10. 如权利要求 1-9 任一所述的一种 NO 供体的小分子化合物, 其特征在于: 作为 ROCK 激酶的抑制剂使用。