

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日
2018年12月20日 (20.12.2018)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2018/228452 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 217/02 (2006.01) A61K 31/472 (2006.01)
C07D 217/22 (2006.01) A61P 27/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/091161

(22) 国际申请日: 2018年6月13日 (13.06.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201710459241.6 2017年6月16日 (16.06.2017) CN

(71) 申请人: 成都先导药物开发有限公司 (HITGEN LTD.) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区冯家湾工业园科园南路88号3号研发楼1001号, Sichuan 610041 (CN)。

(72) 发明人: 李进 (LI, Jim); 中国四川省成都市高新区冯家湾工业园科园南路88号3号研发楼1001号, Sichuan 610041 (CN)。张登友 (ZHANG, Dengyou); 中国四川省成都市高新区冯家湾工业园科园南路88号3号研发楼1001号, Sichuan 610041 (CN)。冯静超 (FENG, Jingchao); 中国四川省成都市高新区冯家湾工业园科园南路88号3号研发楼1001号, Sichuan 610041 (CN)。廖伟 (LIAO, Wei); 中国四川省成都市高新区冯家湾工业园科园南路88号3号研发楼1001号, Sichuan 610041 (CN)。林丽 (LIN, Li); 中国四川省成都市高新区冯家湾工业园科园南路88号3号研发楼1001号, Sichuan 610041 (CN)。李偲 (LI, Si); 中国四川省成都市高新区冯家湾工业园科园南路88号3号研发楼1001号, Sichuan 610041 (CN)。陈伟 (CHEN, Wei); 中国四川省成都市高新区冯家湾工业园科园南路88号3号研发楼1001号, Sichuan 610041 (CN)。

(74) 代理人: 成都高远知识产权代理事务所 (普通合伙) (GAOYUNG INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY (GENERAL PARTNERSHIP)); 中国四川省成都市高新区衣冠庙邮局A-42号信箱, Sichuan 610041 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

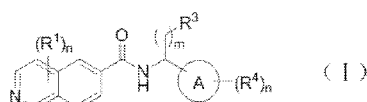
(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第21条 (3))。

(54) Title: ROCK-INHIBITING COMPOUND AND USES THEREOF

(54) 发明名称: 一种抑制 ROCK 的化合物及其用途



(57) Abstract: Provided are a compound of formula (I) having ROCK-inhibiting activity, a preparation method for the compound, and uses in preparing a medicament for treating ROCK activity abnormality-related diseases.

(57) 摘要: 提供了具有ROCK抑制活性的式 (I) 化合物、该化合物的制备方法以及在制备治疗与ROCK活性异常相关疾病的药物中的用途。



WO 2018/228452 A1

一种抑制 ROCK 的化合物及其用途

技术领域

本发明属于药物合成领域，具体涉及一种抑制ROCK的化合物及其在治疗与ROCK相关疾病中的应用。

背景技术

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、高眼压、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。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[J]. 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[J]. Heart, 2005: 91(3): 391-2）。

目前已经研究开发的 ROCK 抑制剂可分为五大类：（1）异噻啉类：此类化合物结构特点是具有一个异噻啉结构和哌嗪环，两者通过磺酰基相连。代表物有法苏地尔（Uehata M, Ishizaki T, Satoh H, et al. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension[J]. Nature, 1997, 389: 990-994）、H-1152P（Tamura M, Nakao H, Yoshizaki H, et al. Development of specific Rho-kinase inhibitors and their clinical application[J]. Biochim Biophys Acta, 2005, 1754: 245-252）；（2）4-氨基吡啶类：

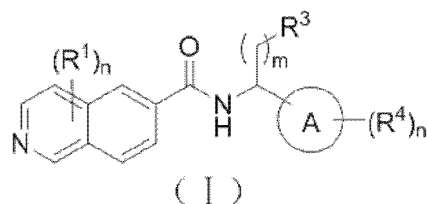
此类化合物结构除 4-氨基吡啶母核外，在分子的中心位置还含有一个环己烷或苯环结构，在环己烷的 4 位具有侧链结构。代表物有 Y-30141 (Takami A, Iwakubo M, Okada Y, et al. Design and synthesis of Rho kinase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem, 2004, 12: 2115-2137);

(3) 吡啶类：此类化合物将 5-氨基或 5-烷氧基-1H 吡啶作为骨架；(4) 酰胺和脲类：此类化合物具有一个邻苯二甲酰亚胺和一个脲基构成的纹和结构。(5) 其它类：其它不包含上述结构的 ROCK 抑制剂，代表物有 Rockout (Yarrow JC, Totsukawa G, Charras GT, et al. Screening for cell migration inhibitors via automated microscopy reveals a Rho-kinase inhibitor[J]. Chem Biol, 2005, 12: 385-395)。

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) 和 Kowa 公司的 Glanatec[®] (K-115) (适用于高眼压症和青光眼的治疗)。其中 Glanatec[®] 仅在日本上市销售。因此进行开发作用于 ROCK 的靶向小分子药物研究，得到活性更好、选择性更高、作用时间更长、稳定性更高、更低毒性和副作用、更经济的 ROCK 抑制剂，具有十分重要的社会和经济意义。

发明内容

本发明提供了一种式 (I) 所示的化合物或其立体异构体：



其中，

n 分别为 0、1 或 2；

R¹ 分别独立地选自氢、羟基、卤素、氨基、羧基、三氟甲基、硝基、氰基、C₁₋₆ 烷基；

m 分别为 0、1、2、3、4 或 5；

R³ 选自-NR²R^{2'}、含 N 的杂环烷基；其中，含 N 的杂环烷基可以进一步被 1~2 个独立选自于卤素、C₁₋₆ 烷基的取代基取代；

R²、R^{2'} 分别独立选自氢、C₁₋₆ 烷基；

A 环选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环或 ；

B 环、C 环分别各自选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；

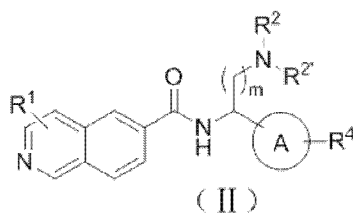
R⁴ 分别独立地选自氢、卤素、硝基、氰基、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、-(CH₂)_mOR^a、-(CH₂)_mOC(O)R^a、-(CH₂)_mOC(O)NR^aR^b、-(CH₂)_mNR^aR^b、-(CH₂)_mNR^aC(O)R^b、-(CH₂)_mNR^aC(O)OR^b、-(CH₂)_mC(O)R^a、-(CH₂)_mC(O)OR^a、-(CH₂)_mC(O)NR^aR^b；

R^a 、 R^b 分别各自选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；其中，3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环可以进一步被 1~2 个独立选自于卤素、 C_{1-6} 烷基的取代基取代。

优选的，所述 R^3 选自的含 N 的杂环烷基为 4~5 元的含 N 杂环烷基；

更进一步的，当 R^3 选自含 N 的杂环烷基且 A 环有 2 个 R^4 取代时，2 个 R^4 不同时为卤素；

本发明还提供一种结构如式 (II) 所示的化合物或其立体异构体：



其中，

R^1 选自氢、羟基、卤素、氨基、羧基、三氟甲基、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基；

m 分别为 0、1、2 或 3；

R^2 、 $R^{2'}$ 分别各自选自氢、 C_{1-6} 烷基；

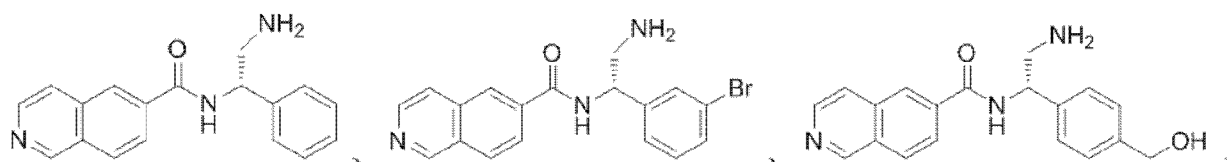
A 环选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环或 ；

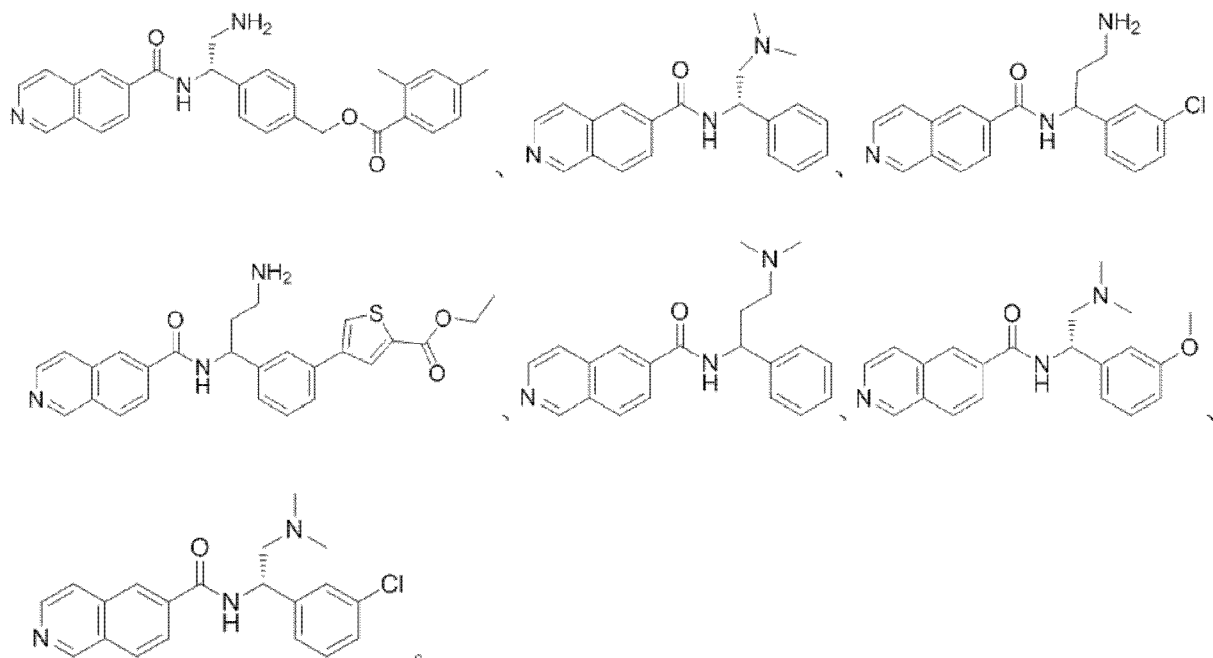
B 环、C 环分别各自选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；

R^4 分别各自独立地选自氢、卤素、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、 $-(CH_2)_mOR^a$ 、 $-(CH_2)_mOC(O)R^a$ 、 $-(CH_2)_mNR^aR^b$ 、 $-(CH_2)_mNR^aC(O)R^b$ 、 $-(CH_2)_mC(O)R^a$ 、 $-(CH_2)_mC(O)OR^a$ 、 $-(CH_2)_mC(O)NR^aR^b$ ；

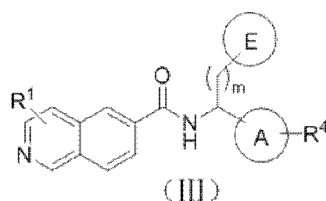
R^a 、 R^b 分别各自选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；其中，3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环可以进一步被 1~2 个独立选自于卤素、 C_{1-6} 烷基的取代基取代。

优选的，式 (II) 的化合物如下列结构式所示：






另一方面，本发明还提供结构如式 (III) 所示的化合物或其立体异构体：



R^1 选自氢、羟基、卤素、氨基、羧基、三氟甲基、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基；

m 分别为 0、1、2 或 3；

A 环选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环或 ；

B 环、C 环分别各自选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；

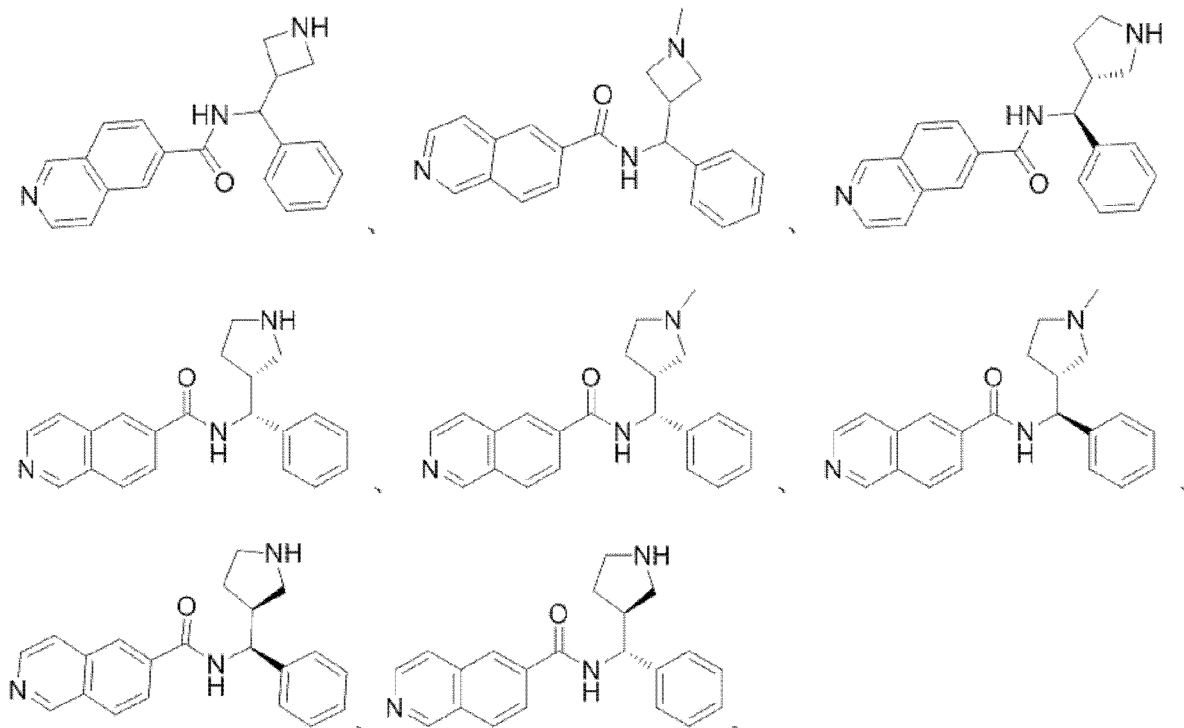
E 环选自含 N 的杂环烷基；所述含 N 的杂环烷基可以进一步被 1~2 个独立选自于卤素、 C_{1-6} 烷基的取代基取代；

R^4 分别独立地选自氢、卤素、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、 $-(CH_2)_mOR^a$ 、 $-(CH_2)_mOC(O)R^a$ 、 $-(CH_2)_mNR^aR^b$ 、 $-(CH_2)_mNR^aC(O)R^b$ 、 $-(CH_2)_mC(O)R^a$ 、 $-(CH_2)_mC(O)OR^a$ 、 $-(CH_2)_mC(O)NR^aR^b$ ；

R^a 、 R^b 分别各自选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；其中，3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环可以进一步被 1~2 个独立选自于卤素、 C_{1-6} 烷基的取代基取代。

优选的，E 环选自 4~5 元的含 N 的杂环烷基。

更优选的，式 (III) 化合物如下列结构所示：



本发明的再一方面，还提供上述化合物或其立体异构体、晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物在制备治疗与 ROCK 活性异常相关的疾病的药物中的用途。

进一步的，所述与 ROCK 活性异常相关的疾病是细胞骨架调整、平滑肌细胞收缩、神经再生相关的疾病。

更进一步的，所述的疾病为高眼压症或者青光眼。

本发明的另一方面，还提供一种药物，它是以上述化合物或其立体异构体、晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物为活性成分，加上药学上可接受的辅料制备而成的制剂。

本发明中提供的化合物和衍生物可以根据 IUPAC(国际纯粹与应用化学联合会)或 CAS(化学文摘服务社, Columbus, OH) 命名系统命名。

关于本发明的使用术语的定义：除非另有说明，本文中基团或者术语提供的初始定义适用于整篇说明书的该基团或者术语；对于本文没有具体定义的术语，应该根据公开内容和上下文，给出本领域技术人员能够给予它们的含义。

“取代”是指分子中的氢原子被其它不同的原子或分子所替换。

碳氢基团中碳原子含量的最小值和最大值通过前缀表示，例如，前缀 $C_a \sim b$ 烷基表明任何含“a”至“b”个碳原子的烷基。因此，例如， $C_{1 \sim 4}$ 烷基是指包含 1~4 个碳原子的烷基。

本发明中烯基可含有一个或多个碳碳双键。本发明中炔基可含有一个或多个碳碳三

键。

本发明中 $C_{a\sim b}$ 烷氧基、 $C_{a\sim b}$ 烷酯基、 $C_{a\sim b}$ 烷氨基、 $C_{a\sim b}$ 酰基分别是指含有“a”至“b”个碳原子的烷基与对应的氧原子、酯基、氨基、酰基相连得到的基团。

本发明中的立体异构体包括对映异构体和非对映异构体。

本发明中卤素包括氟原子、氯原子、溴原子、碘原子等。

本发明中杂原子包括氮原子、氧原子、硫原子等。

本发明中环烷基指非芳香性的环状碳氢基团，包括饱和环烷基和部分饱和环烷基。

本发明中杂环烷基指环中含有杂原子的非芳香性环烷基，包括饱和杂环烷基和部分饱和杂环烷基。

本发明中芳环指具有芳香性的环状碳氢基团。

本发明中芳杂环指环中含有杂原子的芳环。

术语“药学上可接受的”是指某载体、运载物、稀释剂、辅料，和/或所形成的盐通常在化学上或物理上与构成某药物剂型的其它成分相兼容，并在生理上与受体相兼容。

术语“盐”和“可药用的盐”是指上述化合物或其立体异构体，与无机和/或有机酸和碱形成的酸式和/或碱式盐，也包括两性离子盐（内盐），还包括季铵盐，例如烷基铵盐。这些盐可以是在化合物的最后分离和纯化中直接得到。也可以是通过将上述化合物，或其立体异构体，与一定数量的酸或碱适当（例如等当量）进行混合而得到。这些盐可能在溶液中形成沉淀而以过滤方法收集，或在溶剂蒸发后回收而得到，或在水介质中反应后冷冻干燥制得。本发明中所述盐可以是化合物的盐酸盐、硫酸盐、枸橼酸盐、苯磺酸盐、氢溴酸盐、氢氟酸盐、磷酸盐、乙酸盐、丙酸盐、丁二酸盐、草酸盐、苹果酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、马来酸盐、酒石酸盐或三氟乙酸盐。

在某些实施方式中，本发明的一种或多种化合物可以彼此联合使用。也可选择将本发明的化合物与任何其它的活性试剂结合使用，用于制备调控细胞功能或治疗疾病的药物或药物组合物。如果使用的是一组化合物，则可将这些化合物同时、分别或有序地对受试对象进行给药

显然，根据本发明的上述内容，按照本领域的普通技术知识和惯用手段，在不脱离本发明上述基本技术思想前提下，还可以做出其它多种形式的修改、替换或变更。

以下通过实施例形式的具体实施方式，对本发明的上述内容再作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

附图说明

图 1 为 K115 对正常眼压新西兰白兔的降眼压活性的实验结果

图 2 为化合物 5 对正常眼压新西兰白兔的降眼压活性的实验结果

图 3 为化合物 11a 对正常眼压新西兰白兔的降眼压活性的实验结果

图 4 为化合物 11a 对高眼压新西兰白兔的降眼压活性的实验结果

具体实施方式

化合物结构通过核磁共振 (NMR) 和质谱 (MS) 来确定的。NMR 位移 (δ) 以 10-6 (ppm) 的单位给出。NMR 的测定是用 (Bruker AvanceIII 400 和 Bruker Avance 300) 核磁仪, 测定溶剂为氘代二甲基亚砜 (DMSO-d₆)、氘代氯仿 (CDCl₃)、氘代甲醇 (MeOD), 内标为四甲基硅烷 (TMS)。

LC-MS 的测定使用岛津液质联用仪 (Shimadzu LC-MS 2020 (ESI))。

HPLC 的测定使用岛津高压液相色谱仪 (Shimadzu LC-20A)。

MPLC (中压制备色谱) 使用 Gilson GX-281 反相制备色谱仪。

柱层析一般使用烟台黄海硅胶 200~300 目硅胶为载体。

薄层层析硅胶板用烟台黄海 HSGF254 或青岛 GF254 硅胶板, 薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4 mm~0.5 mm。

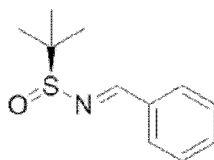
本发明具体实施方式中使用的原料、设备均为已知产品, 通过购买市售产品获得。已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成, 或可购买于安耐吉化学、成都科龙化工、韶远化学科技、百灵威科技等公司。

室温为最适宜的反应温度, 为 20°C~30°C。实施例中无特殊说明, M 是摩尔每升。实施例中无特殊说明, 溶液是指水溶液。

简写说明: DCM 为二氯甲烷; EA、EtOAc 为乙酸乙酯; PE 为石油醚; THF 为四氢呋喃; DMF 为 N,N-二甲基甲酰胺; DIEA 为二异丙基乙胺; DMAP 为 4-二甲氨基吡啶; EDCI 为 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐; HOBT 为 1-羟基苯并三唑; HBTU 为苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐; Pd(dppf)Cl₂ 为 [1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁] 二氯化钯。

实施例 1、N-(3-氨基-1-苯基丙基)异噻啉-6-甲酰胺的制备。

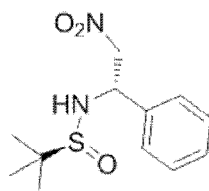
步骤 1. (S)-N-苯亚甲基-2-甲基丙烷-2-磺酰胺



室温下向苯甲醛(30.0 g, 283 mmol)的四氢呋喃(150 mL)溶液中加入叔丁基亚磺酰胺(51.4 g, 424 mmol)和钛酸四异丙酯(100 g, 353 mmol), 于 60°C 搅拌 4 小时后加水过滤, 用乙酸乙酯萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得(S)-N-苯亚甲基-2-甲基丙烷-2-磺酰胺(54 g, 232 mmol, 产率 82%)。

MS (ESI) $m/z = 210(M+1)^+$ 。

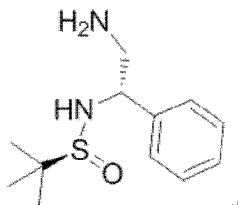
步骤 2. (S)-2-甲基-N-(2-硝基-1-苯乙基)-丙烷-2-亚磺酰胺的制备



(*S*)-*N*-苄基-2-甲基丙烷-2-磺酰胺(48.0 g, 229 mmol)溶于四氢呋喃(500 mL), 在氮气保护下于 0°C 加入叔丁醇钾 (38.5 g, 344 mmol), 反应液搅拌 1 小时后加入硝基甲烷 (140 g, 2.29 mol), 室温搅拌 24 小时。反应液用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得到(*S*)-2-甲基-*N*-(2-硝基-1-苯乙基)-丙烷-2-亚磺酰胺(18 g, 66.6 mmol, 产率 29%)。

MS (ESI) $m/z = 271 (M+1)^+$ 。

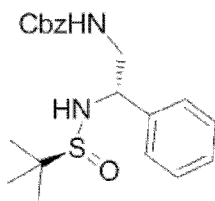
步骤 3. (*S*)-2-甲基-*N*-(2-氨基-1-苯乙基)-丙烷-2-亚磺酰胺的制备



将(*S*)-2-甲基-*N*-(2-硝基-1-苯乙基)-丙烷-2-亚磺酰胺(8.00 g, 29.6 mmol)溶于甲醇(50.0 mL), 加入雷尼镍 (800 mg, 10%), 室温搅拌 24 小时。反应液用硅藻土过滤, 减压蒸除溶剂得(*S*)-2-甲基-*N*-(2-氨基-1-苯乙基)-丙烷-2-亚磺酰胺(6.00 g, 21.5 mmol, 产率 86%)。

MS (ESI) $m/z = 241 (M+1)^+$ 。

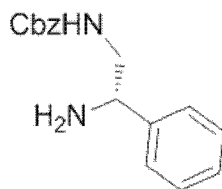
步骤 4. 苄基-*N*-(((*S*)-叔丁基亚磺酰胺)-2-苯乙基)氨基甲酸酯的制备



将(*S*)-2-甲基-*N*-(2-氨基-1-苯乙基)-丙烷-2-亚磺酰胺(7.00 g, 29.1 mmol)溶于四氢呋喃(70.0 mL), 加入三乙胺 (11.8 g, 116 mmol)和苯甲氧羰琥珀酰亚胺(8.70 g, 34.9 mmol), 搅拌 1 小时后用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得苄基-*N*-(((*S*)-叔丁基亚磺酰胺)-2-苯乙基)氨基甲酸酯(6.02 g, 12.8 mmol, 产率 44%)。

MS (ESI) $m/z = 375 (M+1)^+$ 。

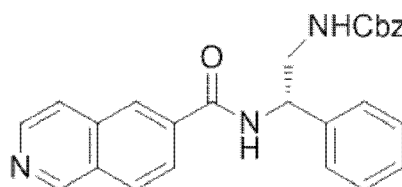
步骤 5. 苄基-*N*-(2-氨基-2-苯基-乙基)氨基甲酸酯的制备



将苄基-*N*-(((*S*)-叔丁基亚磺酰胺)-2-苯乙基)氨基甲酸酯(5.00 g, 13.4 mmol)溶于甲醇(10.0 mL), 加入 1,4-二氧六环的盐酸溶液(40.0 ml, 5 mol/L), 搅拌 1 小时后减压蒸除溶剂得苄基-*N*-(2-氨基-2-苯基-乙基)氨基甲酸酯(3.01 g, 10.2 mmol, 产率 76%)。

MS (ESI) $m/z = 271 (M+1)^+$ 。

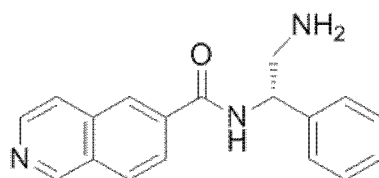
步骤 6. 苄基-*N*-((2*S*)-2-(异喹啉-6-甲酰胺)-2-苯基-乙基)氨基甲酸酯的制备



将苄基-*N*-(2-氨基-2-苯基-乙基)氨基甲酸酯(2.00 g, 7.40 mmol)溶于 DMF(10.0 mL), 加入苯并三氮唑-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (2.07 g, 8.14 mmol), 异喹啉-6-甲酸(1.28 g, 7.40 mmol)和 *N,N*-二异丙基乙胺(3.38 g, 29.6 mmol), 搅拌 1 小时后用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得苄基-*N*-((2*S*)-2-(异喹啉-6-甲酰胺)-2-苯基-乙基)氨基甲酸酯(2.01 g, 4.24 mmol, 产率 57%)。

MS (ESI) $m/z = 426 (M+1)^+$ 。

步骤 7. *N*-((*S*)-2-氨基-1-苯基-乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备

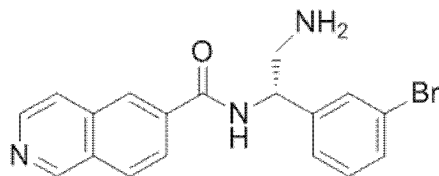


将苄基-*N*-((*S*)-2-(异喹啉-6-甲酰胺)-2-苯基-乙基)氨基甲酸酯(300 mg, 0.71 mmol)溶于乙酸(5.00 mL), 加入氢溴酸醋酸溶液 (2.50 ml, 33%), 搅拌 1 小时后减压蒸除溶剂得 *N*-((*S*)-2-氨基-1-苯基-乙基)异喹啉-6-甲酰胺 (180 mg, 540 μ mol, 产率 76%)。

MS (ESI) $m/z = 292 (M+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): $\delta = 9.78-9.84$ (m, 2H), 8.94 (s, 1H), 8.73-8.74 (d, $J=4$, 1H), 8.52-8.54 (d, $J=8$ Hz, 1H), 8.39-8.46(m, 4H), 7.50-7.52 (d, $J=8$, 2H), 7.32-7.42 (m, 3H), 5.41-5.46 (m, 1H), 3.44-3.49 (m, 1H), 3.17-3.24 (m, 1H)。

实施例 2、(*S*)-*N*-(3-氨基-1-(3-溴苯基)丙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



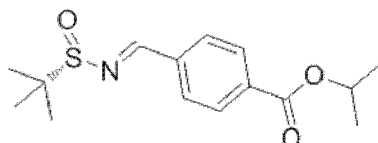
按照实施例 1 中步骤 1 到步骤 7 的方法，并将步骤 1 中的苯甲醛换为 3-溴苯甲醛，得到(S)-N-(3-溴苯亚甲基)-2-甲基-叔丁基亚磺酰胺。

MS (ESI) $m/z = 370, 372 (M+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, MeOD): $\delta = 9.91$ (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.65-8.71 (m, 3H), 8.49-8.52 ($J=12\text{Hz}$, 1H), 7.78 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.54-7.57 (m, 2H), 7.36-7.42 (m, 1H), 3.64-3.75 (m, 1H), 1.87-1.81 (m, 2H)。

实施例 3、(S)-N-(2-氨基-1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备

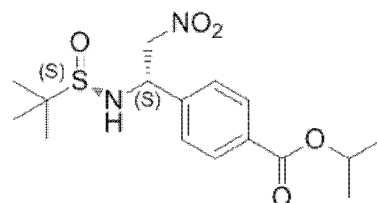
步骤 1. (S)-4-(((叔丁基亚磺酰基)亚胺)甲基)苯甲酸异丙酯的制备



室温下向(S)-叔丁基亚磺酰胺(83.1 g, 685 mmol)的 THF (50.0 mL)溶液中加入 4-甲酰基苯甲酸甲酯(50.0 g, 305 mmol) 和四异丙基钛 (108 g, 381 mmol)，回流搅拌 2 小时。待反应液冷却后用水(200 ml)淬灭，滤出白色固体。滤液分层，水相用乙酸乙酯萃取 (200 mL \times 1)。合并有机相依次饱和食盐水(300 mL \times 1)、水(300 mL \times 1)洗各 1 次后用无水 Na_2SO_4 干燥，过滤，滤液减压蒸除溶剂。柱层析纯化得(S, E)-4-(((叔丁基亚磺酰基)亚胺)甲基)苯甲酸异丙酯(60 g, 203 mmol, 产率 67%)。

MS (ESI) $m/z = 296(M+1)^+$ 。

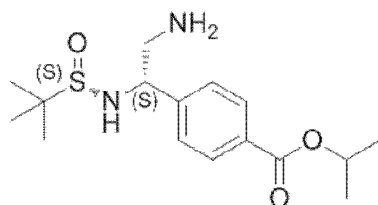
步骤 2. 4-((S)-1-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺)-2-硝基乙基)苯甲酸异丙酯的制备



在冰浴下往硝基甲烷(31.0 g, 654 mmol)的 THF (400 mL)溶液中分批加入叔丁醇钾 (11.0 g, 98.1 mmol)，氮气保护下室温搅拌 30 分钟。于冰浴下滴入(S)-4-(((叔丁基亚磺酰基)亚胺)甲基)苯甲酸异丙酯(18.0 g, 65.4 mmol)的 THF (200 mL)溶液，氮气保护下室温搅拌过夜。反应液用水淬灭 (400 mL)，乙酸乙酯萃取 (400 mL)。有机相依次用饱和食盐水 (400 mL)洗 1 次后用无水 Na_2SO_4 干燥，过滤，滤液减压蒸除溶剂。柱层析纯化得 4-((S)-1-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺)-2-硝基乙基)苯甲酸异丙酯(12 g, 35.7 mmol, 产率 55%)。

MS (ESI) $m/z = 357 (M+1)^+$ 。

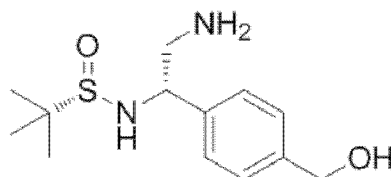
步骤 3. 4-((S)-2-氨基-1-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺)乙基) 苯甲酸异丙酯的制备



氮气保护下于室温往 4-((S)-1-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺)-2-硝基乙基)苯甲酸异丙酯(10.0 g, 28.1 mmol)的甲醇 (30.0 mL)溶液中加入雷尼镍 (1.00 g, 10%w/w)和三乙胺(1.42 g, 14.0 mmol)。于氢气下室温搅拌 4 小时。反应液过滤，滤饼甲醇洗涤，滤液减压蒸除溶剂得 4-((S)-2-氨基-1-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺)乙基) 苯甲酸异丙酯(9.40 g, 26.9 mmol, 产率 96%)。

MS (ESI) $m/z = 327 (M+1)^+$ 。

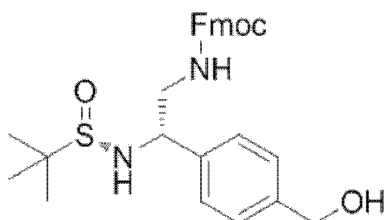
步骤 4. (S)-N-((S)-2-氨基-1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺的制备



氮气保护下于室温往 4-((S)-2-氨基-1-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺)乙基) 苯甲酸异丙酯(8.00 g, 24.5 mmol)的 THF (200 mL)溶液中加入 LiBH_4 (4.50 g, 204 mmol)。于氮气下回流 16 小时。反应液于冰浴下用水淬灭 (300 mL)，EtOAc 萃取 (300 mL \times 2)。有机相用无水 Na_2SO_4 干燥，过滤，滤液减压蒸除溶剂得(S)-N-((S)-2-氨基-1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(4.6 g, 15.7 mmol, 产率 77%)。

MS (ESI) $m/z = 271(M+1)^+$ 。

步骤 5. (9H-芴-9-基)甲基-((S)-2-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺)-2-(4-(羟甲基)苯基)乙基)氨基甲酸酯的制备

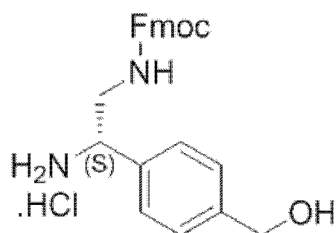


室温下往(S)-N-((S)-2-氨基-1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(3.97 g, 14.7 mmol)的 THF (20 mL)和水(20 mL)的溶液中加入(9H-芴-9-基)甲基-(2,5-二酮吡咯烷-1-基)碳酸酯 (7.44 g, 22.1 mmol)和 NaHCO_3 (3.70 g, 44.1 mmol)。于室温下搅拌 1 小时。用乙酸乙酯萃取 (50 mL \times 2)，合并有机相后用饱和食盐水(50 mL \times 1)洗 1 次，有机相用无水

Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 滤液减压蒸除溶剂得(9H-苄-9-基)甲基 ((S)-2-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺)-2-(4-(羟甲基)苯基)乙基)氨基甲酸酯(5.00 g, 9.70 mmol, 产率 66%)。

MS (ESI) $m/z = 493 (M+1)^+$ 。

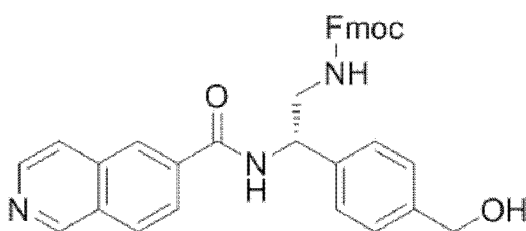
步骤 6. (S)-(9H-苄-9-基)甲基 (2-氨基-2-(4-(羟甲基)苯基)乙基) 氨基甲酸酯盐酸盐的制备



室温下往(9H-苄-9-基)甲基 ((S)-2-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺)-2-(4-(羟甲基)苯基)乙基)氨基甲酸酯(2.30 g, 4.67 mmol)的甲醇(3.0 mL)溶液中加入饱和盐酸二氧六环溶液(30 mL)。于室温下搅拌 30 分钟。反应液减压蒸除溶剂得(S)-(9H-苄-9-基)甲基 (2-氨基-2-(4-(羟甲基)苯基)乙基) 氨基甲酸酯盐酸盐(1.90 g, 4.47 mmol, 产率 96%)。

MS (ESI) $m/z = 389 (M+1)^+$ 。

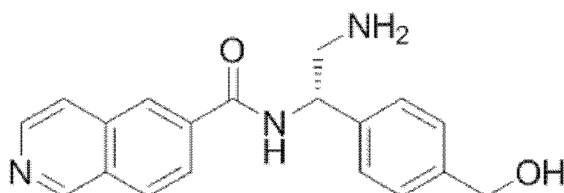
步骤 7. (S)-(9H-苄-9-基)甲基(2-(4-(羟甲基)苯基)-2-(异喹啉-6-甲酰胺)乙基)氨基甲酸酯的制备



室温下往异喹啉-6-甲酰胺(293 mg, 1.69 mmol)和(S)-(9H-苄-9-基)甲基 (2-氨基-2-(4-(羟甲基)苯基)乙基) 氨基甲酸酯盐酸盐(600 mg, 1.41 mmol)的 DMF (10.0 mL)溶液中加入 EDCI (325 mg, 1.69 mmol), HOBT (229 mg, 1.69 mmol) 和 DMAP (17.2 mg, 0.14 mmol)。于室温下搅拌 2 小时。用水淬灭(30 mL), EtOAc 萃取 (30 mL×2)。合并有机相用饱和食盐水(30 mL×1)洗 1 次, 有机相用无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 滤液减压蒸除溶剂。柱层析纯化得(S)-(9H-苄-9-基)甲基(2-(4-(羟甲基)苯基)-2-(异喹啉-6-甲酰胺)乙基)氨基甲酸酯(497 mg, 0.86 mmol, 产率 61%)。

MS (ESI) $m/z = 544 (M+1)^+$ 。

步骤 8. (S)-N-(2-氨基-1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



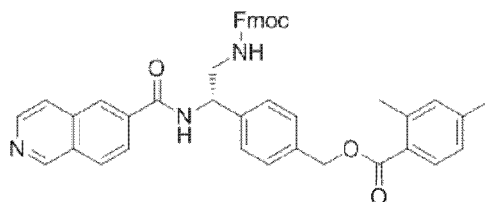
室温下往(S)-(9H-芴-9-基)甲基(2-(4-(羟甲基)苯基)-2-(异喹啉-6-甲酰胺)乙基)氨基甲酸酯(140 mg, 0.258 mmol)的 THF (15.0 mL)溶液中加入哌啶(219 mg, 2.58 mmol)。于室温下搅拌 1 小时。反应液减压蒸除溶剂, MPLC 纯化得(S)-N-(2-氨基-1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)异喹啉-6-甲酰胺(38.4 mg, 92.4 μ mol, 产率 95%)。

MS (ESI) $m/z = 322 (M+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, MeOD): $\delta = 9.91$ (s, 1H), 8.90 (d, $J=16.48$ Hz, 1H), 8.71 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.48 (dd, $J=1.52$ Hz, $J=1.60$ Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 5.57 (q, 1H), 4.67 (q, 2H), 3.62 (t, 1H), 3.49 (t, 1H)。

实施例 4、(S)-4-(2-氨基-1-(异喹啉-6-甲酰胺基)乙基)苯基 2,4-二甲基苯甲酸酯的制备

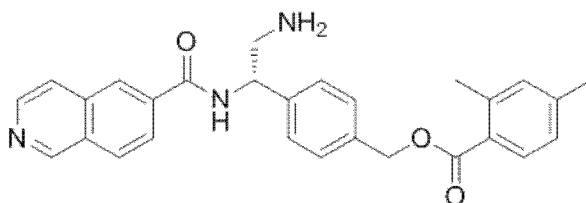
步骤 1. (S)-4-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-1-(异喹啉-6-甲酰胺基)乙基)苯基 2,4-二甲基苯甲酸酯



室温下往(S)-(9H-芴-9-基)甲基(2-(4-(羟甲基)苯基)-2-(异喹啉-6-甲酰胺)乙基)氨基甲酸酯(158 mg, 281 μ mol)和 2,4-二甲基苯甲酸(50.7 mg, 328 μ mol)的二氯甲烷溶液(40.0 mL)中加入 EDCI (70.2 mg, 366 μ mol)和 DMAP (3.44 mg, 128 μ mol), 室温搅拌过夜。减压蒸除溶剂, 柱层析纯化得(S)-4-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-1-(异喹啉-6-甲酰胺基)乙基)苯基 2,4-二甲基苯甲酸酯(151 mg, 0.22 mmol, 产率 77%)。

MS (ESI) $m/z = 676 (M+1)^+$ 。

步骤 2. (S)-4-(2-氨基-1-(异喹啉-6-甲酰胺基)乙基)苯基 2,4-二甲基苯甲酸酯的制备



室温下往(S)-4-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-1-(异喹啉-6-甲酰胺基)乙基)苯基 2,4-二甲基苯甲酸酯(150 mg, 222 μ mol)的 THF (10.0 mL)溶液中加入哌啶(378 mg, 4.44 mmol)。于室温下搅拌过夜。减压蒸除溶剂后经 MPLC 纯化得(S)-4-(2-氨基-1-(异喹啉-6-甲酰胺基)乙基)苯基-2,4-二甲基苯甲酸酯(35 mg, 71.4 μ mol, 产率 14%)。

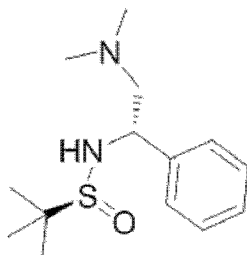
MS (ESI) $m/z = 454 (M+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD): $\delta = 9.89$ (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.70 (d, $J=6.52$ Hz, 1H), 8.65 (d, $J=3.24$ Hz, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.48 (dd, $J=1.48$ Hz, $J=1.52$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J=7.96$ Hz, 1H),

7.59 (q, 4H), 7.12 (s, 1H), 7.09 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 5.59 (q, 1H), 5.36 (s, 2H), 3.63 (q, 1H), 3.50 (dd, $J=4.92$ Hz, $J=4.52$ Hz, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.36 (s, 3H)。

实施例 5、*N*-((1*S*)-2-(二甲氨基)-1-苯基-乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备

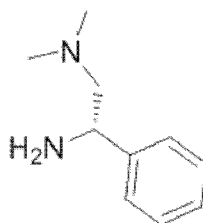
步骤 1. *N*-((*S*)-2-(二甲氨基)-1-苯基-乙基)-2-甲基-丙烷-2-亚磺酰胺的制备



将(*S*)-2-甲基-*N*-(2-胺基-1-苯乙基)-丙烷-2-亚磺酰胺(700 mg, 2.96 mmol)溶于甲醇(70 mL), 加入乙酸 (178 mg, 2.96 mmol)和甲醛水溶液 (266 mg, 8.88 mmol), 搅拌 1 小时后加入氰基硼氢化钠(744 mg, 11.8 mmol), 继续反应 2 小时后用 EA 和水萃取, 再将水相用 EA 萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得 *N*-((1*S*)-2-(二甲氨基)-1-苯基-乙基)-2-甲基-丙烷-2-亚磺酰胺 (201 mg, 0.59 mmol, 产率 20%)。

MS (ESI) $m/z = 269$ ($M+1$)⁺。

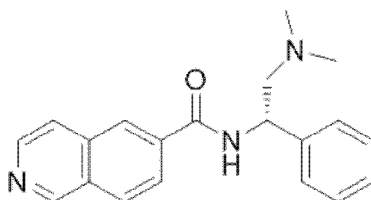
步骤 2. (1*S*)-*N*',*N*'-二甲基-1-苯基-乙烷-1,2-联氨的制备



将 *N*-((1*S*)-2-(二甲氨基)-1-苯基-乙基)-2-甲基-丙烷-2-亚磺酰胺(200 mg, 0.75 mmol)溶于甲醇(5.0 mL), 加入盐酸二氧六环溶液(10 mL, 5 M)搅拌 1 小时后减压蒸除溶剂得 (1*S*)-*N*',*N*'-二甲基-1-苯基-乙烷-1,2-联氨(100 mg, 0.48 mmol, 产率 65%)。

MS (ESI) $m/z = 165$ ($M+1$)⁺。

步骤 3. *N*-((1*S*)-2-(二甲氨基)-1-苯基-乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



将(1*S*)-*N*',*N*'-二甲基-1-苯基-乙烷-1,2-联氨(90.0 mg, 550 μ mol)溶于 DMF(10.0 mL), 加入苯并三氮唑-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (153 mg, 600 μ mol)、异喹啉-6-甲酸(105

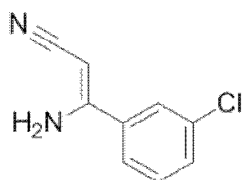
mg, 600 μmol)和 N,N -二异丙基乙胺(284 g, 2.19 mmol), 搅拌 1 小时后用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得苯基- N -((2*S*)-2-(异喹啉-6-甲酰胺)-2-苯基-乙基)氨基甲酸酯 (52 mg, 0.13 mmol, 产率 24%)。

MS (ESI) $m/z = 320(M+1)^+$ 。

^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6): $\delta = 10.11(\text{s}, 1\text{H}), 10.00-10.3(\text{d}, J=8.4, 1\text{H}), 9.88(\text{s}, 1\text{H}), 9.02(\text{s}, 1\text{H}), 8.74-8.75(\text{d}, J=6.4, 1\text{H}), 8.46-8.56(\text{m}, 3\text{H}), 7.59-7.61(\text{m}, 2\text{H}), 7.34-7.43(\text{m}, 3\text{H}), 5.62-5.66(\text{m}, 1\text{H}), 3.86-3.92(\text{m}, 1\text{H}), 3.45-3.49(\text{m}, 1\text{H}), 2.88-2.92(\text{m}, 6\text{H})$ 。

实施例 6、 N -(3-氨基-1-(3-氯苯基)丙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备。

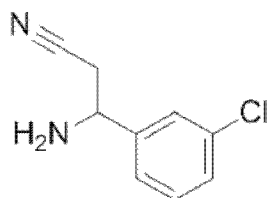
步骤 1. 3-氨基-3-(3-氯苯基)丙烯腈的制备



室温下往 3-氯苯腈(8.00 g, 58.2 mmol)的甲苯(50.0 mL)溶液中加入乙腈(4.77 g, 116 mmol)和叔丁醇钾(15.0 g, 134 mmol)并且搅拌 6 小时, 用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得到 3-氨基-3-(3-氯苯基)丙烯腈(4.99 g, 28.0 mmol, 产率 48%)。

MS (ESI) $m/z = 179(M+1)^+$ 。

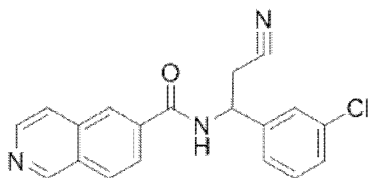
步骤 2. 3-氨基-3-(3-氯苯基)丙腈的制备



将 3-氨基-3-(3-氯苯基)丙烯腈(5.00 g, 28.0 mmol)溶于乙醇(10.0 mL), 室温下加入氰基硼氢化钠 (2.11 g, 33.6 mmol)和 1 滴 0.5%的溴甲酚绿乙醇溶液。然后加入浓盐酸直到反应液保持黄色, 继续室温搅拌 3 小时。减压蒸除溶剂并用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得到 3-氨基-3-(3-氯苯基)丙腈(5.02 g, 27.7 mmol, 产率 99%)。

MS (ESI) $m/z = 181(M+1)^+$ 。

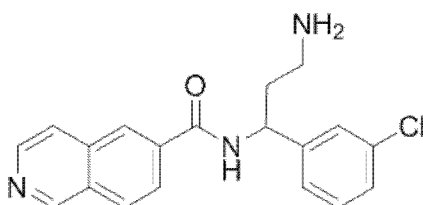
步骤 3. N -(1-(3-氯苯基)-2-氰乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



将 6-异喹啉甲酸(1.50 g, 8.30 mmol)溶于 DMF(15.0 mL), 室温下加入 HBTU (3.47 g, 9.13 mmol)、DIEA(3.21 g, 24.9 mmol)和 3-氨基-3-(3-氯苯基)丙腈(1.58 g, 9.13 mmol)。室温下搅拌 3 小时。减压蒸除溶剂并用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得 N-(1-(3-氯苯基)-2-氰乙基)异喹啉-6-甲酰胺(1.8 g, 5.36 mmol, 产率 65%)。

MS (ESI) $m/z = 336(M+1)^+$ 。

步骤 4. N-(3-氨基-1-(3-氯苯基)丙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



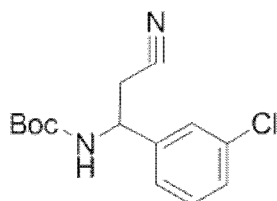
将 N-(1-(3-氯苯基)-2-氰乙基)异喹啉-6-甲酰胺(70.0 mg, 210 μmol)溶于甲醇(5.00 mL), 室温下加入雷尼镍 (10.0 mg)。在氢气下于室温搅拌 3 小时。过滤除去固体, 减压蒸除溶剂。经 MPLC 纯化得 N-(3-氨基-1-(3-氯苯基)丙基)异喹啉-6-甲酰胺(15.2 mg, 42.0 μmol , 产率 20%)。

MS (ESI) $m/z = 340(M+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, MeOD): $\delta = 9.34$ (s, 1H), 8.56-8.54 (m, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.25-8.23 (m, 1H), 8.10-8.08 (m, 1H), 7.98-7.96 (m, 1H), 7.53-7.52 (m, 1H), 7.44-7.41 (m, 1H), 7.39-7.37 (m, 1H), 7.34-7.31 (m, 1H), 5.31-5.27 (m, 1H), 2.92-2.78 (m, 2H), 2.24-2.06 (m, 2H)。

实施例 7、4-(3-(3-氨基-1-(异喹啉-6-甲酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-羧酸乙酯的制备

步骤 1. 叔丁基 (1-(3-氯苯基)-2-氰乙基)氨基甲酸酯的制备

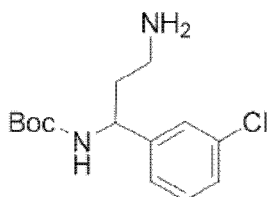


将 3-氨基-3-(3-氯苯基)丙腈(5.00 g, 27.7 mmol)溶于 THF/H₂O/MeOH=4/1/1(100.00 mL)的混合溶液中, 室温下加入碳酸钠 (8.80 g, 83.0 mmol)和碳酸二叔丁酯(6.65 g, 30.5 mmol)。室温搅拌 3 小时。减压蒸除溶剂并用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次,

合并有机相并用无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂。柱层析纯化得叔丁基 (1-(3-氯苯基)-2-氰乙基)氨基甲酸酯(5.6 g, 20 mmol, 产率 72%)。

MS (ESI) $m/z = 281(M+1)^+$ 。

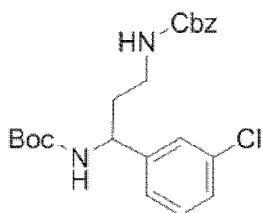
步骤 2. 叔丁基 (3-氨基-1-(3-氯苯基)丙基)氨基甲酸甲酯的制备



将叔丁基 (1-(3-氯苯基)-2-氰乙基)氨基甲酸酯(2.00 g, 7.12 mmol)溶于甲醇(25.0 mL)，室温下加入雷尼镍 (200 mg)，在氢气下于室温搅拌 3 小时。过滤除去固体，减压蒸除溶剂。经 MPLC 纯化得到叔丁基 (3-氨基-1-(3-氯苯基)丙基)氨基甲酸甲酯(2.01 g, 7.02 mmol, 产率 99%)。

MS (ESI) $m/z = 285(M+1)^+$ 。

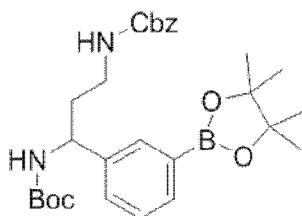
步骤 3. 苄基叔丁基 (1-(3-氯苯基)丙烷-1,3-取代基)二氨基甲酸酯的制备



将叔丁基 (3-氨基-1-(3-氯苯基)丙基)氨基甲酸甲酯(2.00 g, 7.02 mmol)溶于四氢呋喃(50.0 mL)，室温下加入三乙胺(2.13 g, 21.1 mmol)。室温搅拌 3 小时。减压蒸除溶剂并用乙酸乙酯和水萃取，再将水相用乙酸乙酯萃取两次，合并有机相并用无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂。柱层析纯化得到苄基叔丁基 (1-(3-氯苯基)丙烷-1,3-取代基)二氨基甲酸酯(2.81 g, 6.68 mmol, 产率 95%)。

MS (ESI) $m/z = 419(M+1)^+$ 。

步骤 4. 苄基叔丁基 (1-(3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基)丙烷-1,3-取代基)二氨基甲酸酯的制备

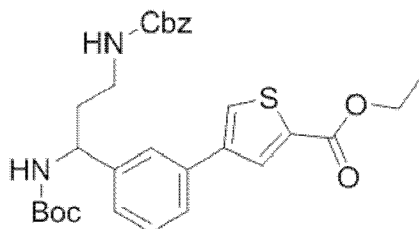


将苄基叔丁基 (1-(3-氯苯基)丙烷-1,3-取代基)二氨基甲酸酯(2.20 g, 5.25 mmol)溶于 1,4-二氧六环(30.0 mL)，室温下加入联硼酸频那醇酯 (5.34 g, 421 mmol)、2-双环己基膦

-2',6'-二甲氧基联苯 (43.1 mg, 110 μmol)、醋酸钨 (118 mg, 530 μmol)和醋酸钾(1.54 g, 15.8 mmol)。氮气保护下于 100 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 4 小时。减压蒸除溶剂并用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得到苄基叔丁基 (1-(3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基)丙烷-1,3-取代基)二氨基甲酸酯(1.5 g, 2.94 mmol, 产率 56%)。

MS (ESI) $m/z = 511(\text{M}+1)^+$ 。

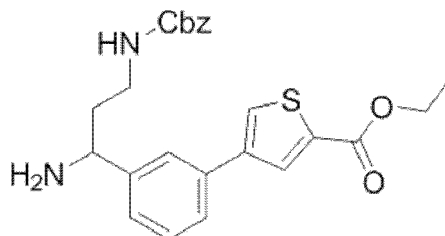
步骤 5. 4-(3-(3-(苄氧甲酰胺)-1-(叔丁氧羰酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-甲酸乙酯的制备



将苄基叔丁基 (1-(3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)苯基)丙烷-1,3-取代基)二氨基甲酸酯(1.20 g, 2.35 mmol)溶于 1,4-二氧六环(15.0 mL), 室温下加入 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (172 mg, 240 μmol)、碳酸钾 (975 mg, 7.05 mmol)和 4-溴噻吩-2-羧酸乙酯 (608 mg, 2.59 mmol)。氮气保护下于 100 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 4 小时。减压蒸除溶剂并用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得到 4-(3-(3-(苄氧甲酰胺)-1-(叔丁氧羰酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-甲酸乙酯(1.1 g, 2.04 mmol, 产率 87%)。

MS (ESI) $m/z = 539(\text{M}+1)^+$ 。

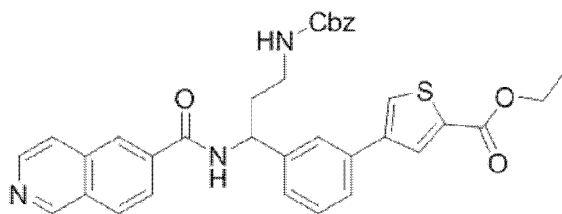
步骤 6. 4-(3-(1-氨基-3-(苄氧甲酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-羧酸乙酯的制备



将 4-(3-(3-(苄氧甲酰胺)-1-(叔丁氧羰酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-甲酸乙酯(1.10 g, 2.04 mmol)溶于甲醇(10.0 mL), 室温下加入浓盐酸 (5.00 ml)。室温搅拌 3 小时。减压蒸除溶剂。经 MPLC 纯化得 4-(3-(1-氨基-3-(苄甲氧酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-羧酸乙酯(864 mg, 1.97 mmol, 产率 97%)。

MS (ESI) $m/z = 439(\text{M}+1)^+$ 。

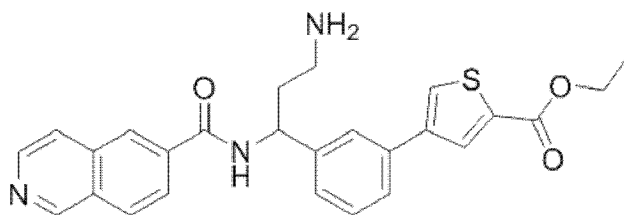
步骤 7. 4-(3-(3-(苄氧甲酰胺)-1-(异噻啉-6-甲酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-羧酸乙酯的制备



将 6-异喹啉甲酸(390 mg, 2.26 mmol)溶于 DMF(15.0 mL), 室温下加入 HBTU (573 mg, 2.26 mmol)、DIEA(794 mg, 6.16 mmol)和 4-(3-(1-氨基-3-(苄氧酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-羧酸乙酯(900 mg, 2.05 mmol)。室温搅拌 3 小时。减压蒸除溶剂并用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得 4-(3-(3-(苄氧酰胺)-1-(异喹啉-6-甲酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-羧酸乙酯(1.01 g, 1.68 mmol, 产率 83%)。

MS (ESI) $m/z = 594(M+1)^+$ 。

步骤 8. 4-(3-(3-氨基-1-(异喹啉-6-甲酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-羧酸乙酯的制备



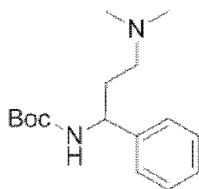
将 4-(3-(3-(苄氧酰胺)-1-(异喹啉-6-甲酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-羧酸乙酯(1.00 g, 1.68 mmol)溶于醋酸(5.00 mL), 室温下加入氢溴酸醋酸溶液 (5.00 ml)。室温搅拌 3 小时。减压蒸除溶剂。经 MPLC 纯化得 4-(3-(3-氨基-1-(异喹啉-6-甲酰胺)丙基)苯基)噻吩-2-羧酸乙酯 (50.3 mg, 0.09 mmol, 产率 5.3%)。

MS (ESI) $m/z = 594(M+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, MeOD): $\delta = 9.34$ (s, 1H), 8.55-8.54 (m, 2H), 8.46 (s, 1H), 8.25-8.22 (m, 1H), 8.19-8.18 (m, 1H), 8.12-8.09 (m, 1H), 8.02-8.01 (m, 1H), 7.97-7.96 (m, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.70-7.67 (m, 1H), 7.51-7.50 (m, 2H), 5.40-5.37 (m, 1H), 4.41-4.36 (m, 2H), 3.36-3.12 (m, 1H), 3.06-2.99 (m, 1H), 2.51-2.31 (m, 2H), 1.40 (t, $J=6.8$ Hz, 3H)。

实施例 8、N-(3-(二甲氨基)-1-苯基-丙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备

步骤 1. 叔丁基 N-(3-(二甲氨基)-1-苯基-丙基)氨基酸甲酯的制备

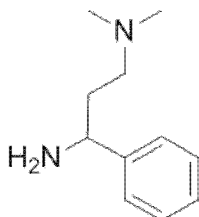


将叔丁基 (1-(3-氯苯基)-2-氰乙基)氨基酸甲酯(500 mg, 1.78 mmol)溶于甲醇(10.0

mL), 室温下加入钨碳 (50.0 mg)。在氢气下于室温搅拌 3 小时。加入甲醛溶液(535 mg, 17.8 mmol), 在氢气下室温搅拌 3 小时。过滤除去固体, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得叔丁基 *N*-(3-(二甲氨基)-1-苯基-丙基)氨基酸甲酯(402 mg, 1.44 mmol, 产率 81%)。

MS (ESI) $m/z = 279 (M+1)^+$ 。

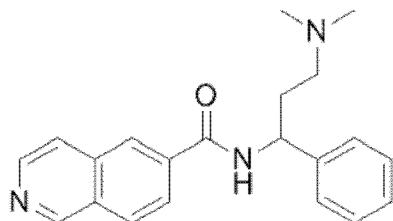
步骤 2. *N',N'*-二甲基-1-苯基-丙基-1,3-二胺的制备



将叔丁基 *N*-(3-(二甲氨基)-1-苯基-丙基)氨基酸甲酯(200 mg, 0.72 mmol)溶于甲醇 (5.00 mL), 室温下加入浓盐酸 (5.00 ml)。室温搅拌 3 小时, 减压蒸除溶剂。经 MPLC 纯化得 *N',N'*-二甲基-1-苯基-丙基-1,3-二胺(121 mg, 0.67 mol, 产率 94%)。

MS (ESI) $m/z = 179 (M+1)^+$ 。

步骤 3. *N*-(3-(二甲氨基)-1-苯基-丙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



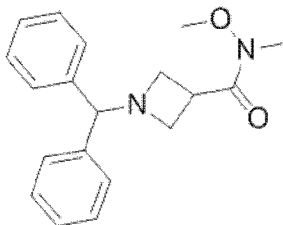
将 6-异喹啉甲酸(100 mg, 570 μ mol)溶于 DMF (5.00 mL), 室温下加入 HBTU (219 mg, 570 μ mol)、DIEA(224 mg, 1.73 mmol)和 *N',N'*-二甲基-1-苯基-丙基-1,3-二胺(100 mg, 570 μ mol)。室温搅拌 3 小时。减压蒸除溶剂并用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得 *N*-(3-(二甲氨基)-1-苯基-丙基)异喹啉-6-甲酰胺(39.6 mg, 120 μ mol, 产率 21%)。

MS (ESI) $m/z = 334 (M+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, MeOD): $\delta = 9.80$ (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.66 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 8.58-8.54 (m, 2H), 8.37-8.35 (m, 1H), 7.56-7.53 (m, 1H), 7.46-7.43 (m, 1H), 7.38-7.34 (m, 1H), 5.34-5.31 (m, 1H), 3.48-3.36 (m, 1H), 3.29-3.19 (m, 1H), 2.96 (s, 6H), 2.56-2.46 (m, 1H), 2.44-2.35 (m, 1H).

实施例 9. (*N*-氮杂环丁烷-基-苯甲基)异喹啉-6-甲酰胺的制备。

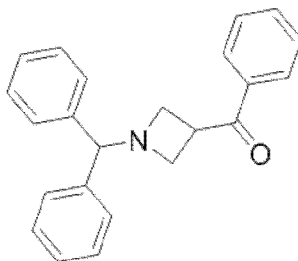
步骤 1. 1-二苯甲基-*N*-甲氧基-*N*-甲基-氮杂环丁烷-3-甲酰胺的制备



室温下往 1-苯基氮杂环丁烷-3-甲酸(10.0 g, 37.4 mmol)的二氯甲烷(100 mL)溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (19.3 g, 150 mmol)、*N*-羟基-7-偶氮苯并三氮唑(5.56 g, 41.2 mmol) 和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (7.90 g, 41.2 mmol)后室温搅拌 4 小时, 用乙酸乙酯萃取, 再将水相用乙酸乙酯和水萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得到 1-二苯甲基-*N*-甲氧基-*N*-甲基-氮杂环丁烷-3-甲酰胺(9.8 g, 29.0 mmol, 产率 78%)。

MS (ESI) $m/z = 311 (M+1)^+$ 。

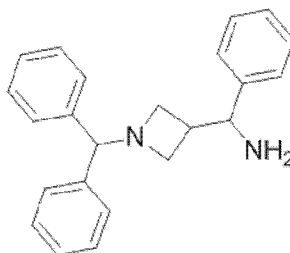
步骤 2. (1-苯基氮杂环丁烷-3-基)-苯基-甲酮的制备



将 1-二苯甲基-*N*-甲氧基-*N*-甲基-氮杂环丁烷-3-甲酰胺(5.00 g, 16.1 mmol) 溶于四氢呋喃(50 mL), 氮气保护下于 0°C 加入苯基溴化镁 (80.6 mL, 1M, 80.6 mmol), 搅拌 1 小时后升至室温反应 1 小时。用饱和氯化铵溶液淬灭, 乙酸乙酯萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得(1-苯基氮杂环丁烷-3-基)-苯基-甲酮(3.02 g, 8.25 mmol, 产率 51%)。

MS (ESI) $m/z = 328 (M+1)^+$ 。

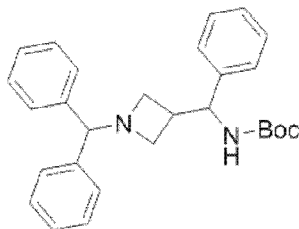
步骤 3. (1-苯基氮杂环丁烷-3-基)-苯基-甲氨基的制备



将(1-苯基氮杂环丁烷-3-基)-苯基-甲酮(500 mg, 1.53 mmol) 溶于甲醇(25 mL)和二氯甲烷(25 mL), 加入乙酸 (90.0 mg, 1.53 mmol)和乙酸铵 (1.47 g, 6.11 mmol), 氮气下反应 1 小时后, 加入氰基硼氢化钠(380 mg, 6.11 mmol)。反应液用饱和氯化铵溶液淬灭, 乙酸乙酯萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得(1-苯基氮杂环丁烷-3-基)-苯基-甲氨基(199 mg, 0.53 mmol, 产率 34%)。

MS (ESI) $m/z = 329 (M+1)^+$ 。

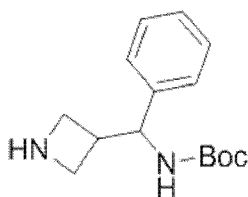
步骤 4. 四叔丁基-*N*-((1-苄基氮杂环丁烷-3-基)-苯基-甲基)氨基甲酸酯的制备



将(1-苄基氮杂环丁烷-3-基)-苯基-甲氨基(1.20 g, 3.65 mmol)溶于四氢呋喃(70 mL), 加入碳酸钾 (2.01 g, 14.6 mmol)和二碳酸二叔丁酯(875 mg, 4.02 mmol), 搅拌 1 小时后用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得四叔丁基-*N*-((1-苄基氮杂环丁烷-3-基)-苯基-甲基)氨基甲酸酯(1.10 g, 2.31 mmol, 产率 63%)。

MS (ESI) $m/z = 429 (M+1)^+$ 。

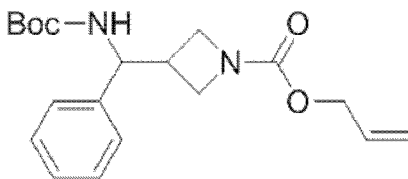
步骤 5. 四叔丁基-*N*-(氮杂环丁烷-3-基(苯基)甲基)氨基甲酸酯的制备



将四叔丁基-*N*-((1-苄基氮杂环丁烷-3-基)-苯基-甲基)氨基甲酸酯(1.20 g, 2.80 mmol)溶于甲醇(10 mL), 加入氢氧化钾 (39 mg, 10%)后在氢气下搅拌 24 小时。用硅藻土过滤后, 减压蒸除溶剂得四叔丁基-*N*-(氮杂环丁烷-3-基(苯基)甲基)氨基甲酸酯(503 mg, 1.52 mmol, 产率 54%)。

MS (ESI) $m/z = 263 (M+1)^+$ 。

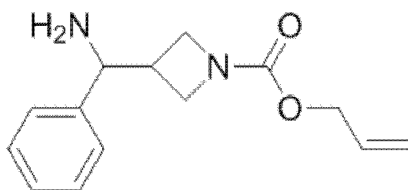
步骤 6. 烯丙基-3-((叔丁氧羰基酰胺)-苯基-甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸酯的制备



将四叔丁基-*N*-(氮杂环丁烷-3-基(苯基)甲基)氨基甲酸酯(1.00 g, 3.81 mmol)溶于四氢呋喃(10 mL), 加入三乙胺(770 mg, 7.62 mmol)和氯甲酸烯丙酯 (367 mg, 3.05 mmol), 搅拌 2 小时后用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得烯丙基-3-((叔丁氧羰基酰胺)-苯基-甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸酯 (597 mg, 1.39 mmol, 产率 55%)。

MS (ESI) $m/z = 347 (M+1)^+$ 。

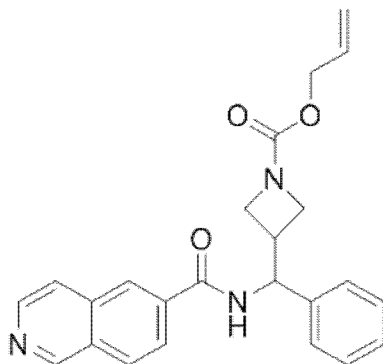
步骤 7. 烯丙基-3-(苯甲基胺)氮杂环丁烷-1-羧酸酯的制备



将烯丙基-3-((叔丁氧羰基酰胺)-苯基-甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸酯(500 mg, 1.44 mmol)溶于甲醇(10.0 mL),冰浴下加入浓盐酸(3.00 ml),搅拌 2 小时后减压蒸除溶剂得烯丙基-3-(苯甲基胺)氮杂环丁烷-1-甲酸酯 (121 mg, 0.39 mol, 产率 27%)。

MS (ESI) $m/z = 247 (M+1)^+$ 。

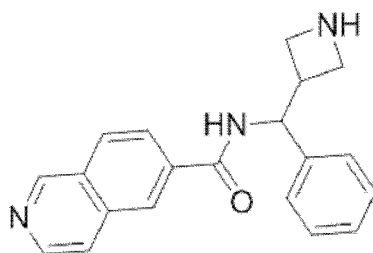
步骤 8. 烯丙基-3-(异喹啉-6-甲酰胺)苯甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸酯的制备



室温下往烯丙基-3-(苯甲基胺)氮杂环丁烷-1-甲酸酯(150 mg, 610 μmol)的 DMF(10.0 mL)溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (315 mg, 2.44 mmol)、*N*-羟基-7-偶氮苯并三氮唑(120 mg, 0.61 mmol)和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (156 mg, 0.61 mmol), 室温搅拌 4 小时后用乙酸乙酯萃取, 再将水相用乙酸乙酯和水萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得烯丙基-3-(异喹啉-6-甲酰胺)苯甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸酯(121 mg, 0.27 mmol, 产率 44%)。

MS (ESI) $m/z = 402 (M+1)^+$ 。

步骤 9. *N*-(氮杂环丁烷-3-基-苯甲基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



室温下往烯丙基-3-(异喹啉-6-甲酰胺)苯甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸酯(120 mg, 0.30 mmol)的四氢呋喃(5.00 mL)溶液中加入四三苯基磷钨(3.45 mg, 0.30 mmol)和吗啉 (260 mg, 2.99 mmol), 室温搅拌 2 小时后减压蒸除溶剂。柱层析纯化得 *N*-(氮杂环丁烷-3-基-

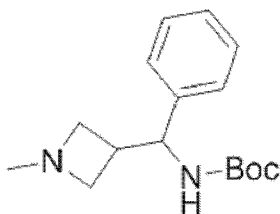
苯甲基)异喹啉-6-甲酰胺(6.0 mg, 0.14 μmol , 产率 4.9%)。

MS (ESI) $m/z = 318(\text{M}+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO-d}_6 + \text{D}_2\text{O}$): $\delta = 9.78$ (s, 1H), 8.62-8.68 (m, 2H), 8.49-8.55 (m, 2H), 8.24-8.26(d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.31-7.45(m, 5H), 5.39-5.41 (d, $J=10.4$ Hz, 1H), 4.12-4.16 (m, 1H), 3.85-3.95 (m, 2H), 3.72-3.78(m, 1H), 3.42-3.48(m, 1H)。

实施例 10、(甲基-*N*-氮杂环丁烷-苯基)异喹啉-6-甲酰胺的制备。

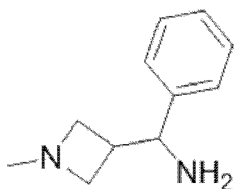
步骤 1. 四叔丁基(甲基-*N*-氮杂环丁烷-3-基(苯基)甲基)氨基甲酸酯的制备



将四叔丁基-*N*-(氮杂环丁烷-3-基(苯基)甲基)氨基甲酸酯(1.00 g, 3.81 mmol)溶于甲醇(10.0 mL), 加入乙酸(266 mg, 3.81 mmol)和甲醛水溶液(572 mg, 19.1 mmol), 搅拌 1 小时后加入氰基硼氢化钠(239 mg, 3.81 mmol)。用饱和氯化铵水溶液淬灭后, 用乙酸乙酯萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得四叔丁基(甲基-*N*-氮杂环丁烷-3-基(苯基)甲基)氨基甲酸酯(796 mg, 2.03 mmol, 产率 53%)。

MS (ESI) $m/z = 277 (\text{M}+1)^+$ 。

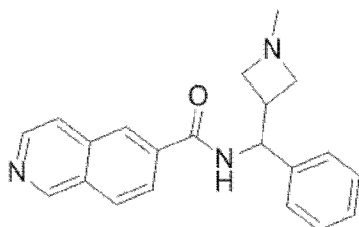
步骤 2. (1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-苯甲胺的制备



将四叔丁基(甲基-*N*-氮杂环丁烷-3-基(苯基)甲基)氨基甲酸酯(773 mg, 2.80 mmol)溶于甲醇(10 mL), 冰浴下加入浓盐酸(3.00 ml), 搅拌 2 小时后减压蒸除溶剂得烯丙基-3-(苯甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸酯(0.48 g, 2.2 mmol, 产率 78%)。

MS (ESI) $m/z = 177 (\text{M}+1)^+$ 。

步骤 3. *N*-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-苯甲基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



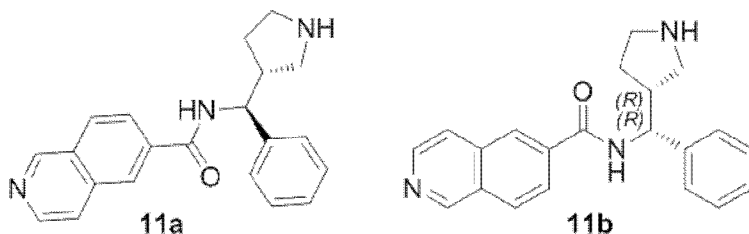
室温下往烯丙基-3-(苯甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸酯(400 mg, 2.27 mmol)的 DMF(10.0

mL)溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (1.17 g, 9.08 mmol)、*N*-羟基-7-偶氮苯并三氮唑(430 mg, 2.27 mmol)和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (460 mg, 2.27 mmol), 室温搅拌 4 小时, 用乙酸乙酯萃取, 再将水相用乙酸乙酯和水萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化到 *N*-((1-甲基氮杂环丁烷-3-基)-苯甲基)异喹啉-6-甲酰胺(20.2 mg, 48.0 μ mol, 产率 2.1%)。

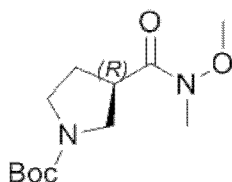
MS (ESI) $m/z = 332 (M+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, MeOD): $\delta = 9.86$ (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.60-8.68 (m, 3H), 8.36-8.38 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.52-7.54(d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.42-7.45 (m, 2H), 7.36-7.38 (m, 1H), 5.51-5.60 (m, 1H), 4.44-4.58(m, 1H), 4.11-4.23(m, 2H), 3.96-4.02 (m, 1H), 3.62-3.71 (m, 1H), 2.96-3.01 (d, $J=12$ Hz, 3H)。

实施例 11、*N*-((*S*)-苯基-((*R*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺和 *N*-((*R*)-苯基-((*R*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



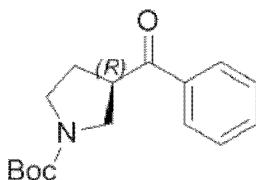
步骤 1. (*R*)-叔丁基 3-(甲氧基(甲基)甲酰胺基)四氢吡咯-1-甲酸酯的制备



将(*R*)-1-叔丁氧基羰基四氢吡咯-3-羧酸(15.0 g, 69.7 mmol)溶于 DCM (200 mL), 加入 EDCI (14.6 g, 76.7 mmol), HOBT (10.4 g, 76.7 mmol), DIEA (27.0 g, 209 mmol)和二甲羟胺 (6.38 g, 104.5 mmol), 搅拌 1 小时后用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得叔丁基 (*R*)-3-(甲氧基(甲基)氨基甲酰)四氢吡咯-1-甲酸酯 (15 g, 58 mmol, 83% 产率)。

MS (ESI) $m/z = 259 (M+1)^+$ 和 $203 (M+1-56)^+$ 。

步骤 2. 叔丁基 (*R*)-3-苯甲酰基四氢吡咯-1-甲酸酯的制备

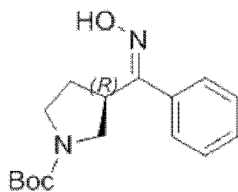


将叔丁基 (*R*)-3-(甲氧基(甲基)氨基甲酰)四氢吡咯-1-甲酸酯 (10 g, 38.7 mmol)溶于 THF (30 mL), 苯基溴化镁 (194 mmol, 1M, 194 mL)滴加入反应体系在 0°C 搅拌 1 小时

后用乙酸乙酯和水萃取,再将水相用乙酸乙酯萃取两次,合并有机相并用无水硫酸钠干燥,减压蒸除溶剂。柱层析纯化得叔丁基 (*R*)-3-苯甲酰基四氢吡咯-1-甲酸酯 (9.1 g, 33 mmol, 84% 产率)。

MS (ESI) $m/z = 276 (M+1)^+$ 和 $220 (M+1-56)^+$ 。

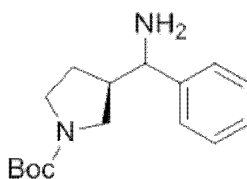
步骤 3. (*R*)-叔丁基-3-((羟亚胺)(苯基)甲基)四氢吡咯-1-甲酸酯的制备



将叔丁基 (*R*)-3-苯甲酰基四氢吡咯-1-甲酸酯 (10 g, 36.3 mmol)溶于 MeOH (150 mL), 室温下加入 Na_2CO_3 (11.6 g, 109 mmol)和盐酸羟胺 (6.00 g, 182 mmol), 50°C 搅拌 2 小时后用乙酸乙酯和水萃取,再将水相用乙酸乙酯萃取两次,合并有机相并用无水硫酸钠干燥,减压蒸除溶剂。柱层析纯化得(*R*)-叔丁基-3-((羟亚胺)(苯基)甲基)四氢吡咯-1-甲酸酯(8.1 g, 28 mmol, 77% 产率)。

MS (ESI) $m/z = 291(M+1)$ 和 $235(M+1-56)^+$ 。

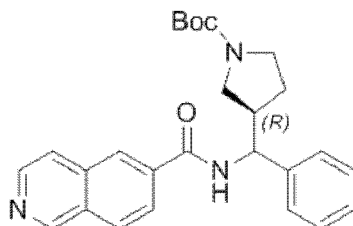
步骤 4. 叔丁基 (3*R*)-3-(氨基(苯基)甲基)四氢吡咯-1-甲酸酯的制备



将(3*R*)-3-((*E*)-*N*-羟基-*C*-苯基-碳化二亚胺)四氢吡咯-1-甲酸酯(8.0 g, 27 mmol)溶于 MeOH (150.00 mL), 室温下加入雷尼镍, 氢气室温下搅拌 2 小时后用抽滤, 滤液减压蒸除溶剂。柱层析纯化得叔丁基 (*R*)-3-(氨基(苯基)甲基)四氢吡咯-1-甲酸酯 (4.9 g, 18 mmol, 65% 产率)。

MS (ESI) $m/z = 277 (M+1)^+$ 和 $221 (M+1-56)^+$ 。

步骤 5. 叔丁基 (*R*)-3-((异喹啉-6-甲酰胺)-苯基-甲基)四氢吡咯-1-甲酸酯的制备

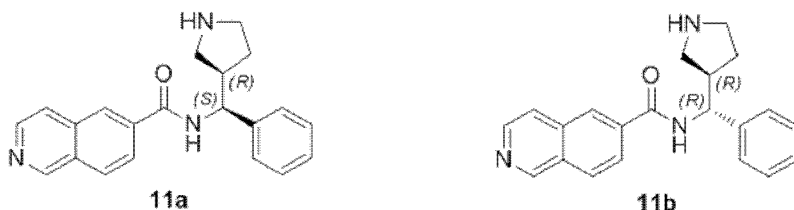


将异喹啉-6-甲酸 (3.00 g, 17.3 mmol)溶于 DMF(20.0 mL), 加入苯并三氮唑-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (7.26 g, 19.06 mmol), 叔丁基 (*R*)-3-(氨基(苯基)甲基)四氢吡咯-1-甲酸酯 (4.79 g, 17.3 mmol)和 *N,N*-二异丙基乙胺(3.38 g, 29.6 mmol), 搅拌 1 小时后用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压

蒸除溶剂。柱层析纯化得叔丁基 (*R*)-3-((异喹啉-6-甲酰胺)-苯基-甲基)四氢吡咯-1-甲酸酯 (6.01 g, 13.9 mmol, 80% 产率)。

MS (ESI) $m/z = 432 (M+1)^+$ 和 $376 (M+1-56)^+$ 。

步骤 6. *N*-((*S*)-苯基-((*R*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺和 *N*-((*R*)-苯基-((*R*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



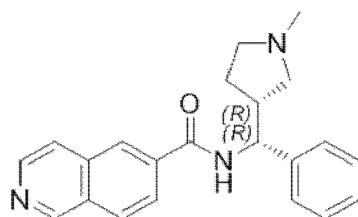
将叔丁基 (*R*)-3-((异喹啉-6-甲酰胺)-苯基-甲基)四氢吡咯-1-甲酸酯 (5.00 g, 11.6 mmol) 溶于乙酸乙酯 (30.0 mL)，加入浓盐酸 (10.0 ml)，搅拌 1 小时后减压蒸除溶剂，经 Pre-PLC 制备得到 *N*-((*S*)-苯基-((*R*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺 (0.89 g, 2.69 mmol, 23% 产率) 和 *N*-((*R*)-苯基-((*R*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺 (1.0 g, 3.0 mmol, 26% 产率)。

MS (ESI) $m/z = 332 (M+1)^+$ 。

化合物 11a: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD): $\delta = 9.31$ (s, 1H), 8.53-8.49 (m, 2H), 8.39 (s, 1H), 8.19 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.45-7.41 (m, 2H), 7.37-7.33 (m, 1H), 5.18 (d, $J=10.0$ Hz, 1H), 3.55-3.49 (m, 1H), 3.41-3.36 (m, 1H), 3.19-3.11 (m, 2H), 3.00-2.94 (m, 1H), 2.45-2.39 (m, 1H), 2.11-2.01 (m, 1H)。

化合物 11b: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD): $\delta = 9.32$ (s, 1H), 8.53 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.20 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.45-7.41 (m, 2H), 7.37-7.33 (m, 1H), 5.15 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 3.69-3.64 (m, 1H), 3.49-3.43 (m, 1H), 3.31-3.26 (m, 2H), 3.16-3.10 (m, 1H), 1.93-1.85 (m, 1H), 1.80-1.70 (m, 1H)。

实施例 12、*N*-((*R*)-((*R*)-1-甲基四氢吡咯-3-基)(苯基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



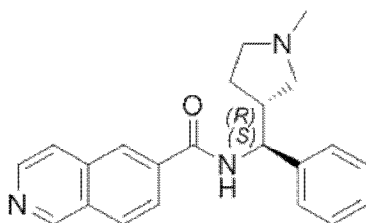
将 *N*-((*R*)-苯基-((*R*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺 (250 mg, 1.51 mmol) 溶于甲醇 (15.0 mL)，加入乙酸 (9.1 mg, 0.15 mmol) 和甲醛水溶液 (0.58 mL, 13M, 7.55 mmol)，搅拌 1 小时后加入醋酸硼氢化钠 (0.96 g, 4.53 mmol)，继续反应 2 小时后用乙酸乙酯和水萃取，再将水相用乙酸乙酯萃取两次，合并有机相并用无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂。

柱层析纯化得 *N*-((*R*)-((*R*)-1-甲基四氢吡咯-3-基)(苯基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺(30 mg, 83 μ mol, 11% 产率)。

MS (ESI) $m/z = 346 (M+1)^+$ 。

^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): $\delta = 11.08-10.77$ (m, 1H), 9.77 (s, 1H), 9.65-9.63 (m, 1H), 8.76-8.70 (m, 2H), 8.47 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.37 (s 1H), 8.27 (t, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.52 (t, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.41-7.36 (m, 2H), 7.32-7.28 (m, 1H), 5.16-5.07 (m, 1H), 3.82-3.77 (m, 1H), 3.55-3.48 (m, 2H), 3.30-3.15 (m, 1H), 3.13-3.05 (m, 1H), 2.81 (s, 3H), 1.79-1.61 (m, 2H)。

实施例 13、*N*-((*S*)-((*R*)-1-甲基四氢吡咯-3-基)(苯基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺的制备

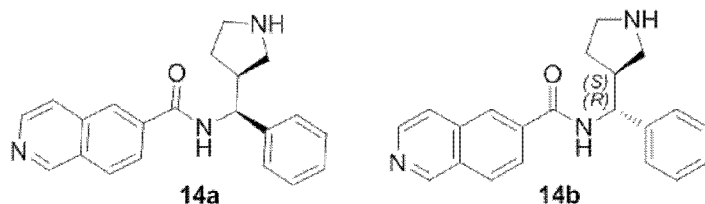


将 *N*-((*S*)-苯基-((*R*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺(250 mg, 1.51 mmol)溶于甲醇(15.0 mL), 加入乙酸 (9.1 mg, 0.15 mmol)和甲醛水溶液 (0.58 mL, 13M, 7.55 mmol), 搅拌 1 小时后加入醋酸硼氢化钠(0.96 g, 4.53 mmol), 继续反应 2 小时后用乙酸乙酯和水萃取, 再将水相用乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂。柱层析纯化得 *N*-((*S*)-((*R*)-1-甲基四氢吡咯-3-基)(苯基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺(21 mg, 58 μ mol, 7.7% 产率)。

MS (ESI) $m/z = 346 (M+1)^+$ 。

^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): $\delta = 11.17-10.90$ (m, 1H), 9.79 (s, 1H), 9.65-9.48 (m, 1H), 8.81-8.70 (m, 2H), 8.49 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.40-8.39 (m, 1H), 8.28 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.57-7.49 (m, 2H), 7.41-7.37 (m, 2H), 7.32-7.29 (m, 1H), 5.19-5.10 (m, 1H), 3.63-3.51 (m, 2H), 3.25-3.10 (m, 2H), 3.08-2.91 (m, 1H), 2.76-2.73 (m, 3H), 2.37-2.23 (m, 1H), 2.03-1.85 (m, 1H)。

实施例 14、*N*-((*S*)-苯基-((*S*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺和 *N*-((*R*)-苯基-((*S*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



按照实施例 11 中步骤 1 到步骤 6 的方法, 将步骤 1 中的(*R*)-1-叔丁氧基羰基四氢吡咯-3-羧酸替换为(*S*)-1-叔丁氧基羰基四氢吡咯-3-羧酸, 得到 *N*-((*S*)-苯基-((*S*)-四氢吡咯-3-基)

甲基)异喹啉-6-甲酰胺(28 mg, 总产率 5.1%)和 *N*-((*R*)-苯基-((*S*)-四氢吡咯-3-基)甲基)异喹啉-6-甲酰胺(22 mg, 总产率 4.9%)。

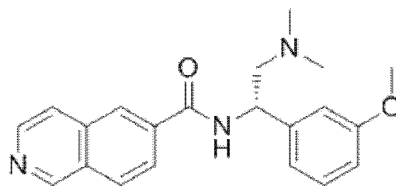
MS (ESI) $m/z = 332 (M+1)^+$ 。

化合物 14a: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 9.96 (s, 1H), 9.79-9.81(d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 1H), 9.51 (s, 2H), 8.88 (s, 1H), 8.75-8.76(d, $J = 6 \text{ Hz}$, 1H), 8.57-8.61(m, 2H), 8.37-8.40(m, 1H), 7.58-7.59(m, 2H), 7.36-7.40(m, 2H), 7.30-7.31 (m, 1H), 5.09-5.14(m, 1H), 3.29-3.31(m, 1H), 3.36-3.18 (m, 1H), 3.2-3.06(m, 1H), 2.83-2.89(m, 2H), 2.23-2.27(m, 1H), 1.82-1.88(m, 1H)。

化合物 14b: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 9.90$ (s, 1H), 9.84 (d, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1H), 9.64 (s, H), 9.50 (s, H), 8.88 (s, 1H), 8.74 (d, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 1H), 8.49-8.57(m, 2H), 8.35 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 1H), 7.55-7.57(m, 2H), 7.37-7.40(m, 2H), 7.30-7.31 (m, 1H), 5.06 (t, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 1H), 3.52(m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.06(m, 3H), 1.64(m, 1H)。

实施例 15、*N*-((*S*)-2-(二甲氨基)-1-(3-甲氧基苯基)乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备

步骤 1. *N*-((*1S*)-2-(二甲氨基)-1-(3-甲氧基苯基)乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



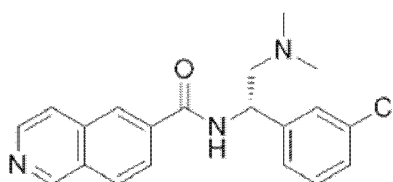
按照实施例 1 中步骤 1 至步骤 3、实施例 5 中步骤 1 至步骤 3 的方法, 用 3-甲氧基苯甲醛替代实施例 1 中步骤 1 中的苯甲醛, 得到 *N*-((*S*)-2-(二甲氨基)-1-(3-甲氧基苯基)乙基)异喹啉-6-甲酰胺。

MS (ESI) $m/z = 350 (M+1)^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, MeOD): $\delta = 9.75$ (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.66 (d, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 1H), 8.55-8.53 (m, 1H), 8.48 (d, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 1H), 8.45-8.42 (m, 1H), 7.39 (t, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H), 7.20-7.16 (m, 2H), 6.99-6.96 (m, 1H), 5.80-5.76 (m, 1H), 3.99-3.93 (m, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.67-3.62 (m, 1H), 3.11-3.08 (m, 6H)。

实施例 16、*N*-((*S*)-2-(二甲氨基)-1-(3-氯苯基)乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备

步骤 1. *N*-((*S*)-2-(二甲氨基)-1-(3-氯苯基)乙基)异喹啉-6-甲酰胺的制备



按照实施例 1 中步骤 1 至步骤 3、实施例 5 中步骤 1 至步骤 3 的方法, 用 3-氯苯甲醛替代实施例 1 中步骤 1 中的苯甲醛, 得到 *N*-((*S*)-2-(二甲氨基)-1-(3-甲氧基苯基)乙基)异喹

啉-6-甲酰胺。

MS (ESI) $m/z = 354 (M+1)^+$ 。

^1H NMR(400MHz, MeOH): $\delta = 9.91$ (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.72-8.64 (m, 3H), 8.57 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.69 (s, 1H), 7.48-7.41 (m, 2H), 5.82 (d, $J=11.6$ Hz, 1H), 4.06 (t, $J=11.6$ Hz, 1H), 3.64 (t, $J=13.6$ Hz, 1H), 3.12 (s, 3H), 3.08 (s, 3H)。

为了说明本发明的有益效果，本发明提供以下试验例：

试验例 1、ROCK2 抑制活性的检测

ROCK2 能够磷酸化 S6K(KRRRLASLR)多肽底物，将 ATP 转化成 ADP。在激酶反应后，加入 ADP-Glo™ 试剂，使激酶反应终止，并消耗完剩余的 ATP。加入激酶检测试剂，它在使 ADP 转化成 ATP 的同时，ATP 再被 Ultra-Glo™ 萤光素酶转化成光发光信号，发光信号与激酶活性正相关。

按以下步骤进行 ROCK2 抑制活性的检测：

1. 检测缓冲液: 40 mM Tris pH 7.5, 20 mM MgCl_2 , 0.1% BSA(w/v), 50 μM DTT;
2. 加 12 μL 2.5x0.1 $\mu\text{g/ml}$ ROCK2 工作液进入 96 孔 PCR 板;
3. 加 6 μL 6x 化合物工作液进入 96 孔 PCR 板混匀, 25 $^\circ\text{C}$ 预孵育 10min;
4. 加入 12 μL 2.5x 37.5 $\mu\text{g/ml}$ S6K 底物和 12.5 μM ATP 混合工作液, 30 $^\circ\text{C}$ 孵育 60min;
5. 取 25 μL 反应混合物到一个新 96 孔 PCR 板, 并加入 25 μL ADP-Glo™ 试剂混匀, 25 $^\circ\text{C}$ 孵育 40min 终止反应;
6. 取 40 μL 终止反应混合物到一个新 96 孔 PCR 板, 并加入 40 μL 激酶检测试剂混匀, 25 $^\circ\text{C}$ 孵育 40min;
7. 读取 luminescence (冷光) 信号值, 计算抑制率。

按照上述方法对实施例制备的化合物进行 ROCK2 抑制活性检测, 试验结果见表 1, 其中测定各化合物的 IC_{50} 按照说明分类, 表 1 中:

“+”表示 IC_{50} 测定值大于 500 nM;

“++”表示 IC_{50} 测定值小于 500 nM 大于 100 nM;

“+++”表示 IC_{50} 测定值小于 100 nM

表 1、化合物对 ROCK2 的抑制活性

实施例化合物	ROCK2	实施例化合物	ROCK2
1	+++	2	+++
3	++	4	++
5	+++	6	+++
7	+++	8	+++
9	+++	10	+++
11a	+++	11b	+++
12	+++	13	+++
14a	++	14b	+++
15	+++		

上述实验表明，本发明的化合物对 ROCK2 具有良好的酶学抑制活性。

试验例 2、细胞原位免疫印迹 (In-Cell Western) 检测肌球蛋白轻链磷酸化

使用大鼠平滑肌细胞系 A7r5。ROCK2 通过磷酸化肌球蛋白轻链 T18/S19 两个氨基酸位点导致细胞骨架的改变。将 A7r5 细胞接种入 96 孔透明底黑色板，培养条件为含 10% FBS 的 DMEM。过夜培养后，血清饥饿 4 小时，在无血清培养基中将细胞与化合物一起温育 1 小时。

使用phospho-MLC-T18/S19 特异性抗体和第二检测抗体，通过细胞原位免疫印迹检测肌球蛋白轻链磷酸化水平。未处理的细胞作为阳性对照，一抗未孵育样品作为阴性对照，细胞内总蛋白作为内参。使用GraphPad Prism 5.01 软件，使用具有变化斜率的非线性回归曲线拟合，确定EC₅₀值。

按照上述方法对实施例制备的化合物进行大鼠平滑肌细胞系 A7r5 肌球蛋白轻链磷酸化抑制活性检测，试验结果见表 1，其中测定各化合物的 IC₅₀ 按照说明分类，表 1 中：

“+”表示 IC₅₀ 测定值大于 1 μM；

“++”表示 IC₅₀ 测定值小于 1 μM 大于 250 nM；

“+++”表示 IC₅₀ 测定值小于 250 nM

表 2、化合物对大鼠平滑肌细胞系 A7r5 的抑制活性

实施例化合物	A7r5	实施例化合物	A7r5
1	++	2	+++
4	+	5	++
6	+++	7	++
8	+	9	++
10	++	11a	++
13	++	15	++
16	++		

上述试验结果表明，本发明的化合物对大鼠平滑肌细胞系 A7r5 具有良好的抑制活性，进而，本发明的化合物可以抑制由 ROCK2 通过磷酸化肌球蛋白轻链 T18/S19 两个氨基酸位点导致细胞骨架的改变，并具有治疗与此相关疾病的潜在活性。

试验例 3、动物实验（正常眼压模型）

将 24 只雄性新西兰白兔分为 4 组，每组 6 只。使用考虑了体重的计算机随机化算法，将动物随机分配到各组当中。在实验开始前 3 天至前 1 天，所有动物需要被训练适应眼压测量的操作过程，每天应进行 3 次，间隔约 3 小时。眼压测定使用 TonoVet 眼压计，固定测试动物，并将待测眼置于 TonoVet 眼压计相垂直的位置上。测量至少 3 次眼压，直至眼压读数稳定。取最后 3 次稳定的测量数据 (± 3 mmHg)，取均值，视作最终眼压值。称取检测化合物，用生理盐水溶解成使用浓度。实验开始时，待测化合物、对照品 K115、或阴性对照溶剂 (50 μ L) 将被施于每只动物的右眼，左眼则滴加生理盐水。在滴加药物之后的第 Pre, 1, 2, 4, 6, 8, 10 小时之后测量眼压。使用 student-t 检验来分析单个时间点的数据。眼压随时间的变化曲线将使用 ANOVA 检验来分析。P 值小于 0.05 将被视为具有统计学显著性，数据的展示方式是平均值正负标准误。

实验结果（见图 1、图 2、图 3）表明，本发明化合物 5 与化合物 11a 具有与对照品 K115 类似的降眼压活性，并且具有更长的作用时间。

试验例 4、动物实验（高眼压单眼造模模型）

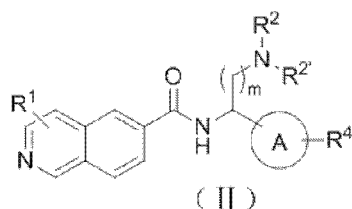
将 10 只雄性新西兰白兔分为 2 组，每组 5 只。使用考虑了体重的计算机随机化算法，将动物随机分配到各组当中。在实验开始前 3 天至前 1 天，所有动物需要被训练适应眼压测量的操作过程，每天应进行 3 次，间隔约 3 小时。眼压测定使用 TonoVet 眼压计，固定测试动物，并将待测眼置于 TonoVet 眼压计相垂直的位置上。测量至少 3 次眼压，直至眼压读数稳定。取最后 3 次稳定的测量数据 (± 3 mmHg)，取均值，视作最终眼压值。称

取检测化合物，用生理盐水溶解成使用浓度。诱导高眼压前，测量双眼的眼压值，作为基础眼压记录。随后，通过静脉注射（50%）戊巴比妥钠 50mg/kg 对白兔进行麻醉。使用尖 30-G 针建立临时前房穿刺，向白兔右眼前房注射 50 μ L 的粘性物质，以诱导高眼压，对侧眼给予相同体积的生理盐水。随后，使用棉签按压前房穿刺，以防止房水回流。每构造模动物的右眼给予受试化合物，一天三次分别在第 0, 3, 6 小时给药 1 次, 50 μ L/眼。对测眼将在相同时间点给予相同体积的生理盐水或特定溶媒。第 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8 小时之后测量眼压。使用 student-t 检验来分析单个时间点的数据。眼压随时间的变化曲线将使用 ANOVA 检验来分析。P 值小于 0.05 将被视为具有统计学显著性，数据的展示方式是平均值正负标准误。

实验结果（见图 4）表明，本发明的化合物 11a 对高眼压具有良好的降压活性。

本发明的上述试验表明，本发明实施例的化合物具有良好的 ROCK 抑制活性，可以有效用于与 ROCK 活性异常疾病的治疗。

综上所述，本发明公开的式 I 所示的新化合物，表现出了良好的 ROCK 抑制活性，为临床治疗与 ROCK 活性异常相关的疾病提供了一种新的药用可能。



其中，

R^1 选自氢、羟基、卤素、氨基、羧基、三氟甲基、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基；

m 分别为 0、1、2 或 3；

R^2 、 $R^{2'}$ 分别独立选自氢、 C_{1-6} 烷基；

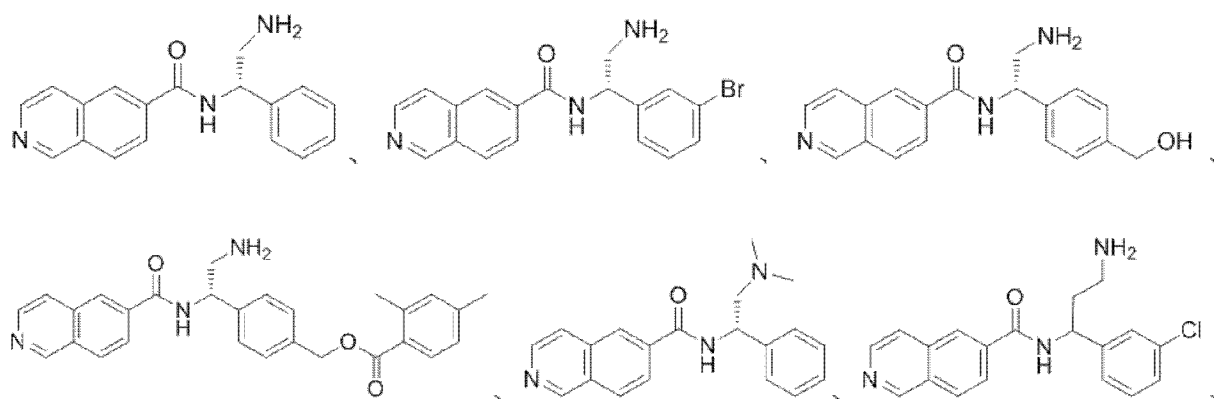
A 环选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环或 $\left\{ \text{B} - \text{C} \right\}$ ；

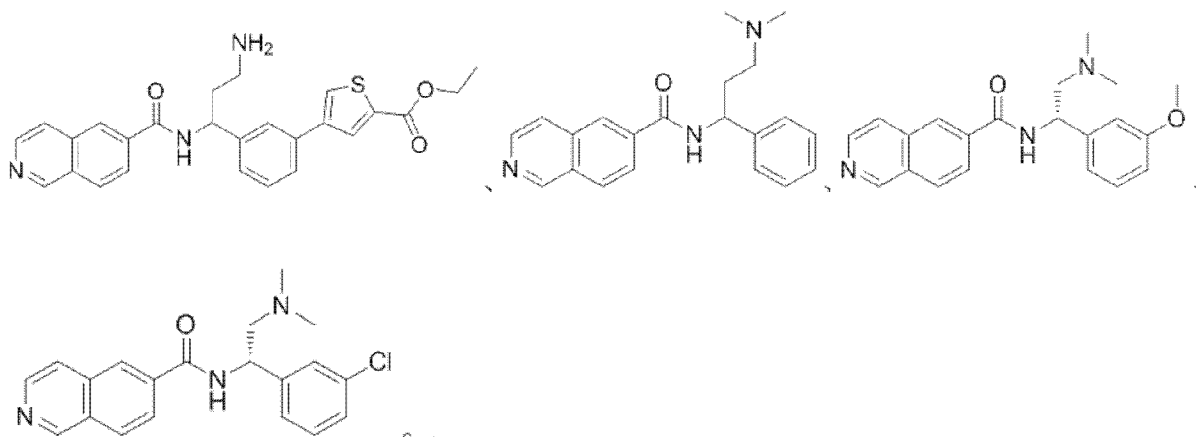
B 环、C 环分别各自选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；

R^4 分别独立地选自氢、卤素、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、 $-(CH_2)_mOR^a$ 、 $-(CH_2)_mOC(O)R^a$ 、 $-(CH_2)_mNR^aR^b$ 、 $-(CH_2)_mNR^aC(O)R^b$ 、 $-(CH_2)_mC(O)R^a$ 、 $-(CH_2)_mC(O)OR^a$ 、 $-(CH_2)_mC(O)NR^aR^b$ ；

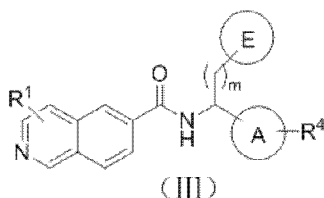
R^a 、 R^b 分别各自选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；其中，3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环可以进一步被 1~2 个独立选自于卤素、 C_{1-6} 烷基的取代基取代。

5、根据权利要求 4 所述的化合物或其立体异构体，其特征是：所述化合物如下列结构式所示：



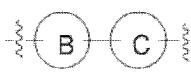


6、根据权利要求1所述的化合物或其立体异构体，其特征是：所述化合物的结构如式（III）所示：



R^1 选自氢、羟基、卤素、氨基、羧基、三氟甲基、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基；

m 分别为 0、1、2 或 3；

A 环选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环或 ；

B 环、C 环分别各自选自 5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；

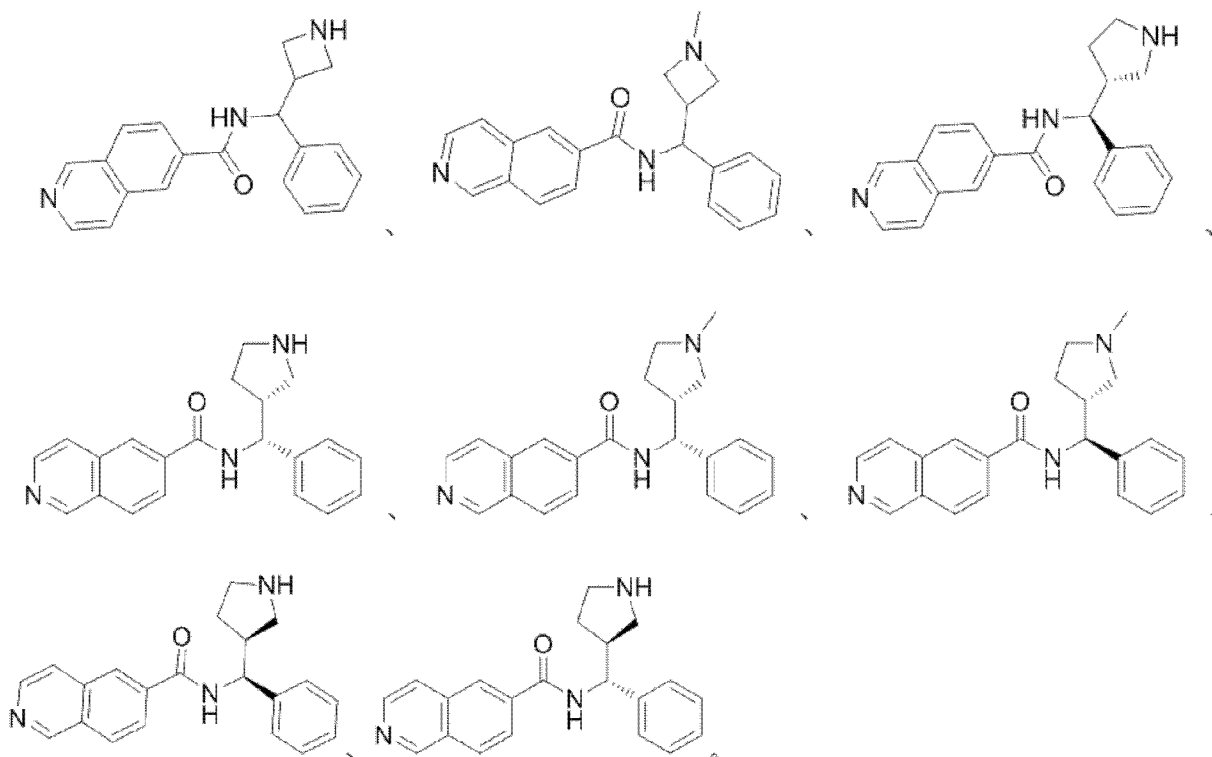
E 环选自含 N 的杂环烷基；所述含 N 的杂环烷基可以进一步被 1~2 个独立选自于卤素、 C_{1-6} 烷基的取代基取代；

R^4 分别独立地选自氢、卤素、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、 $-(CH_2)_mOR^a$ 、 $-(CH_2)_mOC(O)R^a$ 、 $-(CH_2)_mNR^aR^b$ 、 $-(CH_2)_mNR^aC(O)R^b$ 、 $-(CH_2)_mC(O)R^a$ 、 $-(CH_2)_mC(O)OR^a$ 、 $-(CH_2)_mC(O)NR^aR^b$ ；

R^a 、 R^b 分别各自选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环；其中，3~6 元环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳环、5~6 元芳杂环可以进一步被 1~2 个独立选自于卤素、 C_{1-6} 烷基的取代基取代。

7、根据权利要求6所述的化合物或其立体异构体，其特征是：E 环选自 4~5 元的含 N 的杂环烷基。

8、根据权利要求7所述的化合物或其立体异构体，其特征是：所述化合物如下列结构式所示：



9. 权利要求 1~8 任意一项所述化合物或其立体异构体、晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物在制备治疗与 ROCK 活性异常相关的疾病的药物中的用途。

10. 根据权利要求 9 所述用途，其特征在于：所述与 ROCK 活性异常相关的疾病是细胞骨架调整、平滑肌细胞收缩、神经再生相关的疾病。

11. 根据权利要求 10 所述用途，其特征在于：所述的疾病为高眼压症或者青光眼。

12. 一种药物，其特征在于：它是以权利要求 1~8 任一项所述的化合物或其立体异构体、晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物为活性成分，加上药学上可接受的辅料制备而成的制剂。

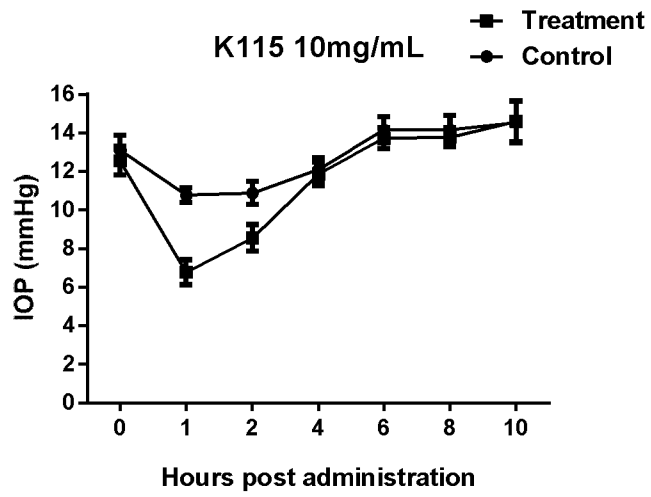


图 1

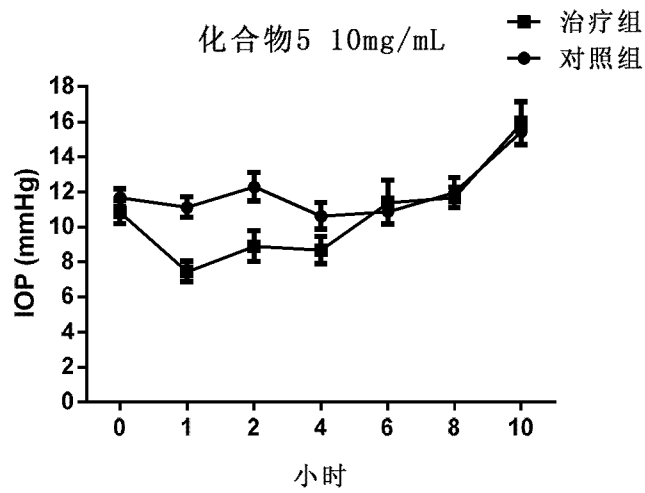


图 2

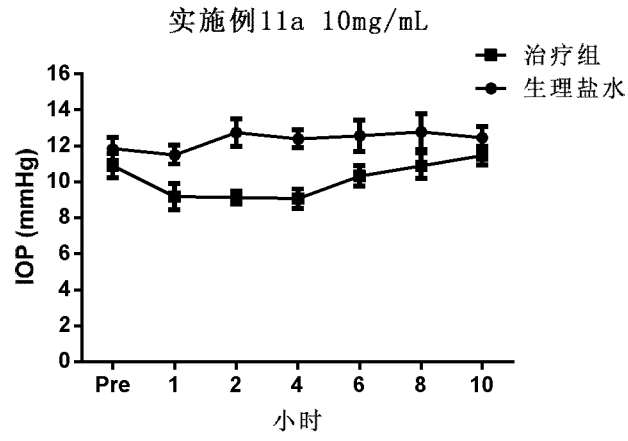


图 3

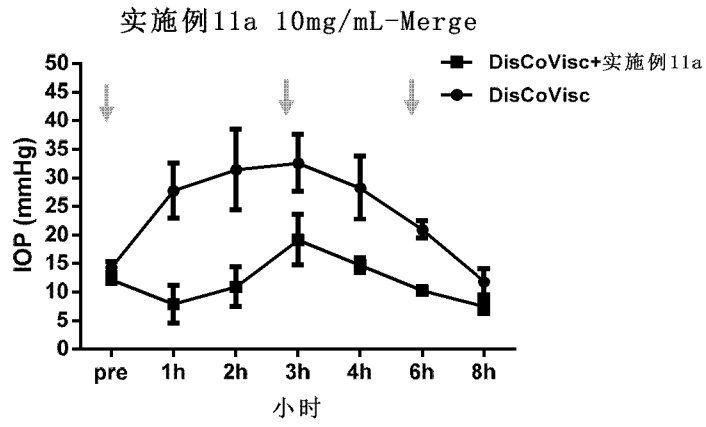


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/091161

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 217/02(2006.01)i; C07D 217/22(2006.01)i; A61K 31/472(2006.01)i; A61P 27/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D,A61K,A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNPAT, REGISTRY (STN), CAPLUS (STN); 成都先导药物, ROCK, 抑制, Rho激酶, 异喹啉, 酰胺, 高眼压症, 青光眼, isoquinoline, amide, ROCK inhibit+, Rho kinase, glaucoma

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 101253152 A (ASTELLAS PHARMA INC.) 27 August 2008 (2008-08-27) description, pages 2-3 and 102-118, compounds 1-162	1-12
A	CN 102131784 A (SANOFI-AVENTIS) 20 July 2011 (2011-07-20) description, pages 4-8, embodiments 1-132	1-12
A	CN 101321748 A (N.V. ORGANON) 10 December 2008 (2008-12-10) description, page 2, embodiments 1-33	1-12

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 August 2018

Date of mailing of the international search report

18 September 2018

Name and mailing address of the ISA/CN

State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2018/091161

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)				
CN	101253152	A	27 August 2008	US	2009105231	A1	23 April 2009				
				EP	1922306	A2	21 May 2008				
				WO	2007026920	A3	28 June 2007				
				WO	2007026920	A2	08 March 2007				
				JP	2009506979	A	19 February 2009				
				TW	200800899	A	01 January 2008				
				CA	2620818	A1	08 March 2007				
				JP	5212101	B2	19 June 2013				
				KR	20080040027	A	07 May 2008				
				US	8211919	B2	03 July 2012				
				<hr/>							
				CN	102131784	A	20 July 2011	IL	210113	A	29 October 2015
MY	157330	A	31 May 2016								
HK	1158644	A1	31 July 2015								
JP	5713893	B2	07 May 2015								
JP	2011525511	A	22 September 2011								
CA	2728137	A1	30 December 2009								
ZA	201008119	B	27 July 2011								
RU	2538588	C2	10 January 2015								
IL	210113	D0	28 February 2011								
RU	2011102456	A	27 July 2012								
EP	2303846	B1	29 April 2015								
DK	2303846	T3	03 August 2015								
CN	102131784	B	27 August 2014								
EC	SP10010705	A	31 January 2011								
CO	6321250	A2	20 September 2011								
SV	2010003772	A	15 March 2011								
PT	2303846	E	04 September 2015								
US	8541449	B2	24 September 2013								
DO	P2010000394	A	15 January 2011								
KR	20110021922	A	04 March 2011								
MX	2010013975	A	14 January 2011								
AU	2009262517	A1	30 December 2009								
SI	EP2303846	T1	31 August 2015								
EP	2303846	A1	06 April 2011								
TW	I462907	B	01 December 2014								
HR	P20150726	T1	25 September 2015								
US	2011190341	A1	04 August 2011								
MA	32400	B1	01 June 2011								
AU	2009262517	B2	09 January 2014								
NZ	590070	A	24 February 2012								
BR	PI0914696	A2	18 October 2016								
CA	2728137	C	18 October 2016								
PE	00592011	A1	15 February 2011								
KR	101638326	B1	12 July 2016								
HU	E026617	T2	28 June 2016								
ES	2541827	T3	27 July 2015								
WO	2009156100	A1	30 December 2009								
CR	11831	A	18 March 2011								
TW	201010978	A	16 March 2010								
SI	2303846	T1	31 August 2015								

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2018/091161

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				UY	31925	A	29 January 2010
				AR	072281	A1	18 August 2010
CN	101321748	A	10 December 2008	HR	P20090400	T1	31 August 2009
				CN	101321748	B	27 March 2013
				EP	1963304	B1	24 June 2009
				PE	08082007	A1	27 August 2007
				DK	1963304	T3	12 October 2009
				EP	1963304	B2	13 May 2015
				JP	2009518360	A	07 May 2009
				AR	058287	A1	30 January 2008
				WO	2007065916	A1	14 June 2007
				TW	200738682	A	16 October 2007
				SI	EP1963304	T1	31 December 2009
				JP	5313682	B2	09 October 2013
				AT	434613	T	15 July 2009
				CY	1110489	T1	29 April 2015
				EP	1963304	A1	03 September 2008
				ES	2327677	T3	02 November 2009
				CA	2629915	A1	14 June 2007
				SI	1963304	T1	31 December 2009
				CA	2629915	C	18 March 2014
				DE	602006007488	D1	06 August 2009
				PT	1963304	E	14 September 2009

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/091161

<p>A. 主题的分类 C07D 217/02(2006.01) i; C07D 217/22(2006.01) i; A61K 31/472(2006.01) i; A61P 27/00(2006.01) i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>														
<p>B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07D, A61K, A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) WPI, EPODOC, CNPAT, REGISTRY (STN), CAPLUS (STN); 成都先导药物, ROCK, 抑制, Rho激酶, 异喹啉, 酰胺, 高眼压症, 青光眼, isoquinoline, amide, ROCK inhibit+, Rho kinase, glaucoma</p>														
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 101253152 A (阿斯泰来制药株式会社) 2008年 8月 27日 (2008 - 08 - 27) 说明书第2-3页, 第102-118页化合物1-162</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 102131784 A (赛诺菲-安万特) 2011年 7月 20日 (2011 - 07 - 20) 说明书第4-8页, 实施例1-132</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 101321748 A (欧加农股份有限公司) 2008年 12月 10日 (2008 - 12 - 10) 说明书第2页, 实施例1-33</td> <td>1-12</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 101253152 A (阿斯泰来制药株式会社) 2008年 8月 27日 (2008 - 08 - 27) 说明书第2-3页, 第102-118页化合物1-162	1-12	A	CN 102131784 A (赛诺菲-安万特) 2011年 7月 20日 (2011 - 07 - 20) 说明书第4-8页, 实施例1-132	1-12	A	CN 101321748 A (欧加农股份有限公司) 2008年 12月 10日 (2008 - 12 - 10) 说明书第2页, 实施例1-33	1-12
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
A	CN 101253152 A (阿斯泰来制药株式会社) 2008年 8月 27日 (2008 - 08 - 27) 说明书第2-3页, 第102-118页化合物1-162	1-12												
A	CN 102131784 A (赛诺菲-安万特) 2011年 7月 20日 (2011 - 07 - 20) 说明书第4-8页, 实施例1-132	1-12												
A	CN 101321748 A (欧加农股份有限公司) 2008年 12月 10日 (2008 - 12 - 10) 说明书第2页, 实施例1-33	1-12												
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>														
<p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>														
国际检索实际完成的日期	2018年 8月 21日	国际检索报告邮寄日期 2018年 9月 18日												
ISA/CN的名称和邮寄地址	中华人民共和国国家知识产权局 (ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10) 62019451	受权官员 郭晓赞 电话号码 86-010-53962336												

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/091161

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)				
CN	101253152	A	2008年 8月 27日	US	2009105231	A1	2009年 4月 23日				
				EP	1922306	A2	2008年 5月 21日				
				WO	2007026920	A3	2007年 6月 28日				
				WO	2007026920	A2	2007年 3月 8日				
				JP	2009506979	A	2009年 2月 19日				
				TW	200800899	A	2008年 1月 1日				
				CA	2620818	A1	2007年 3月 8日				
				JP	5212101	B2	2013年 6月 19日				
				KR	20080040027	A	2008年 5月 7日				
				US	8211919	B2	2012年 7月 3日				
				CN	102131784	A	2011年 7月 20日	IL	210113	A	2015年 10月 29日
								MY	157330	A	2016年 5月 31日
								HK	1158644	A1	2015年 7月 31日
JP	5713893	B2	2015年 5月 7日								
JP	2011525511	A	2011年 9月 22日								
CA	2728137	A1	2009年 12月 30日								
ZA	201008119	B	2011年 7月 27日								
RU	2538588	C2	2015年 1月 10日								
IL	210113	D0	2011年 2月 28日								
RU	2011102456	A	2012年 7月 27日								
EP	2303846	B1	2015年 4月 29日								
DK	2303846	T3	2015年 8月 3日								
CN	102131784	B	2014年 8月 27日								
EC	SP10010705	A	2011年 1月 31日								
CO	6321250	A2	2011年 9月 20日								
SV	2010003772	A	2011年 3月 15日								
PT	2303846	E	2015年 9月 4日								
US	8541449	B2	2013年 9月 24日								
DO	P2010000394	A	2011年 1月 15日								
KR	20110021922	A	2011年 3月 4日								
MX	2010013975	A	2011年 1月 14日								
AU	2009262517	A1	2009年 12月 30日								
SI	EP2303846	T1	2015年 8月 31日								
EP	2303846	A1	2011年 4月 6日								
TW	I462907	B	2014年 12月 1日								
HR	P20150726	T1	2015年 9月 25日								
US	2011190341	A1	2011年 8月 4日								
MA	32400	B1	2011年 6月 1日								
AU	2009262517	B2	2014年 1月 9日								
NZ	590070	A	2012年 2月 24日								
BR	PI0914696	A2	2016年 10月 18日								
CA	2728137	C	2016年 10月 18日								
PE	00592011	A1	2011年 2月 15日								
KR	101638326	B1	2016年 7月 12日								
HU	E026617	T2	2016年 6月 28日								
ES	2541827	T3	2015年 7月 27日								
WO	2009156100	A1	2009年 12月 30日								
CR	11831	A	2011年 3月 18日								
TW	201010978	A	2010年 3月 16日								
SI	2303846	T1	2015年 8月 31日								

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/091161

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
				UY	31925	A	2010年 1月 29日
				AR	072281	A1	2010年 8月 18日
CN	101321748	A	2008年 12月 10日	HR	P20090400	T1	2009年 8月 31日
				CN	101321748	B	2013年 3月 27日
				EP	1963304	B1	2009年 6月 24日
				PE	08082007	A1	2007年 8月 27日
				DK	1963304	T3	2009年 10月 12日
				EP	1963304	B2	2015年 5月 13日
				JP	2009518360	A	2009年 5月 7日
				AR	058287	A1	2008年 1月 30日
				WO	2007065916	A1	2007年 6月 14日
				TW	200738682	A	2007年 10月 16日
				SI	EP1963304	T1	2009年 12月 31日
				JP	5313682	B2	2013年 10月 9日
				AT	434613	T	2009年 7月 15日
				CY	1110489	T1	2015年 4月 29日
				EP	1963304	A1	2008年 9月 3日
				ES	2327677	T3	2009年 11月 2日
				CA	2629915	A1	2007年 6月 14日
				SI	1963304	T1	2009年 12月 31日
				CA	2629915	C	2014年 3月 18日
				DE	602006007488	D1	2009年 8月 6日
				PT	1963304	E	2009年 9月 14日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)