

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

C07K 5/065

A61K 38/05

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94118911.2

[45]授权公告日 2000年11月1日

[11]授权公告号 CN 1058019C

[22]申请日 1994.11.15 [24]颁证日 2000.7.28

[21]申请号 94118911.2

[30]优先权

[32]1993.11.16 [33]US [31]153,395

[32]1994.6.22 [33]US [31]263,859

[73]专利权人 诺瓦蒂斯有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72]发明人 C·A·芬克

[56]参考文献

EP358398 1990.3.14 CO7C237/20

EP524553 1993.1.27 CO7K5/06

审查员 周 莉

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 罗 宏 姜建成

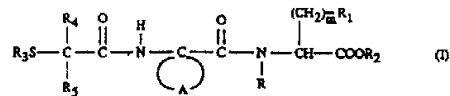
权利要求书 13 页 说明书 45 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 环状氨基酸衍生物

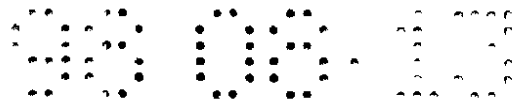
[57]摘要

本发明公开了式 I 化合物以及由其中 R₃为氢的所述化合物衍生的二硫化物 衍生物及其可药用盐,含所述化合物的药物组合物,制备所述化合物的方法,中间体,以及治疗哺乳动物中对 ACE 和 NEP 抑制应答的疾病的方法,包括 给需要这种治疗的哺乳动物施以所述化合物;

其中各基团代号详见说明书。

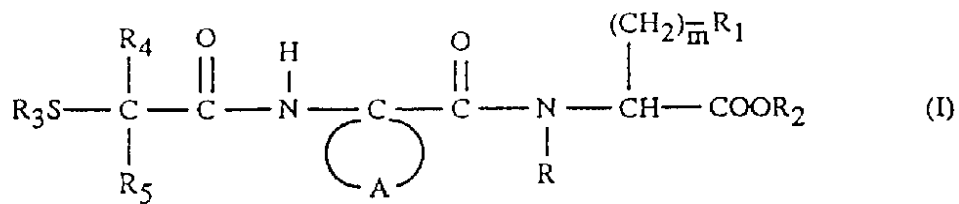


ISSN 1008-4274



权利要求书

1. 式(I)化合物, 由其中R₃为氢的所述化合物衍生的二硫化物衍生物或其可药用盐,



其中

R 代表氢、低级烷基、碳环或杂环芳基—低级烷基或环烷基—低级烷基;

R₁ 代表环烷基、碳环芳基或杂环芳基, 或者联芳基;

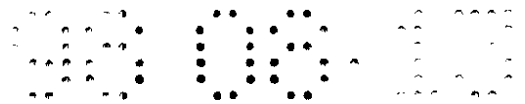
R₂ 代表氢或酰基;

R₄ 代表氢、低级烷基、碳环或杂环芳基、碳环或杂环芳基—低级烷基、环烷基、环烷基—低级烷基、联芳基或联芳基—低级烷基;

R₅ 代表氢或低级烷基; 或

R₄ 和 R₅ 与和它们连接的那个碳原子一起代表环亚烷基, 或苯稠合的环亚烷基;

A 和与它相连的碳原子一起代表 3 ~ 10 个环原子的环亚烷基或 5 ~ 10 个环原子的环亚烯基, 它们可被低级烷基或芳基—低级烷基取代, 或者可与饱和或不饱和 5 ~ 7 元碳环稠合; 或



A 和与它相连的碳原子一起代表 5 或 6 个环原子的氧杂环亚烷基、硫杂环亚烷基或氮杂环亚烷基，它们可任意被低级烷基或芳基—低级烷基取代；或

A 和与它相连的碳原子一起代表 2, 2-亚降冰片烷基 (2, 2-norbornylidene)；

m 为 0、1、2 或 3；且

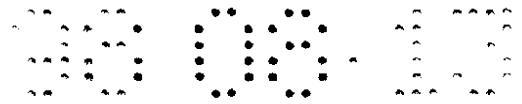
COOR₂ 代表羧基或以可药用酯形式衍生的羧基，

其中，在每种情况下，

碳环芳基，不论是单环或双环，代表苯基或被 1 至 3 个取代基所取代的苯基，所述取代基为低级烷基、羟基、低级烷氧基、酰氧基、卤素、氰基、三氟甲基、氨基、低级链烷酰氨基、低级烷基-(硫基、亚磺酰基或磺酰基)、低级烷氧羰基、一或二低级烷基氨基甲酰基、或一或二低级烷基氨基；1-或 2-萘基或被低级烷基、低级烷氧基或卤素取代的 1-或 2-萘基；

杂环芳基，不论是单环或双环，代表 2-或 3-咪唑基或被低级烷基取代的 2-或 3-咪唑基；2-、3-或 4-吡啶基或被低级烷基、卤素或氰基取代的 2-、3-或 4-吡啶基；2-或 3-噻吩基或被低级烷基取代的 2-或 3-噻吩基；4-噻唑基、或被低级烷基取代的 4-噻唑基；或吲哚基或苯并噻唑基，它们任选被羟基、低级烷基、低级烷氧基或卤素取代；

酰基代表低级链烷酰基或被低级烷氧羰基、低级链烷酰氧基、低级链烷酰硫基、低级烷氧基、或被低级烷硫基取代的低级链烷酰基、被羟基、二低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、吗啉代、哌啶子基、吡咯烷



羰基、 α -（低级链烷酰氧基-、低级烷氧基羰基-或二低级烷氧基羰基-）低级烷氧基羰基；

n 为 2、4 或 5。

6. 按权利要求 2 的 S，S-构型的式 Ia 化合物或其可药用盐，其中 R_1 代表苯基，苯基被下述基团取代：羟基、低级烷氧基、卤素、低级烷氧基羰基氧、噻吩基羰基氧、吡啶基羰基氧、低级链烷酰氧基、或取代的低级链烷酰氧基（取代基为低级烷氧基、低级烷氧基羰基或低级链烷酰硫基），或者 R_1 代表噻吩基、吡啶基、吡啶基（未取代或被羟基取代）、或联苯基；

$COOR_2$ 代表羧基、低级烷氧羰基、低级烯氧羰基、苯基-低级烷氧羰基、吡啶基-低级烷氧羰基或 C_5 - C_7 -环烷氧基羰基；

R_3 代表氢、低级链烷酰基、取代的低级链烷酰基（取代基有低级烷氧基、吗啉代、哌啶子基或二-低级烷基氨基），或者 R_3 代表 C_5 - C_7 环烷基羰基、苯甲酰基或吡啶基羰基；

R_4 代表氢、低级烷基或苯基-低级烷基；

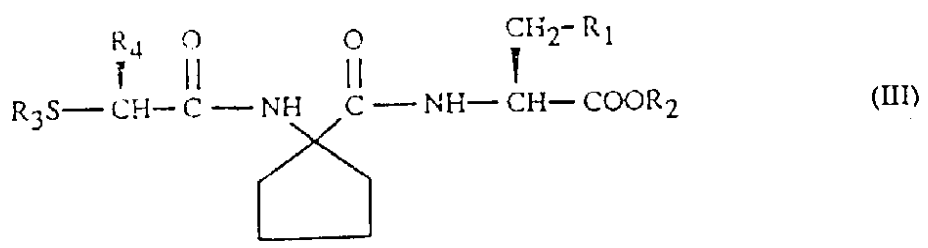
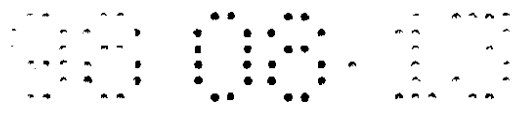
R_5 代表氢；或

R_4 和 R_5 与和它们连接的那个碳原子一起代表 C_5 - C_7 环亚烷基；

A 代表 C_2 - C_6 直链亚烷基、被 1,2-亚苯基间隔的 C_2 - C_4 直链亚烷基或被 -NH- 间隔的 C_3 -或 C_4 -直链亚烷基；

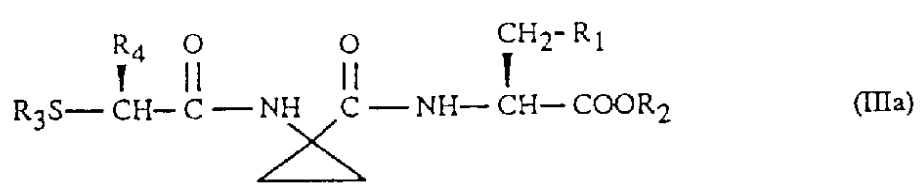
m 代表 1 或 2。

7. 按权利要求 4 的 S，S-构型的式 III 化合物，或其可药用盐。



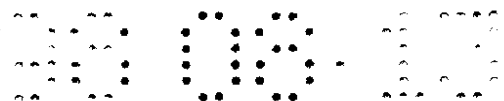
其中

- R₁ 代表环己基、苯基、取代的苯基（取代基有羟基、酰氧基、氨基、酰氨基、低级烷氧基、三氟甲基或卤素）、联苯基、噻唑基、吡啶基、噻吩基，苯并噻唑基或吡啶基；
 - R₃ 代表氢、低级链烷酰基、甲氧基—低级链烷酰基、苯甲酰基或吡啶基羰基；
 - R₄ 代表氢、低级烷基、苄基或取代的苄基（取代基有羟基、卤素、低级烷基、酰氧基、低级烷氧基或三氟甲基）；
 - COOR₂ 代表羧基、低级烷氧羰基、苄氧羰基、吡啶基甲氧基羰基、α-（低级链烷酰氧基-α-低级烷氧羰基-或二-低级烷基氨基羰基-）低级烷氧羰基。
8. 按权利要求 4 的 S, S-构型的式 IIIa 的化合物或其可药用盐，



其中

- R₁ 代表环己基、苯基、取代的苯基（取代基有羟基、酰氧基、氨基、酰氨基、低级烷氧基、三氟甲基或卤素）、联苯基、噻唑



COOR₂ 代表羧基、低级烷氧羰基、苄氧羰基、吡啶基甲氧基羰基、
α - (低级链烷酰氧基 - 、低级烷氧羰基 - 或二 - 低级烷基氨基羰基 -) 低级烷氧羰基。

1 0 . 按权利要求 7 的化合物或其可药用盐, 其中

R₁ 代表苯基或取代的苯基 (取代基有羟基、衍生自羧酸的酰氧基、
卤素或低级烷氧基) ;

R₃ 代表氢、甲氧基 - 低级链烷酰基或低级链烷酰基 ;

R₄ 代表低级烷基、苄基或取代的苄基 (取代基有羟基、卤素、低
级烷基、低级链烷酰氧基、低级烷氧基或三氟甲基) ;

COOR₂ 代表羧基、低级烷氧羰基、苄氧基羰基、吡啶基甲氧基羰基、
α - (低级链烷酰氧基、低级烷氧羰基 - 或二 - 低级烷基氨基羰基 -) 低级烷氧羰基。

1 1 . 按权利要求 8 的化合物或其可药用盐, 其中

R₁ 代表苯基或取代的苯基 (取代基有羟基、衍生自羧酸的酰氧基、
卤素或低级烷氧基) ;

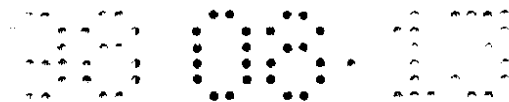
R₃ 代表氢、甲氧基 - 低级链烷酰基或低级链烷酰基 ;

R₄ 代表低级烷基、苄基或取代的苄基 (取代基有羟基、卤素、低
级烷基、低级链烷酰氧基、低级烷氧基或三氟甲基) ;

COOR₂ 代表羧基、低级烷氧羰基、苄氧基羰基、吡啶基甲氧基羰基、
α - (低级链烷酰氧基、低级烷氧羰基 - 或二 - 低级烷基氨基羰基 -) 低级烷氧羰基。

1 2 . 按权利要求 9 的化合物或其可药用盐, 其中

R₁ 代表苯基或取代的苯基 (取代基有羟基、衍生自羧酸的酰氧基、
卤素或低级烷氧基) ;



R_3 代表氢、甲氧基—低级链烷酰基或低级链烷酰基；
 R_4 代表低级烷基、苄基或取代的苄基（取代基有羟基、卤素、低级烷基、低级链烷酰氧基、低级烷氧基或三氟甲基）；
 $COOR_2$ 代表羧基、低级烷氧羰基、苄氧基羰基、吡啶基甲氧基羰基、 α -（低级链烷酰氧基、低级烷氧羰基—或二—低级烷基氨基羰基—）低级烷氧羰基。

1 3 . 按权利要求 7 的化合物或其可药用盐，其中

R_1 为 4-羟基苯基、4-酰氧基苯基、4-氟苯基或 4-甲氧基苯基；

R_3 为氢、甲氧基乙酰基或低级链烷酰基；

R_4 为异丙基；且

$COOR_2$ 为羧基或低级烷氧羰基。

1 4 . 按权利要求 8 的化合物或其可药用盐，其中

R_1 为 4-羟基苯基、4-酰氧基苯基、4-氟苯基或 4-甲氧基苯基；

R_3 为氢、甲氧基乙酰基或低级链烷酰基；

R_4 为异丙基；且

$COOR_2$ 为羧基或低级烷氧羰基。

1 5 . 按权利要求 9 的化合物或其可药用盐，其中

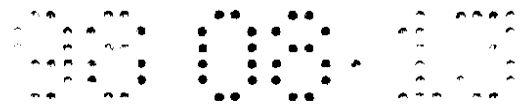
R_1 为 4-羟基苯基、4-酰氧基苯基或 4-甲氧基苯基；

R_3 为氢、甲氧基乙酰基或低级链烷酰基；

R_4 为异丙基；且

$COOR_2$ 为羧基或低级烷氧羰基。

1 6 . 按权利要求 1 3 的化合物，其中



R_1 代表 4-羟基苯基、4-甲氧基苯基、4-(噻吩基羰基氧基)苯基、4-(吡啶基羰基氧基)苯基、4-(低级烷氧基乙酰氧基)苯基、4-低级链烷酰氧基苯基或 4-(低级烷氧基羰基氧基)苯基；

R_3 代表低级链烷酰基；

R_4 代表异丙基；且

COOR_2 代表低级烷氧羰基。

17. 按权利要求 7 的式 III 化合物，其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为异丙基。

18. 按权利要求 7 的式 III 化合物或其可药用盐，其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢及 R_4 为异丙基。

19. 按权利要求 7 的式 III 化合物，其中 R_1 为 4-(2-甲氧基乙酰氧基)苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基且 R_4 为异丙基。

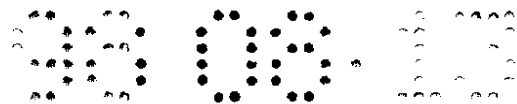
20. 按权利要求 8 的式 IIIa 化合物或其可药用盐，其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 和 R_3 为氢且 R_4 为异丙基。

21. 按权利要求 7 的式 III 化合物，其中 R_1 为 4-甲氧基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基且 R_4 为异丙基。

22. 按权利要求 7 的式 III 化合物或其可药用盐，其中 R_1 为 4-甲氧基苯基、 R_2 和 R_3 为氢，且 R_4 为异丙基。

23. 用于治疗心血管疾病的药物组合物，包括与一种或多种可药用载体结合的有效量的权利要求 1~22 中任一项的化合物。

24. 用于治疗心血管疾病的药物组合物，包括有效量的与一种或多种可药用载体结合的权利要求 21 的化合物。



式 IX 中， R_3' 代表不稳定的 S - 保护基；
 并且将得到的其中 R_3' 为任意取代的苄基的产物转化为其中 R_3 为氢的式 I 化合物；且在上述方法中，如果暂时保护任何有干扰活性的基团的话，则除去所述保护基，然后分离所得到的本发明的化合物；并且如果需要，将任何所得到的本发明化合物转化为本发明的另一化合物；和/或，如果需要，将游离羧酸官能化合物转化为可药用酯衍生物，或将所得酯转化为游离酸或转化为另一种酯衍生物；和/或，如果需要，将所得的游离化合物转化为盐或将所得盐转化为游离化合物或另一种盐，和/或，如果需要将所得到的异构体混合物或外消旋混合物分离为单一异构体或外消旋体，和/或，如果需要，将得到的外消旋体拆分为旋光对映体。

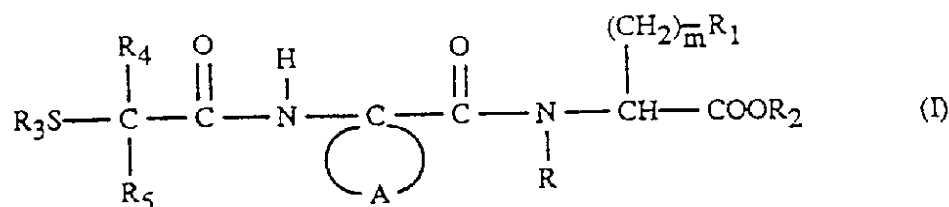
说明书

环状氨基酸衍生物

本发明涉及下述新的环状氨基酸衍生物，它们适于用作血管紧张肽转化酶（ACE）抑制剂和中性肽链内切酶（NEP，EC 3.4.24.11）抑制剂。本发明的化合物特别适用于治疗应答ACE和NEP抑制作用的疾病，特别是心血管疾病，如高血压、肾功能不全（包括水肿和盐降低）、肺水肿、充血性心力衰竭和动脉粥样硬化。本发明的化合物还适用于降低哺乳动物中升高的胆固醇血浆水平。

由于本发明化合物对中性肽链内切酶有抑制作用，因而也可用于治疗痛疼、抑郁、某些精神病和充血性疾病。其它可能的适应症包括治疗心绞痛、经前综合征、美尼尔氏症、醛甾酮过多症、尿钙过多，腹水、青光眼、哮喘和胃肠疾病，例如腹泻、应激性肠综合征和胃酸过多。

本发明涉及下述式（I）的环状氨基酸衍生物，由其中R₃为氢的所述化合物衍生的二硫化物衍生物及其可药用盐，



其中

R 代表氢、低级烷基、碳环或杂环芳基—低级烷基或环烷基—

低级烷基；

R₁ 代表氢、低级烷基、环烷基、碳环芳基或杂环芳基，或者联芳基；

R₂ 代表氢或酰基；

R₃ 代表氢、低级烷基、碳环或杂环芳基、碳环或杂环芳基—低级烷基、环烷基、环烷基—低级烷基、联芳基或联芳基—低级烷基；

R₄ 代表氢或低级烷基；或

R₄ 和 R₅ 与和它们连接的那个碳原子一起代表环亚烷基，或苯稠合的环亚烷基；

A 和与它相连的碳原子一起代表 3 ~ 10 个环原子的环亚烷基或 5 ~ 10 个环原子的环亚烯基，它们可被低级烷基或芳基—低级烷基取代，或者可与饱和或不饱和 5 ~ 7 元碳环稠合；或

A 和与它相连的碳原子一起代表 5 或 6 个环原子的氧杂环亚烷基、硫杂环亚烷基或氮杂环亚烷基，它们可任意被低级烷基或芳基—低级烷基取代；或

A 和与它相连的碳原子一起代表 2, 2 - 亚降冰片烷基 (2, 2 - norbornylidene) ；

m 为 0、1、2 或 3；且

COOR₂ 代表羧基或以可药用酯形式衍生的羧基。

本发明还涉及含有所述化合物的药物组合物、所述化合物的制备方法、中间体以及通过给需要治疗的哺乳动物服用所述化合物以治疗哺乳动物中对 ACE 和 NEP 抑制作用应答的疾病的方法。

可药用酯类优选前体药物酯衍生物，这样可通过溶剂分解作用或在生理条件下转化为式 I 的游离羧酸。

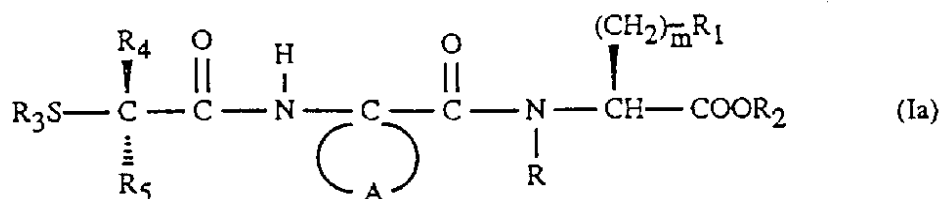
具有游离羧基、巯基或羟基的本发明化合物的任何前体药物衍生物都包括在本发明中，所述前体药物衍生物可通过溶剂分解作用或在生理条件下转化为游离羧基、巯基和/或羟基化合物。前体药物衍生物是例如游离羧酸的酯类和硫醇类，醇类或酚类的 S-酰基和 O-酰基衍生物，其中酰基的意义如本说明书中所述。

可药用前体药物酯类优选为，例如，低级烷基酯、环烷基酯、低级链烯基酯、芳基-低级烷基酯、 α -(低级链烷酰氧基)-低级烷基酯（例如新戊酰氧基-甲基酯）和 α -(低级烷氧基羰基-或二-低级烷基氨基羰基)-低级烷基酯。

特别优选的游离羧酸的可药用前体药物酯类为，例如，低级烷基酯、 $C_3 \sim C_7$ -环烷基酯、低级链烯基酯、苯基-低级烷基酯（如苄基酯）或吡啶基-低级烷基酯（如吡啶基甲基酯）。

可药用盐类是衍生自适用于本发明的任何酸性化合物（如其中 $COOR_2$ 代表羧基的那些化合物）的可药用碱的盐类。这类盐是例如碱金属盐（例如钠、钾盐）、碱土金属盐（如钙、镁盐）、铵盐（例如三甲铵盐）。

根据取代基的性质，式 I 化合物含有两个或更多个不对称碳原子。本发明包括所得到的非对映体和旋光对映体。优选的构型如式 Ia 所示。



R₃ 代表氢或羧基衍生的酰基；

R₄ 代表氢、低级烷基、碳环或杂环芳基、碳环或杂环芳基—低级烷基、环烷基、环烷基—低级烷基、联芳基或联芳基—低级烷基；

COOR₂ 代表羧基或以可药用酯形式衍生的羧基；

n 代表 2—6，优选 2、4 或 5。

更优选的化合物为下述式 II 化合物和其可药用盐，其中

R₁ 代表低级烷基、环烷基、碳环单环芳基、杂环单环芳基、碳环双环芳基、杂环双环芳基或联芳基；

R₂ 代表氢、芳基—低级链烷酰基、低级链烷酰基、低级烷氧基—低级链烷酰基、或杂环或碳环芳酰基；

R₄ 代表氢、低级烷基或碳环芳基—低级烷基；

COOR₂ 代表羧基、低级烷氧基羰基、碳环或杂环芳基—低级烷氧基羰基、 α —(低级链烷酰氧基—、低级烷氧基羰基—或二低级烷基氨基羰基—)低级烷氧基羰基；

n 为 2、4 或 5。

特别优选的化合物为下述式 I 化合物和具有式 I a S,S-构型的下述化合物及它们的可药用盐，其中

R₁ 代表苯基，苯基被下述基团取代：羟基、低级烷氧基、卤素、低级烷氧基羰基氧、噻吩基羰基氧、吡啶基羰基氧、低级链烷酰氧基、或取代的低级链烷酰氧基（取代基为低级烷氧基、低级烷氧基羰基或低级链烷酰硫基），或者 R₁ 代表噻吩基、吡啶基、吲哚基（未取代或被羟基取代）、或联苯基；

COOR₂ 代表羧基、低级烷氧羰基、低级烯氧羰基、苯基—低级烷氧

- 羧基、吡啶基-低级烷氧羰基或 $C_5 - C_7$ - 环烷氧基羰基；
- R_3 代表氢、低级链烷酰基、取代的低级链烷酰基（取代基有低级烷氧基、吗啉代、哌啶子基或二-低级烷基氨基），或者 R_3 代表 $C_5 - C_7$ 环烷基羰基、苯甲酰基或吡啶基羰基；
- R_4 代表氢、低级烷基或苯基-低级烷基；
- R_5 代表氢；或
- R_4 和 R_5 与和它们连接的那个碳原子一起代表 $C_5 - C_7$ 环亚烷基；
- A 代表 $C_2 - C_6$ 直链亚烷基、被 1, 2 - 亚苯基间隔的 $C_2 - C_4$ 直链亚烷基或被 -NH- 间隔的 $C_3 -$ 或 $C_4 -$ 直链亚烷基；
- m 代表 1 或 2。

特别优选的化合物为具有式 II 的 S, S - 构型的下述化合物及其可药用盐，其中

- R_1 代表苯基，苯基被下述基团取代：羟基、低级烷氧基、卤素、低级烷氧基羰基氧、噻吩基羰基氧、吡啶基羰基氧、低级链烷酰氧基、或取代的低级链烷酰氧基（取代基为低级烷氧基、低级烷氧基羰基或低级链烷酰硫基），或者 R_1 代表噻吩基、吡啶基、吲哚基（未取代或被羟基取代）、或联苯基；
- $COOR_2$ 代表羧基、低级烷氧羰基、低级烯氧羰基、苯基-低级烷氧羰基、吡啶基-低级烷氧羰基或 $C_5 - C_7$ - 环烷氧基羰基；
- R_3 代表氢、低级链烷酰基、取代的低级链烷酰基（取代基有低级烷氧基、吗啉代、哌啶子基或二-低级烷基氨基），或者 R_3 代表 $C_5 - C_7$ 环烷基羰基、苯甲酰基或吡啶基羰基；

R₁ 代表苯基或取代的苯基（取代基有羟基、衍生自羧酸的酰氧基、卤素或低级烷氧基）；

R₃ 代表氢、甲氧基-低级链烷酰基或低级链烷酰基；

R₄ 代表低级烷基、苄基或取代的苄基（取代基有羟基、卤素、低级烷基、低级链烷酰氧基、低级烷氧基或三氟甲基）；

COOR₂ 代表羧基、低级烷氧羰基、苄氧羰基、吡啶基甲氧羰基、 α -（低级链烷酰氧基、低级烷氧羰基一或二-低级烷基氨基羰基-）低级烷氧羰基。

一个特别优选的实施方式涉及上述任何一式下述化合物，其中 R₁ 为 4-羟基苯基、4-酰氧基苯基、4-氟苯基或 4-甲氧基苯基；

R₃ 为氢、甲氧基乙酰基或低级链烷酰基；

R₄ 为异丙基；且

COOR₂ 为羧基或低级烷氧羰基。

具有特殊意义的所述化合物为下述化合物，其中

R₁ 代表 4-羟基苯基、4-甲氧基苯基、4-（噻吩基羰基氧基）苯基、4-（吡啶基羰基氧基）苯基、4-（低级烷氧基乙酰氧基）苯基、4-低级链烷酰氧基苯基或 4-（低级烷氧基羰基氧基）苯基；

R₃ 代表低级链烷酰基或甲氧基乙酰基；

R₄ 代表异丙基；且

COOR₂ 代表低级烷氧羰基。

特别优选的化合物为式 II、III、IIIa 和 IIIb 的下述化合物，它们的酯、S-酰基和 O-酰基前体药物衍生物和它们的可药用盐，其中

R₁ 代表 4-羧基苯基或 4-甲氧基苯基；

R₃ 代表氢；

R₄ 代表异丙基；

COOR₂ 代表羧基。

除非另外说明，在本说明书中，各种定义本身或结合在一起时，都具有在本发明范围内的下述意义。

芳基代表单环的或双环的、碳环或杂环芳基。

单环碳环芳基代表任意取代的苯基，优选为苯基或被 1 至 3 个取代基取代的苯基，取代基有利地为低级烷基、羟基、低级烷氧基、酰氧基、卤素、氰基、三氟甲基、氨基、低级链烷酰氨基、低级烷基—（硫基、亚磺酰基或磺酰基）、低级烷氧羰基、单一或双—低级烷基氨基甲酰基，或者单一或双—低级烷基氨基。

双环碳环芳基代表 1-或 2-萘基，或者优选被低级烷基、低级烷氧基或卤素取代的 1-或 2-萘基。

单环杂环芳基优选代表任意取代的噻唑基、噻吩基、呋喃基或吡啶基。

任意取代的呋喃基代表 2-或 3-呋喃基，或者优选被低级烷基取代的 2-或 3-呋喃基。

任意取代的吡啶基代表 2-、3-或 4-吡啶基，或者优选被低级烷基、卤素或氰基取代的 2-、3-或 4-吡啶基。

任意取代的噻吩基代表 2-或 3-噻吩基，或者优选被低级烷基取代的 2-或 3-噻吩基。

任意取代的噻唑基代表，例如，4-噻唑基，或者被低级烷基取代的 4-噻唑基。

双环杂环芳基优选地代表 任意被下述基团取代的吡啶基或苯并噻唑基：羟基、低级烷基、低级烷氧基或卤素，有利地为 3-吡啶基或 2-苯并噻唑基。

在芳基-低级烷基中的芳基优选为苯基或被 1 或 2 个下述基团取代的苯基：低级烷基、低级烷氧基、羟基、低级链烷酰氧基、卤素、三氟甲基、氰基、低级链烷酰氨基或低级烷氧羰基，芳基也是任意取代的萘基。

芳基-低级烷基有利地为苄基或 1-或 2-苯乙基，它们任意地在苯基上被 1 或 2 个下述基团取代：低级烷基、低级烷氧基、羟基、低级链烷酰氧基、卤素或三氟甲基。

本说明书中与有机基团或化合物有关的术语“低级”分别定义带最多 7 个碳原子的有机基团或化合物，优选最多 4 个碳原子，并且有利的是 1 或 2 个碳原子，它们可以是直链的或是支链的。

低级烷基优选含 1-4 个碳原子，代表（例如）乙基、丙基、丁基或有利地代表甲基。

低级烷氧基优选含 1-4 个碳原子，代表（例如）甲氧基、丙氧基、异丙氧基或有利地代表乙氧基。

环烷基代表优选含 5-7 个环碳原子的饱和环烃基，优选环戊基或环己基。

术语环烷基（低级）烷基优选代表 1-或 2-（环戊基或环己基）乙基，1-、2-或 3-（环戊基或环己基）丙基，或 1-、2-、3-或 4-（环戊基或环己基）丁基。

低级烷氧羰基优选在烷氧基部分含 1-4 个碳原子，并代表（例如）甲氧羰基、丙氧羰基、异丙氧羰基或有利地代表乙氧羰基。

基。

环亚烷基为 3 - 10 个环原子，优选 3、5 或 6 一个环原子，代表环烷键合的基团，例如环亚丙基、环亚戊基、环亚己基、环亚庚基或环亚辛基，其中两个连接基团都连至环烷环的同一个碳原子上。

环亚烯基为 5 - 10 个环原子，优选 5 或 6 一个环原子，代表环烯键合的基团，其中两个连接基团都连至环烯环的同一个碳原子上。

与饱和碳环稠合的环亚烷基代表例如全氢化亚萘基。

与非饱和碳环稠合的环亚烷基代表例如 1,1 - 或 2,2 - 四氢亚萘基 (tetralinylidene) 或 1,1 - 或 2,2 - 二氢亚茛基。

5 或 6 元氧杂环亚烷基优选代表四氢呋喃或四氢吡喃键合的基团，即四氢亚呋喃基或四氢亚吡喃基，其中两个连接基团都连至相应环的同一个碳原子上，例如 3 或 4 位上。

5 或 6 元硫杂环亚烷基优选代表四氢噻吩或四氢噻喃键合的基团，其中两个连接基团都连至相应环的同一碳原子上，例如 3 或 4 位上。

5 或 6 元氮杂环亚烷基优选代表吡咯烷或哌啶键合的基团，其中两个连接基团都连至相应环的同一碳原子上，例如 3 或 4 位上，并且氮可以被低级烷基（如甲基）或芳基 - 低级烷基（如苄基）取代。

卤素优选代表氟或氯，但也可为溴或碘。

酰基衍生自羧酸，并且优选代表任意取代的低级链烷酰基、环烷基羰基、碳环芳基 - 低级链烷酰基、芳酰基、低级烷氧羰基或芳基 - 低级烷氧羰基，更有利地代表任意取代的低级链烷酰基或芳酰基。

低级链烷酰基优选为乙酰基、丙酰基、丁酰基或新戊酰基。

任意取代的低级链烷酰基代表例如低级链烷酰基或取代的低级链烷酰基，取代基有低级烷氧羰基、低级链烷酰氧基、低级链烷酰硫基、

低级烷氧基、低级烷硫基及例如羟基、二-低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、吗啉代、哌啶子基，吡咯烷基或1-低级烷基哌嗪子基。

芳酰基为碳环或杂环芳酰基，优选单环碳环芳酰基或单环杂环芳酰基。

单环碳环芳酰基优选苯甲酰基或取代的苯甲酰基，取代基有低级烷基、低级烷氧基、卤素或三氟甲基。

单环杂环芳酰基优选吡啶基羰基或噻吩基羰基。

酰氧基优选为任意取代的低级链烷酰氧基、低级烷氧基羰基氧基、单环碳环芳酰氧基或单环杂环芳酰氧基，以及碳环或杂环芳基-低级链烷酰氧基。

任意取代的低级链烷酰氧基优选为低级链烷酰氧基，例如乙酰氧基，它任意被在描述任意取代的链烷酰基时提及的任何基团取代。

芳基-低级烷氧羰基优选为单环碳环-低级烷氧羰基，有利地为苄氧基羰基。

联芳基代表被单环碳环或单环杂环芳基取代的单环碳环芳基，优选代表联苯基，有利地代表任意一个或两个苯环被下述取代基取代的4-联苯基：低级烷基、低级烷氧基、卤素或三氟甲基。

联芳基-低级烷基优选为4-联苯基-低级烷基，有利地为4-联苯基-甲基。

本发明的新化合物是抑制血管紧张肽 I 转变成增压物质血管紧张肽 I 的血管紧张肽转化酶 (ACE) 抑制剂，因而可降低哺乳动物的血压。此外，本发明化合物还表现出对中性肽链内切酶 (NEP) 的抑制作用，因此可强化心房促尿钠排泄因子 (atrial natriuretic factor, ANF) 的心血管 (如利尿和促尿钠排泄) 效果。对于治疗哺乳动物心

血管疾病，特别是高血压和心脏疾病（如应激性心力衰竭），其结合效果是有利的。

上述性质可有利地采用哺乳动物（如小鼠、大鼠、猴、狗）或分离的器官、组织或它们的标本在体内或在体外进行证实。所述化合物在体外可以溶液形式（如优选水溶液）使用，而在体内可以经肠、非胃肠道，优选以口服或静脉内（例如以悬浮液或水溶液形式）形式使用。体外剂量可在约 10^{-6} ~ 10^{-9} 摩尔浓度，体内剂量根据给药途径不同，为约 0.01 ~ 50 毫克 / 公斤，更有利的是约 0.1 ~ 25 毫克 / 公斤。

对本发明的游离羧酸类最适宜进行体外试验。试验化合物溶于二甲基亚砜、乙醇或 0.25M 碳酸氢钠溶液中，并用缓冲液将溶液稀释至所需浓度。

可采用类似于 Biochem. Pharmacol. 20: 1637, 1971 中所述的方法来证实本发明化合物对血管紧张肽转化酶（ACE）的体外抑制作用。用于 ACE 分析的缓冲液为 300mM NaCl、100mM KH_2PO_4 （pH8.3）。反应通过向含有 150 μl 酶和药物的试管中加入 100 μl 马尿酸 - 组氨酰 - 亮氨酸（2 毫克 / 毫升）而引发，并将试管在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 30 分钟。反应经加入 0.75ml 0.6N NaOH 而终止。向试管中加入 100 μl 新制备的 O - 苯二醛溶液（2 mg / ml 的甲醇溶液），混合内容物并静置于室温下。10 分钟后，加入 100 μl 6N HCl。离心试管，上清液的光密度在 360nm 读数。将结果对药物浓度作用，以确定 IC_{50} ，即达到不含药物的对照样品的一半活性时的药物浓度。

用于说明本发明的实施例 2 a 和 2 i 的化合物在 ACE 体外试验中，分别表现出约 7 nM 和约 19 nM 的 IC_{50} 值。

对血管紧张肽转化酶的抑制作用，可通过体内、口服或静脉内给药，测定对正常血压大鼠的血管紧张肽 I 诱导的增压应答的抑制作用而证实。

静脉内施用化合物的体内试验采用雌性、血压正常的用甲氧氟烷钠 (Sodium metofan) 麻醉的大鼠进行。分别在股动脉和股静脉中插套管，以直接测定静脉内施用血管紧张肽的血压和静脉内或经口施用本发明化合物的血压。待基础血压稳定后，得到对 3 次各间隔 15 分钟的静脉内 300ng/kg 血管紧张肽 I 刺激的增压应答。这种血压应答也通常在 15、30、60 和 90 分钟时获得，然后在静脉内或经口施用待试验化合物之后每隔 1 小时获得这种血压应答，直至 6 小时止，并与初始血压应答比较。所述血压应答的降低表明了对血管紧张肽 I 转化酶的抑制作用。

说明本发明的实施例 1 (b) 的化合物以 10 mg/kg 口服的剂量抑制血管紧张肽 I 诱导的增压应答达 6 小时。

对中性肽链内切酶 (NEP, EC 3.4.24.11) 的体外抑制作用按如下方式测定：

中性肽链内切酶 3.4.24.11 活性通过采用改进的 Orłowski 和 Wilk (1981) 方法水解底物戊酰基-Ala-Ala-Pha-Z-萘酰胺 (GAAP) 来测定。培养混合物 (总体积 125 μ l) 含 4.2 μ g 蛋白质 (大鼠肾皮质膜，用 Maeda 等人的方法 (1983) 制得)，50 mM 三羟甲基氨基甲烷缓冲液 (25 $^{\circ}$ C 时 pH 7.4)、500 μ M 底物 (最终浓度) 和亮氨酸氨肽酶 M (2.5 μ g)。该混合物在 25 $^{\circ}$ C 培养 10 分钟，加入 100 μ l 坚牢紫 (250 μ g 坚牢紫/ml 10% Tween 20 在 1 M 乙酸钠中的溶液，pH=4.2)。酶活性在 540nm 用光谱法检测。每单位 NEP 24.11 活性定

义为 25 °C、pH7.4下每分钟释放 1 nmol 2-萘胺。测定 IC_{50} 值，即 50% 抑制 2-萘胺释放所需的试验化合物浓度。

中性肽链内切酶活性也可用 ANF 作底物进行测定。心房促尿钠排泄因子降解活性通过用 3 分钟反相-HPLC 分离法测定大鼠-rANF (r-ANF) 的消失而测定。在 50 mM 三羟甲基氨基甲烷 HCl 缓冲液 (pH=7.4) 中的酶等分样在 37 °C 预培养 2 分钟，通过加入总体积 50 μ l 的 4 nmol r-ANF 而引发反应。4 分钟后加入 30 μ l 0.27% 三氟乙酸 (TFA) 而使反应终止。一单位活性定义为 37 °C、pH7.4 时每分钟水解 1 nmol r-ANF。测定 IC_{50} 值，即 50% 抑制 ANF 水解所需的试验化合物浓度。

说明本发明的实施例 2 a 和 2 i 的化合物在体外 GAAP 分析中分别表现出约 2 nM 和约 2.2 nM 的 IC_{50} 值。

本发明化合物对大鼠血浆 ANF 浓度的影响可按下述方式测定：

用氯胺酮 (150 mg/kg) / 乙酰丙嗪 (1.0%) 麻醉雌性 Sprague-Dawley 大鼠 (275-390 克)，并在股动脉和股静脉中插入导管，以取得血样和输注 ANF。将大鼠栓在旋转体系中，并令其恢复 2-4 小时，然后在清醒、无限制状态下进行研究。

在这一实验中，在存在和不存在 NEP 抑制作用的情况下测定血浆 ANF 水平。在研究当天，以 450 ng/kg/分钟的速度给所有大鼠都连续静脉内输注总共 5 小时试验时间 ANF。输注开始 60 分钟后，得到用于 ANF 检测基线的血样 (时间为 0)，然后将大鼠随机分组，用实验化合物或赋形剂治疗。其它血样在施用本试验化合物后 30、60、120、180 和 240 分钟后取得。

用特定的放射免疫测定法确定血浆 ANF 浓度。血浆用含下列成分

的缓冲液稀释 (X 12.5、X 25和X 50) : 50 mM 三羟甲基氨基甲烷 (pH6.8)、154mM NaCl、0.3%牛血清白蛋白、0.01% EDTA。将100微升标准样 [rANF (99-126)] 或样品加入到100 μ l 兔抗-rANF血清中, 并在4 $^{\circ}$ C培养16小时。在反应混合物中加入1万cpm [125 I] rANF, 将混合物在4 $^{\circ}$ C再培养24小时。将山羊抗-兔IgG血清 (结合到顺磁颗粒上) 加入到反应混合物中, 将混合物暴露于吸引磁铁架下而使结合的 [125 I] rANF成丸。倾去上清液, 用 γ -计数器计取丸粒数。所有测定都进行两份。血浆ANF水平表示为在仅接受ANF (450ng/kg/分钟, 静脉内) 的赋形剂治疗的动物中测得的值的百分数。

抗高血压活性可按例如Trapani等人在J.Cardiovasc.Pharmacol. 14, 419-424 (1989) 中所述方法, 在自发性高血压大鼠和DOCA-盐高血压大鼠上测定。

抗高血压效果可以按下述方式在脱氢皮甾酮乙酸 (DOCA) - 盐高血压大鼠上测定:

用标准方法准备好DOCA-盐高血压大鼠 (280~380g)。大鼠接受单侧肾切除, 一星期后植入含100mg/kg DOCA的硅橡胶丸。使大鼠持续饮用1% NaCl/0.2% KCl饮用水3~5周, 直至确定了持续的高血压。此时评价抗高血压活性。

实验前二天, 用甲氧氟烷麻醉大鼠, 并在股动脉中插入套管以测定动脉血压。48小时后, 在1小时过程中记录基线动脉血压和心率。然后施用试验化合物或赋形剂, 再监测同样的心血管参数5小时。

抗高血压效果也可通过间接测量自发性高血压大鼠中心脏收缩压而测定。将清醒的大鼠分别单个地放入在柔和温暖房间内的笼中。将

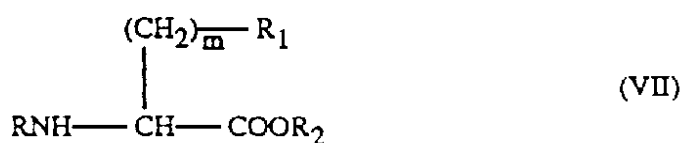
橡胶脉搏感应器末端置于大鼠尾上的可膨胀闭合套上。套周期性膨胀，以闭合锁住尾动脉，心脏收缩压记录为沿着正衰退的校正血压曲线一个可辨别脉搏出现的点。得到血压和心率的对照值后，连续四天给大鼠口服试验化合物，每天口服一次。其它的血压测定通常在每天给药后2.0、4.0和23.5小时进行，其应答与服用治疗赋形剂的那些大鼠的应答进行比较。

利尿（促尿食盐排泄）活性可用标准利尿筛测定，如“New Antihypertensive Drugs”，Spectrum Publications, 1976, p307-321中所述，或通过测定大鼠中对心房促尿钠排泄因子诱导的促尿钠排泄和利尿的效力来测定。

对ANF 促尿钠排泄效果的效力可以按下述方式测定：

用Inactin（100mg/kg，腹腔内）麻醉雌性Sprague-Dawley大鼠（280-360g），并在股动脉、股静脉和膀胱中插入导管，以测定动脉血压、施用ANF并收集尿液。在整个实验期间连续输注正常盐水（33 μ l/分钟），以促进利尿和钠排泄。实验计划由最初15分钟收集期（定为控制前），然后再三个收集期组成。控制前时期结束后，紧接着施用试验化合物或赋形剂；后45分钟不采取任何处理。然后，在第二收集期（定为控制，15分钟）内获得血压和肾的数据。在这个时期结束时，对所有动物施用ANF（1 μ g/kg，静脉内，浓缩药团），在两个连续的15分钟收集期内，测动脉血压和肾参数。确定整个收集期的平均动脉血压、尿流量和尿钠排泄。血压用Gould 50血压传感器测得，尿流量用重力法测得，钠浓度用火焰光谱法测得，尿钠排泄通过尿流量与尿钠浓度的乘积计算。

本发明的化合物，例如可用下述方法制得：

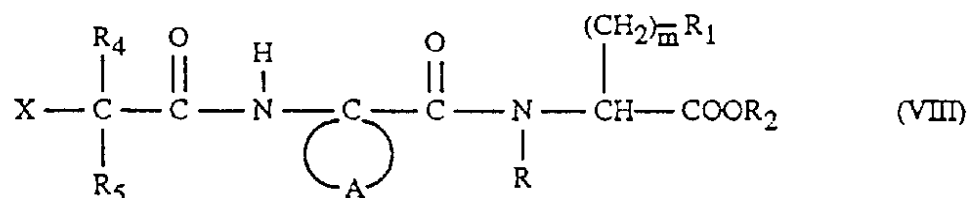


式 VII 中 m , R 和 R_1 意义同上, 且

COOR_2 代表酯化的羧基;

或者

c) 在碱性条件下, 使式 VIII 化合物与式 IX 化合物缩合,



式 VIII 中, A , R , R_1 , R_2 , R_4 , R_5 和 m 意义同前, 且

X 代表作为离去基团的活性酯化的羟基 (例如氯或溴);



式 IX 中, R_3' 代表不稳定的 S -保护基, 例如酰基、叔丁基或任意取代的苄基;

并且将得到的其中 R_3' 为任意取代的苄基的产物转化为其中 R_3 为氢的式 I 化合物; 且在上述方法中, 如果暂时保护任何有干扰活性的基团的话, 则除去所述保护基, 然后分离所得到的本发明的化合物; 并且, 如果需要, 将所得到的本发明化合物转化为本发明的另一化合物; 和/或, 如果需要, 将游离羧酸官能化合物转化为可药用酯衍生物, 或将所得酯转化为游离酸或转化为另一种酯衍生物; 和/或, 如

果需要，将所得的游离化合物转化为盐或将所得盐转化为游离化合物或另一种盐，和/或，如果需要将所得到的异构体混合物或外消旋混合物分离为单一异构体或外消旋体，和/或，如果需要，将得到的外消旋体拆分为旋光对映体。

在按本文所述的方式转化为本发明化合物的起始化合物和中间体中，存在的官能团（例如巯基、羧基、氨基和羟基）任意用制备有机化学中常见的常规保护基进行保护。被保护的巯基、羧基、氨基和羟基为那些可在温和条件下转化为游离巯基、羧基、氨基和羟基而无其他不希望的副反应发生的基团。

引入保护基的目的为保护官能团不与反应组分发生不希望的反应，并在用于实施所希望的化学转化条件下保护各官能团。对于具体的反应而言，对保护基团的需要和选择对本领域技术人员而言是公知的，并且取决于待保护的官能团（巯基、羧基、氨基等）的性质、含有该取代基的分子的结构和稳定性和反应条件。

满足这些条件的公知保护基及它们的引入和脱除描述于例如J. F. W. McOmie "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London, N. Y. 1973, T. W. Greene 和 P. G. M. Woots, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, N.Y. 1991 以及 "The Peptides", Vol. I. Schroeder 和 Luebke, Academic Press, London, N. Y. 1965。

用肽合成领域公知的方法制备方法（a）所述的本发明化合物，包括使式IV的胺和式V的酸或其官能活性衍生物进行缩合。

方法（a）的式IV氨基酯与式V的游离羧酸的缩合反应有利地在缩合剂存在下，在惰性极性溶剂（如二甲基甲酰胺或二氯甲烷）中、

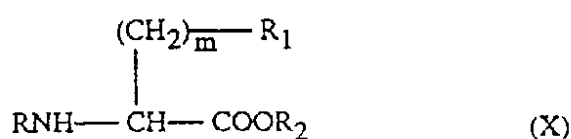
优选在室温下进行，缩合剂是例如二环己基碳二亚胺或 N - (3 - 二甲基氨基丙基) - N' - 乙基碳二亚胺和羟基苯并三唑、1 - 羟基 - 7 - 氮杂苯并三唑、氯代二甲氧基三嗪或苯并三唑 - 1 - 基氧三 (二甲基氨基) 六氟磷酸盐 (BOP 试剂) 以及三乙胺或 N - 甲基吗啉。

式 IV 氨基酯与酰卤 (有利地为酰氯或混合酸酐) 形式的式 V 酸的活性官能衍生物之间的缩合反应在惰性溶剂 (如甲苯或二氯甲烷) 中，有利地在碱存在下，优选在室温下进行，碱的例子如无机碱 (如碳酸钾) 或有机碱 (如三乙胺、N - 甲基吗啉或吡啶)。

式 V 羧酸的活性官能衍生物优选为酰卤 (如酰氯) 和混合酸酐 (例如新戊酰或异丁基 - 氧基羰基酐) 或者活化的酯如苯并三唑、7 - 氮杂苯并三唑或六氟苯基酯。

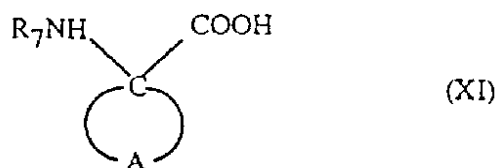
式 IV 的起始物质可按本说明书中所述方法进行制备，详见实施例。

式 IV 的起始物质的制备包括使式 X 的氨基酸酯与式 XI 的 N - 适宜地被保护的环状氨基酸 (或活性官能衍生物) 进行酰化反应，得到相应的 N - 被保护的式 IV 化合物。



式 (X) 中，m、R 和 R₁ 定义如前述，且

COOR₂ 代表酯化的羧基 (例如其中 R₂ 为低级烷基或苄基) ；



式 (XI) 中, A 定义如前述, 且

R_7 为不稳定的氨基保护基, 例如叔丁氧基羰基。

式 X 的化合物与式 XI 的化合物的缩合反应用肽合成领域公知的方法进行, 例如上述用于使式 IV 化合物与式 V 化合物缩合的方法。N-保护基用本领域公知的方法除去, 例如用无水酸 (如三氟乙酸) 除去叔丁氧基羰基。

式 X 和 XI 化合物的起始氨基酸和酯化合物在本领域是已知的, 或者如果是新的, 则可按本领域公知的方法制备, 例如从相应的醛或酮制得。式 X 的氨基酸优选以 S-对映体的形式获得。

式 V 的起始物质是已知的, 或者如果是新的, 则可按常规方法制得。例如通过下述方法由相应的外消旋或光学活性的 α -氨基酸制得起始物质: 使 α -氨基酸在碱性条件下转化为 α -溴代衍生物, 然后用适宜的硫代酸或任意取代的苄硫醇取代, 例如参见欧洲专利申请 524,553 (1993 年元月 27 日出版)。最终产物的 S-脱苄基化通过还原性裂解进行, 例如用在乙醇中的阮内 (Raney) 镍。S-脱酰基化通过用稀氢氧化钠水溶液或氢氧化钠的甲醇溶液进行碱催化水解而进行。式 V 的环状起始物质可在强碱 (如二乙基酰胺锂) 存在下用硫处理环状羧酸 (如环戊烷甲酸) 而制得。

包括式 VI 酸与 VII 氨基酸酯缩合的本发明化合物制备方法 (b) 的过程采用与方法 (a) 相似的方式进行。相似地, 式 VI 的起始物质在与上述相似的条件通过式 V 的酸与对应于式 XI 的环状氨基酸的酯的缩合, 然后脱除羧基保护基而制得。

包括用巯基衍生物 $R_3'-SH$ 取代式 VIII 化合物中的离去基团 X 的方法 (c) 的本发明化合物的制备过程按本领域公知的方式进行。

X代表的活性酯化的羟基是被强无机酸或有机酸酯化的羟基。相应的X基团特别是卤素，例如氯、溴或碘，以及磺酰氧基，例如低级烷基-或芳磺酰氧基，如（甲、乙、苯或甲苯）磺酰氧基，以及三氟甲基磺酰氧基。

取代在惰性溶液中，在碱存在下于室温或升高的温度下进行，惰性溶剂例如二甲基甲酰胺或二氯甲烷，碱例如碳酸钾、三乙胺、二异丙基乙胺、N-甲基吗啉等等。

相似地，式Ⅷ的起始化合物可在方法（a）的条件下，使式Ⅳ的二肽衍生物与式（Ⅺ）的酸反应而得，



其中R₄、R₅和X意义同前。

本发明的某些化合物和中间体可按本领域中公知的一般反应互相转化。

游离硫醇可优选在氯化钴（CoCl₂）存在下，在惰性溶剂（如乙腈或二氯甲烷）中，与羧酸（对应于式Ⅰ中R₃为酰基）的活性衍生物（如酸酐或所述酰氯）反应而转变为S-酰基衍生物。

游离醇和酚可在碱（如三乙胺）存在下与相应的酰氯反应而转化为相应的酰基衍生物。

其中R₃代表氢的游离硫醇，例如可在醇溶液中通过空气氧化或用中等强度氧化剂（如碘）使其氧化为相应的二硫化物。相反地，二硫化物可还原为相应的硫醇，例如使用还原剂，如硼氢化钠、锌和乙酸或三丁基膦。

羧酸酯可按本领域公知的方法由羧酸制得，该方法是使羧酸与例如对应于 $R_2 - OH$ 的卤化物在碱存在下进行缩合，或者在酸催化剂存在下使羧酸与过量醇缩合。

羧酸酯和 S-酰基衍生物例如可以用碱水溶液（如碱金属碳酸盐或氢氧化物）来水解。

如果得到的是立体异构体（例如非对映体）混合物，它们可用已知方法进行分离，例如分级结晶和色谱（例如薄层、柱、闪式色谱）方法，外消旋游离酸可通过 d-或 l-（ α -甲基苄基胺、辛可尼丁、辛可宁、奎宁、奎尼丁、脱氢枞胺，香木鳖碱或马钱子碱）盐等的分级结晶而拆分为旋光对映体。外消旋产物如果不是非对映异构体，则首先可用旋光活性试剂转化为非对映异构体（如用旋光活性醇转化为酯），然后按上述方式进行分离，并且例如水解为各种对映体。外消旋产物也可用手性色谱拆分，例如使用手性吸附剂的高压液相色谱；也可用酶拆分法，例如用 alkalas 拆分酯类。

上述反应按照标准方法在下列条件下进行，在稀释剂存在下或无稀释剂存在下，在催化剂、碱性或酸性缩合剂或其他所述试剂和/或惰性气氛下，在低温、室温或升高的温度（优选接近于所用溶剂的沸点温度）下，在大气压或高于大气压的压力下进行，稀释剂优选例如对试剂为惰性并作为它们的溶剂的那些。

本发明还包括所述方法的多种变化形式，其中在本方法的任何阶段中可得到的中间产物用作起始物质并且进行其余的步骤，或者该方法在其中的任何一阶段中断，或者其中在反应条件下形成起始物质，或者其中反应组分经以它们的盐或旋光纯的对映体的形式使用。主要地，在所述反应中使用那些起始物质从而导致形成上述优选的化合物。

本发明还涉及本发明化合物，它们的可药用、无毒酸加成盐或它们的药物组合物在哺乳动物中作为药物的应用，即用于抑制血管紧张肽转化酶（ACE）和中性肽链内切酶（NEP），并且例如用于治疗心血管疾病，例如高血压、水肿、盐潴留和充血性心力衰竭。

本发明还涉及本发明化合物用于制备药物组合物，特别是具有血管紧张肽转化酶和中性肽链内切酶抑制活性和例如抗高血压活性的药物组合物的应用。

本发明的药物组合物是这样的药物组合物：即适用于经肠（如口服或直肠）、经皮或非经肠对哺乳动物（包括人）给药，用于治疗心血管疾病（例如高血压）的药物组合物，该组合物包括生理活性有效量的本发明化合物或其药用盐，单独使用或与一种或多种可药用载体结合给药。

本发明的生理活性化合物适用于制备包括与赋形剂或载体结合或混合的有效量的本发明生理活性化合物的药物组合物，所述赋形剂或载体适用于经肠或非经肠使用。优选的是片剂或和明胶胶囊剂，包括与下述组分 a)、 b) 和 / 或 c)、 d) 和 / 或 e) 结合的活性成分，其中

a) 稀释剂如乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露糖醇、山梨醇、纤维素和 / 或甘氨酸；

b) 润滑剂，例如二氧化硅、滑石、硬脂酸及其镁盐或钙盐和 / 或聚乙二醇；

用于片剂的

c) 粘合剂，例如硅酸镁铝、淀粉糊、明胶、黄耆胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和 / 或聚乙烯吡咯烷酮；

如果需要

d) 崩解剂, 例如淀粉、琼脂、藻酸或其钠盐或泡腾混合物;

和/或

e) 吸附剂、色素、调味剂或甜味剂。

可注射组合物优选为等渗水溶液或悬浮液, 栓剂适于用油性乳液或悬浮液制备。所述组合物可灭菌和/或含有多种佐剂, 例如防腐剂、稳定剂、湿润剂或乳化剂、溶液促进剂、调节渗透压的盐和/或缓冲剂。另外, 组合物还可含有其它具有医疗价值的物质。所述药物组合物依照常规的混合, 制粒或包衣方法分别制得, 并含有约 0.1~75%、优选约 1~50% 的活性成分。

适用于经皮使用的制剂包括与载体结合的有效量的本发明化合物。适宜的载体包括可吸收的可药用溶剂, 以利于通过宿主的皮肤, 具有独特特征的是, 经皮使用器械为绷带形, 包括支承部分、含任选与载体结合的药物的储存部分、任选的速度控制屏障(以便在一长时间内以控制的和预定的速度对宿主皮肤给药)以及把器械固定到皮肤上的装置。

对于约 50 至 70 公斤的哺乳动物, 单位剂量可含约 1 至 50 mg 活性成分。活性化合物的剂量取决于温血动物(哺乳动物)的种类、体重、年龄及个体状况以及取决于施药形式。

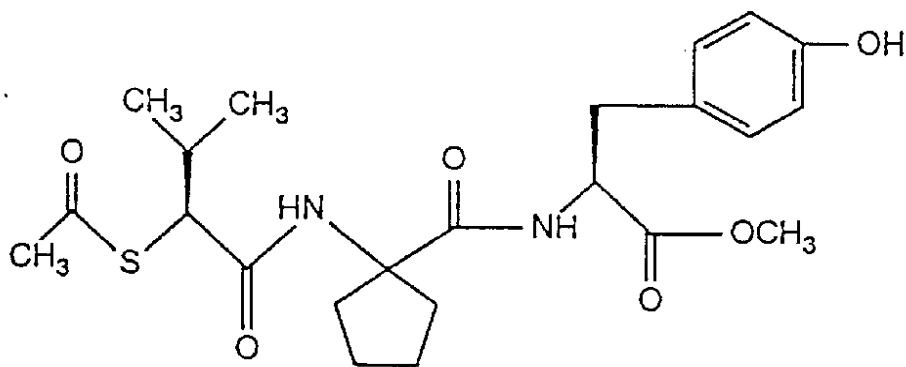
下述实施例旨在说明本发明而不应理解为对它的限制。温度为摄氏度。如无其它说明, 则所有蒸发都在减压下进行, 优选在约 15 至 100mmHg 下进行。旋光度在室温、589nm(钠和 D 线)处测得, 或在如实施例所述波长测得。

前缀 R 和 S 用于指明在各非对称中心的绝对构型。在本发明中使

用的 L - 氨基酸对应于 S - 构型。

实施例 1

a) 向 N - [[(1 - 氨基 (1 - 环戊基)] 羧基] - L - 酪氨酸甲酯盐酸盐 (1.36g, 3.97mmol) 的二氯甲烷 (50ml) 溶液中加入三乙胺 (0.55ml, 3.97mmol) 。混合物搅拌 5 分钟, 然后加入 (S) - 2 - 乙酰硫基 - 3 - 甲基丁酸 (0.70g, 3.97mmol) 、 1, 3 - 二环己基碳二亚胺 (0.82g, 3.97mmol) 和 1 - 羟基 - 7 - 氮杂苯并三唑 (0.54g, 3.97mmol) 。混合物搅拌 16 小时, 然后滤去固体沉淀。有机相用碳酸氢钠饱和溶液 (30 ml) 、盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 并在减压下浓缩, 得到白色泡沫状物。泡沫状物在硅胶闪色谱上纯化, 用己烷 - 乙酸乙酯 (1 : 1) 洗脱, 纯馏分经浓缩得到泡沫状物, 用乙酸乙酯 - 己烷结晶, 得到 N - [[1 - 2 (S) - 乙酰硫基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] 羧基] - L - 酪氨酸甲酯, 为白色固体, 熔点 157 - 158°C, 即式 III 的化合物, 其中 R₁ 为 4 - 羟基苯基, R₂ 为甲基、R₃ 为乙酰基且 R₄ 为异丙基。



起始物质按下述方式制备：

向搅拌的 1 - 氨基 - 环戊烷甲酸 (8.50g, 65.8mmol) 的二噁

烷 (50ml) 和 1 N NaOH (65.8ml, 65.8mmol) 溶液中加入二-叔丁基二碳酸酯 (14.34g, 65.8mmol)。混合物搅拌 5 小时, 在减压下浓缩。将残留物溶于水 (50ml) 并用乙酸乙酯 (2 × 15ml) 洗涤。水相用 1 N 盐酸酸化至 pH = 2, 然后用乙酸乙酯 (3 × 50ml) 萃取。合并有机相, 用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 除去溶剂, 得到 1 - [N - [(1, 1 - 二甲基乙氧基) 羰基] 氨基] 环戊烷甲酸, 为白色泡沫状物。

向搅拌的 L - 酪氨酸甲酯的盐酸盐 (5.84g, 25.3mmol) 和 N - [(1, 1 - 二甲基乙氧基) 羰基] 氨基] - 环戊烷甲酸 (5.80g, 25.3mmol) 的二氯甲烷 (100ml) 和三乙胺 (3.52ml, 25.3mmol) 溶液中加入 1, 3 - 二环己基碳二亚胺 (5.22g, 25.3mmol) 和 1 - 羟基苯并三唑 (3.42g, 25.3mmol)。混合物搅拌 16 小时, 然后滤掉固体沉淀物。有机相用饱和碳酸氢钠溶液 (30ml)、盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 在减压下浓缩, 得到白色泡沫状物。泡沫状物用硅胶闪式色谱纯化, 用己烷 - 乙酸乙酯 (1 : 1) 洗脱。纯馏分经浓缩得到泡沫状物, 用乙酸乙酯 - 己烷结晶, 得到 N - [[1, 1 - 二甲基乙氧基) 羰基] - 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - L - 酪氨酸甲酯, 熔点 170 - 171°C, [α]_D = +6.45 (甲醇, c 7.41)。

向 N - [[1 - [[(1, 1 - 二甲基乙氧基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] - 羰基] - 酪氨酸甲酯 (3.50g, 8.6mmol) 的二氯甲烷 (60ml) 和乙酸乙酯 (10ml) 溶液中鼓泡通入干燥的 HCl 气 15 分钟。减压除去溶剂, 得到泡沫状的 N - [[1 - 氨基 (1 - 环戊基)] 羰基] - L - 酪氨酸甲酯盐酸盐。

b) 类似地制得其中 R₁ 为 4 - 羟基苯基、R₂ 为乙基、R₃ 为

乙酰基及 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $148-149^{\circ}\text{C}$ 。

c) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为苄基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $66-67^{\circ}\text{C}$ 。

d) 类似地制得其中 R_1 为 4-乙酰氧基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $94-95^{\circ}\text{C}$ 。

e) 类似地制得其中 R_1 为 4-(苯甲酰氧基)苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $121-122^{\circ}\text{C}$ 。

f) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为苄基的式 III 化合物，熔点 $137-138^{\circ}\text{C}$ 。

g) 类似地制得其中 R_1 为 4-氟苯基、 R_2 为甲基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $123-124^{\circ}\text{C}$ 。

h) 类似地制得其中 R_1 为 2-噻吩基、 R_2 为甲基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $123-124^{\circ}\text{C}$ 。

i) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为甲基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为氢的式 III 化合物，熔点 $91-92^{\circ}\text{C}$ (分解)。

j) 类似地制得其中 R_1 为 3-噻吩基、 R_2 为甲基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $110-112^{\circ}\text{C}$ 。

k) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为 2,2-二甲基丙酰基及 R_4 为异丙基的式 III a 化合物，熔点 $132-133^{\circ}\text{C}$ 。

l) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为 2,2-二甲基丙酰基及 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $150-151^{\circ}\text{C}$ 。

m) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为甲基、 R_3 为乙酰基及 R_4 为异丙基的式 II 化合物，熔点 $172-173^{\circ}\text{C}$ 。

n) 类似地制得其中 R_1 为 4-甲氧基苯基、 R_2 为甲基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $104-105^{\circ}\text{C}$ 。

o) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为甲基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $119-120^{\circ}\text{C}$ 。

p) 类似地制得其中 R_1 为 4-联苯基、 R_2 为甲基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $128-129^{\circ}\text{C}$ 。

q) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基和 Y 为氧的式 III b 化合物，熔点 $74-77^{\circ}\text{C}$ 。

r) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正丙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $119-120^{\circ}\text{C}$ 。

s) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为异丙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $155-156^{\circ}\text{C}$ 。

t) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为异丁基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $148-149^{\circ}\text{C}$ 。

u) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为异戊基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $94-95^{\circ}\text{C}$ 。

v) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $112-113^{\circ}\text{C}$ 。

w) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为正丁基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $111-112^{\circ}\text{C}$ 。

x) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正己基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $65-66^{\circ}\text{C}$ 。

y) 类似地制得其中 R_1 为苄基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $101-103^{\circ}\text{C}$ 。

z) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为甲基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $122-124^{\circ}\text{C}$ 。

aa) 类似地制得其中 R_1 为 5-羟基-3-吡啶基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $189-190^{\circ}\text{C}$ 。

bb) 类似地制得其中 R_1 为 4-甲氧基苯基、 R_2 为正丁基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $114-115^{\circ}\text{C}$ 。

cc) 类似地制得其中 R_1 为 3,4-二羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 79°C (分解)。

dd) 类似地制得其中 R_1 为 3-噻吩基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $114.5-116^{\circ}\text{C}$ 。

ee) 类似地制得其中 R_1 为 3-噻吩基、 R_2 为正丁基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $108.8-109.6^{\circ}\text{C}$ 。

ff) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为烯丙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $119-120^{\circ}\text{C}$ 。

gg) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正丁基、 R_3 为正丁酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 105°C 。

hh) 类似地制得其中 R_1 为 4-甲氧基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $103-104^{\circ}\text{C}$ 。

ii) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为环戊基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $133-135^{\circ}\text{C}$ 。

jj) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为苄基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $151-152^{\circ}\text{C}$ 。

kk) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为乙基、 R_3 为丙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物。

ll) 类似地制得其中 R_1 为苄基、 R_2 为正丁基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $82.3-83.1^\circ\text{C}$ 。

mm) 类似地制得其中 R_1 为苄基、 R_2 为苄基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $145.7-146.3^\circ\text{C}$ 。

nn) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为 3-吡啶基甲基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $94-96^\circ\text{C}$ 。

oo) 类似地制得其中 R_1 为 4-甲氧基苯基、 R_2 为 3-吡啶基甲基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $107-109^\circ\text{C}$ 。

pp) 类似地制得其中 R_1 为苄基、 R_2 为 3-吡啶基甲基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $128-129^\circ\text{C}$ 。

qq) 类似地制得其中 R_1 为 4-甲氧基苯基、 R_2 为苄基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $110-111^\circ\text{C}$ ；和

rr) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正丁基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $105-106^\circ\text{C}$ 。

实施例 2

a) 在室温，氮气氛下，向搅拌的、已脱气的 N -[[1-[(2(S)-乙酰基巯基-3-甲基-1-氧代丁基)氨基]-1-环戊基]羧基]-L-酪氨酸甲酯 (0.55g, 1.19mmol) 的甲醇 (30 ml) 溶液中加入脱气的 1 N NaOH (4.74ml, 4.74mmol)。溶液搅拌 6 小时，然后真空浓缩。向残留物中加入水 (25ml)，水层用乙酸乙酯 (3×10ml) 洗涤。水相用 1 N HCl 酸化至 $\text{pH}=1$ ，然后用乙酸乙酯 (3×50ml) 萃取。合并有机相，用盐水洗涤，用 MgSO_4 干燥，过滤，然后在减压下浓缩，得到白色泡沫状物 (0.38g)。产物用乙酸乙酯 (5 ml) 结晶，在 40°C 真空干燥 16 小时，得到 N -[[1-[(2(S)-

巯基-3-甲基-1-氧代丁基)氨基]-1-环戊基]羧基]-L-酪氨酸, 熔点209-210°C; $[\alpha]_D - 51.69^\circ$ (甲醇, $c 1.07$), 即其中 R_1 为4-羟基苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢且 R_4 为异丙基的式III化合物。

b) 类似地制得其中 R_1 为4-羟基苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为苄基的式III化合物, 熔点187-189°C。

c) 类似地制得其中 R_1 为4-羟基苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为氢的式III化合物, 熔点118-119°C。

d) 类似地制得其中 R_1 为4-氟苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式III化合物, 熔点168-169°C。

e) 类似地制得其中 R_1 为2-噻吩基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式III化合物, 熔点175-176°C (分解)。

f) 类似地制得其中 $n = 5$, R_1 为4-羟基苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式II化合物, 熔点112-114°C。

g) 类似地制得其中 R_1 为3-噻吩基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式III化合物, 熔点182-184°C。

h) 类似地制得其中 R_1 为4-羟基苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式III化合物, 熔点91-92°C。

i) 类似地制得其中 R_1 为4-甲氧基苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式III化合物, 熔点171-172°C。

j) 类似地制得其中 R_1 为3-吡啶基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式III化合物, 熔点145-146°C。

k) 类似地制得其中 R_1 为4-联苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式III化合物, 熔点180-181°C。

l) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 $Y=O$ 且 R_4 为异丙基的式 III b 化合物，熔点 221°C (分解)。

m) 类似地制得其中 R_1 为苄基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $203-204^\circ\text{C}$ 。

n) 类似地制得其中 R_1 为 2-吡啶基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $175-176^\circ\text{C}$ 。

o) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $218-219^\circ\text{C}$ 。

p) 类似地制得其中 R_1 为 5-羟基-3-吡啶基、 R_2 为氢、 R_3 为氢、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 105°C (分解)。

实施例 3

a) 向 N -[(1-[2(S)-乙酰基巯基-3-甲基-1-氧代丁基]氨基)-1-环戊基]羧基]-L-酪氨酸乙酯 (0.11g, 0.23mmol) 的 5 ml 二氯甲烷溶液中加入三乙胺 (0.032ml, 0.23mmol)，然后加入 2-噻吩羧基氯 (0.034g, 0.23mmol)。反应混合物在室温下搅拌 1 小时。加入水，分出二氯甲烷层，用水洗涤，用 MgSO_4 干燥，蒸发至干。所得固体用乙醚重结晶，得到其中 R_1 为 4-(2-噻吩基羧基氧)-苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物；熔点 $125-126^\circ\text{C}$ 。

b) 类似地制得其中 R_1 为 4-[2-(乙氧基羧基)-乙酰氧基]苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $71-72^\circ\text{C}$ 。

c) 类似地制得其中 R_1 为 4-(2-甲基丙酰氧基)苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 118

-119°C。

d) 类似地制得其中 R_1 为 4 - [2 - (乙酰硫基) - 乙酰氧基] 苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为氢的式 III 化合物，熔点 65 - 67°C。

e) 类似地制得其中 R_1 为 4 - (4 - 吡啶基羰氧基) 苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 85 - 86°C。

f) 类似地制得其中 R_1 为 4 - (2 - 甲氧基乙酰氧基) 苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 80 - 81°C。

g) 类似地制得其中 R_1 为 4 - (乙氧基羰基氧基) 苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 94 - 95°C。

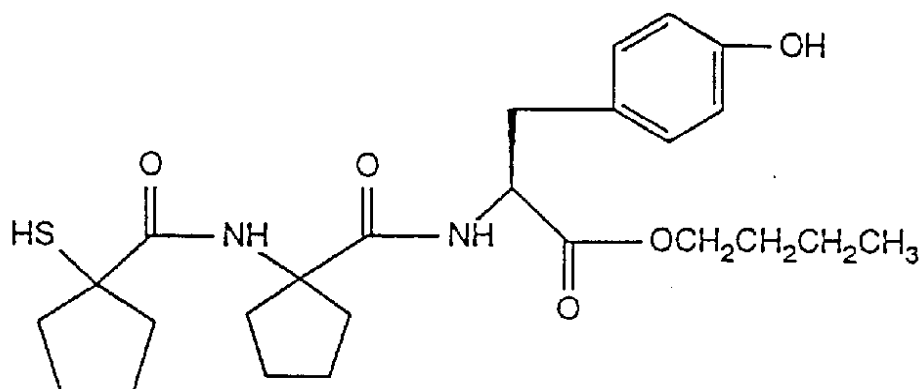
h) 类似地制得其中 R_1 为 4 - (丙酰氧基) 苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 102 - 103°C。

i) 类似地制得其中 R_1 为 4 - 烟酰氧基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 67 - 68°C。

实施例 4

向搅拌的 1 - 巯基 - 1 - 环戊烷甲酸 (1.74g, 4.54mmol) 的二氯甲烷 (50 ml) 和三乙胺 (0.63ml) 溶液中加入 [(1 - 氨基 - (1 - 环戊基) 羰基] - L - 酪氨酸丁酯盐酸盐 (0.66g)。向该溶液中加入 1 - 羟基 - 7 - 氮杂苯并三唑 (0.68g, 4.55mmol) 和 1, 3 - 二环己基碳二亚胺 (1.03g, 4.99mmol)。将混合物搅拌 14 小时，然后过滤除去固体沉淀。有机相用饱和碳酸氢钠溶液 (10 ml)，盐水 (10 ml) 洗涤，用 $MgSO_4$ 干燥，除去溶剂得到澄清的油状物。

油状物经闪式色谱 (SiO₂ , 己烷/乙酸乙酯 6 : 4) 纯化得到透明泡沫状物。泡沫状物用乙酸乙酯结晶, 得到 N - [[1 - [[(1 - 巯基 - 1 - 环戊基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - L - 酪氨酸丁酯, 熔点 106 - 107 °C。



实施例 5

向搅拌的 N - [[1 - [[(1 - 巯基 - 1 - 环戊基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - L - 酪氨酸丁酯 (0.47g, 0.99mmol) 的脱气甲醇溶液中加入 1 N 氢氧化钠 (3.00ml, 3.00mmol)。将混合物搅拌 17 小时。真空除去溶剂, 并向残留物中加入水 (30 ml)。水相用乙酸乙酯 (10 ml) 洗涤, 然后用 1 N HCl 酸化至 pH = 1。水相用乙酸乙酯 (3 × 50 ml) 萃取, 用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥。真空除去溶剂, 得到泡沫状物, 用己烷/乙酸乙酯结晶得到 N - [[1 - [[(1 - 巯基 - 1 - 环戊基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - L - 酪氨酸, 熔点 90 °C。

实施例 6

在 0 °C 下, 向脱气的 N - [[1 - (2 - (S) - 乙酰基巯基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) - 氨基] - 1 - 环戊基] - 羰基] - L -

酪氨酸正丁酯 (2.4g, 4.74mmol) 的甲醇溶液中滴加 1N NaOH(4.74ml, 4.74mmol)。将混合物搅拌 30 分钟, 用 1N HCl 中和至 pH = 3, 浓缩至干, 残留物溶于水和乙酸乙酯混合物中。分出有机相, 用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 蒸发至干, 得到 N - [[1 - [(2 - (S) - 巯基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] - 羧基] - L - 酪氨酸正丁酯, 熔点 182 - 183°C。

类似地制得例如相应的乙酯、戊酯和苜酯。

实施例 7

a) 将在二氯甲烷 (30 ml) 中的 N - [[1 - [(2 - (S) - 巯基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] 羧基] - L - 酪氨酸乙酯 (0.32g, 0.73mmol)、环戊烷甲酸 (0.083g, 0.73mmol)、二环己基碳二亚胺 (0.15g, 0.73mmol)、1 - 羟基 - 7 - 氮杂苯并三唑 (0.10g, 0.73mmol) 和三乙胺 (0.10ml, 0.73mmol) 的混合物在室温下搅拌过夜。将所得混合物过滤、用 NaHCO₃ 溶液洗涤, 然后用盐水洗涤, 用 MgSO₄ 干燥, 蒸发至干。残留物用硅胶闪式色谱纯化, 用己烷 - 乙酸乙酯洗脱。纯化馏分进行浓缩, 残留物用乙醚结晶得到 N - [[1 - (2 - (S) - 环戊基羧基巯基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] - 羧基] - L - 酪氨酸乙酯, 熔点 130 - 131°C, 即其中 R₁ 为 4 - 羟基苯基、R₂ 为乙基、R₃ 为环戊基羧基、R₄ 为异丙基的式 III 化合物。

b) 类似地制得其中 R₁ 为 4 - 羟基苯基、R₂ 为正丁基、R₃ 为环戊基羧基、R₄ 为异丙基的式 III 化合物, 熔点 140°C;

c) 类似地制得其中 R₁ 为 4 - 羟基苯基、R₂ 为正丁基、R₃ 为环己基羧基、R₄ 为异丙基的式 III 化合物, 熔点 110°C;

d) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正丁基、 R_3 为丙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 102°C ；

e) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为乙基、 R_3 为吗啉代-乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $165-168^{\circ}\text{C}$ ；

f) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正戊基、 R_3 为 2-甲基丙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 116°C ；

g) 类似地制得其中 R_1 为 3-吡啶基、 R_2 为乙基、 R_3 为 2-甲氧基乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $93-95^{\circ}\text{C}$ ；

h) 类似地制得其中 R_1 为 4-甲氧基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为 2-甲氧基乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $95-100^{\circ}\text{C}$ ；

i) 类似地制得其中 R_1 为 4-甲氧基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为丙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $99-102^{\circ}\text{C}$ ；

j) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正丁基、 R_3 为 2-甲基丙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 125°C ；

k) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正丁基、 R_3 为吗啉代乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $143-144^{\circ}\text{C}$ ；

l) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正丁基、 R_3 为哌啶子基乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $130-131^{\circ}\text{C}$ ；

m) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为正丁基、 R_3 为甲氧基乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $110-111^{\circ}\text{C}$ ；

n) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为吗啉代乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $147-148^{\circ}\text{C}$ ；

o) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为甲氧基乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $129-130^{\circ}\text{C}$ ；

p) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为二甲基氨基乙酰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $136-137^\circ\text{C}$ ；及

q) 类似地制得其中 R_1 为 4-羟基苯基、 R_2 为乙基、 R_3 为吡啶基羰基、 R_4 为异丙基的式 III 化合物，熔点 $154-155^\circ\text{C}$ 。

实施例 8

按前述实施例的方法类似地制得：

a) N-[[2-[(2-(S)-乙酰基巯基-3-甲基-1-氧代丁基)氨基]-2-(2,3-二氢化茛基)]-羰基]-L-酪氨酸乙酯；熔点 $145-146^\circ\text{C}$ ；

b) N-[[2-[(2-(S)-巯基-3-甲基-1-氧代丁基)氨基]-2-(2,3-二氢化茛基)]-羰基]-L-酪氨酸；熔点 $186-187^\circ\text{C}$ ；

c) N-[[2-[(2-(S)-乙酰基巯基-3-甲基-1-氧代丁基)氨基]-2-降冰片烷基]-羰基]-L-酪氨酸甲酯；熔点 $74-77^\circ\text{C}$ ；

d) N-[[2-[(2-(S)-巯基-3-甲基-1-氧代丁基)氨基]-2-降冰片烷基]-羰基]-L-酪氨酸；熔点 105°C (分解)；

e) N-[[1-[(2-(S)-乙酰基巯基-3-甲基-1-氧代丁基)氨基]-1-环戊基]-羰基]-D-酪氨酸正丁酯；熔点 $134-135^\circ\text{C}$ ；

f) N-[[1-[(2-(R)-乙酰基巯基-3-甲基-1-氧代丁基)氨基]-1-环戊基]-羰基]-D-酪氨酸正丁酯；

熔点102-103℃；

g) N - [[1 - [(2 - (R) - 乙酰基巯基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - L - 酪氨酸正丁酯；

熔点139-140℃；和

h) N - [[1 - [(2 - (R) - 乙酰基巯基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸乙酯；熔点97-98℃。

实施例 9

a) 将 N - [[1 - [2 - (S) - 溴代 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸正丁酯 (0.141g, 0.268mmol) 溶于四氢呋喃 (2.0ml) 中。在室温下，向其中加入硫代乙酸 (38.0mg, 0.480mmol)，然后在氮气氛下加入无水粉末状碳酸钾 (325目, 40.0mg, 0.290mmol)。在室温下 2 小时后，过滤混合物，滤液用乙酸乙酯稀释，用饱和碳酸氢钠溶液、1N HCl、5% 盐水和盐水洗涤，用无水硫酸镁干燥并过滤。滤液在真空 (40 托) 中蒸发，得到粗产物，可用乙醇/水结晶，得到白色针状 N - [[1 - [(2 - (S) - 乙酰基巯基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸正丁酯，即实施例 1 (bb) 的化合物。

起始物质以下述方式制备：

将 N - [[1 - [(1, 1 - 二甲基乙氧基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸正丁酯 (1.96g, 4.24mmol) 悬浮于乙酸乙酯 (20 ml) 中。向混合物中通入无水氯化氢直至饱和 (约 3 分钟)。在室温下静置 1.5 小时后，反应完毕，溶剂在真空下

去除，得到 N - [(1 - 氨基 - 1 - 环戊基) 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸正丁酯单盐酸盐粗品，为胶质固体。粗产物固体直接用于下一步骤。

将 (R) - 2 - 溴 - 3 - 甲基丁酸的二异丙基胺盐 (230mg, 0.635mmol) 悬浮于四氢呋喃 (5.0ml) 中，并将混合物冷却至 - 9 °C。向其中加入固体氯代二甲氧基三嗪 (112mg, 0.625mmol)。悬浮液在 < - 5 °C 下搅拌 4 小时，然后即滴加 N - [(1 - 氨基 - 1 - 环戊基) - 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸正丁酯单盐酸盐 (244mg, 0.606mmol) 的四氢呋喃 (2.0ml) (含有 65.0mg, 0.640mmol 的 N - 甲基吗啉) 溶液。混合物在 - 5 °C 搅拌数小时，然后自行温热过夜，达到室温温度。向其中加入乙酸乙酯 (15 ml) 和水 (8 ml)。分离各层，有机层用饱和碳酸氢钠溶液、1N HCl、水和盐水洗涤，用无水硫酸镁干燥。过滤除去固体后，将滤液真空蒸发，得到白色固体粗产物，可用甲醇 / 水重结晶得到纯 N - [[1 - (2 (S) - 溴 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸正丁酯，熔点 126 - 127 °C。

类似于下述乙酯的制备过程，制得 N - [[1 - [[1, 1 - 二甲氧基乙氧基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸丁酯。

将 L - 酪氨酸 (1.00kg, 5.52 mol) 悬浮于 2 B 无水乙醇 (5.0L) 中。按下述方式向此悬浮液中通入无水氯化氢：开始在室温下通 2.5 小时，此时温度升至 5 - 6 °C。所得到的澄清溶液在连续通入低流量的氯化氢的同时回流 5 小时。使溶液自行冷却过夜，加入叔丁基甲基醚 (12.0L) 引发产物完全沉淀。过滤收集晶体，滤液用另外的叔丁基

甲基醚 (2 × 500ml) 洗涤。固体先风干然后真空干燥36小时 (40℃, 3托), 得到 L-酪氨酸乙酯单盐酸盐, 熔点165-166℃。

在室温下, 向 1-氨基环戊烷甲酸 (环亮氨酸, 85%, 600g, 3.95mol) 在水 (1.8L) 中的悬浮液中加入固体氢氧化钠 (166g, 4.15mol)。中和反应放热, 5分钟后, 温度升至39℃, 形成完全溶液。形成的黄色溶液用四氢呋喃 (4.3L) 稀释, 然后加热至55℃。在1.5小时内, 向此溶液中加入二碳酸二叔丁酯 (1.32kg, 5.93mol) 的四氢呋喃 (500ml) 溶液。在此温度下加热18.5小时后, 混合物用水 (1.4L) 稀释, 真空 (40托) 除去溶液。残留的水溶液先用叔丁基甲基醚 (1 × 500ml) 洗涤, 然后与乙酸乙酯 (750ml) 混合。两相混合物小心地用硫酸氢铵溶液 (4.6N, 955ml) 酸化至 pH = 3。分离各层, 水层再用乙酸乙酯 (2 × 750ml) 萃取。合并有机层, 用硫酸氢钾溶液 (1.0N, 1 × 500ml)、水 (1 × 500ml) 和盐水 (2 × 300ml) 洗涤, 用无水硫酸镁 (60g) 干燥。过滤后, 溶液在真空 (40托) 浓缩至基本干燥。残留物在搅拌下倾入庚烷 (2.0L) 中, 然后用另外的庚烷 (2.0L) 稀释。在5℃静置过夜, 将产物过滤并用庚烷 (1.0L) 洗涤。干燥过夜 (40℃, 2托) 后, 得到 N-[(1, 1-二甲基乙氧基) 羰基] 4-环亮氨酸, 熔点128-130℃。

将 N-[(1, 1-二甲基乙氧基) 羰基] 环亮氨酸 (100g, 0.436mol) 溶于四氢呋喃 (1.0L) 中, 溶液在冰/盐浴中冷却至-9℃。在10分钟时间内向其中滴加三乙胺 (44.0g, 0.436mol)。然后在15分钟时间内加入氯甲酸异丁酯, 随即温度升至-5℃。搅拌30分钟后, 温度降至-13℃, 此时, 分批加入细碎的 L-酪氨酸乙酯单盐酸盐固体 (107g, 0.436mol)。在15分钟时间内向此悬浮液中

再加入三乙胺 (44.0g, 0.436mol), 温度升至 -3°C 。混合物在室温下搅拌过夜。然后过滤混合物, 用四氢呋喃 (1 × 150ml) 洗涤滤饼。滤液然后真空 (50°C , 40托) 浓缩至约410g, 并向其中加入四氢呋喃 (150ml) 以便于转移。向此浓缩液中加入庚烷 (800ml), 并在室温下搅拌该混合物过夜, 并过滤收集。滤饼用叔丁基甲基醚 (1 × 450ml) 洗涤, 并在室温、真空 (2托) 下干燥, 得到 N - [[1 - [[1, 1 - 二甲基乙氧基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - L - 酪氨酸乙酯, 熔点 $162-165^{\circ}\text{C}$ 。

将 N - [[1 - [[1, 1 - 二甲基乙氧基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - L - 酪氨酸乙酯 (2.00g, 4.76mmol) 悬浮于丙酮 (20ml) 中, 向其中加入无水、粉末碳酸钾 (325目, 1.31g, 9.52mmol)。悬浮液在室温下搅拌 15 分钟, 然后滴加硫酸二甲酯 (0.600g, 4.76mmol)。悬浮液回流 5 小时, 冷却至室温并过滤。滤饼用二氯甲烷 (5ml) 洗涤, 合并滤液, 蒸发, 残留物位于二氯甲烷层和水层之间。分离各层, 有机层用水和盐水洗涤, 用无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液在真空下蒸发, 得到粗产物, 用乙酸乙酯 / 庚烷 (1 : 1, 20ml) 结晶, 得到 N - [[1 - [[(1, 1 - 二甲基乙氧基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸乙酯, 为白色结晶固体, 熔点 $143-146^{\circ}\text{C}$ 。

b) 类似地由 N - [[1 - [[(1, 1 - 二甲基乙氧基) 羰基] 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基] - O - 甲基 - L - 酪氨酸乙酯 (如上所述) 制得 N - [[1 - [2 (S) - 乙酰基巯基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] 羰基 - O - 甲基 - L - 酪氨酸乙酯, 即实施例 1 (hh) 的化合物。

实施例 10

制备3000个各含10mg活性成分的胶囊,活性成分是例如N - [[1 - [2 - (S) - 乙酰基巯基 - 3 - 甲基 - 1 - 氧代丁基) 氨基] - 1 - 环戊基] - 羧基] - L - 酪氨酸乙酯。

活性成分	30.00g
乳 糖	750.00g
微晶纤维素	300.00g
聚乙烯吡咯烷酮	30.00g
纯化水	适 量
硬脂酸镁	9.0g

活性成分通过30号手筛。

将活性成分、乳糖、纤维素和聚乙烯吡咯烷酮在混合器中混合15分钟。混合物用足量的水(约500ml)制粒,在35℃的烘箱中干燥过夜,通过20号筛。

将硬脂酸镁通过20号筛,加入到颗粒混合物中,将混合物在混合器中混合5分钟。混合装入0号硬质明胶胶囊中,每个胶囊含相当于10mg活性成分的混合物。