



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I628158 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：105140946

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 12 月 09 日

(51)Int. Cl. : C07C233/47 (2006.01)

C07C67/343 (2006.01)

C07C69/738 (2006.01)

(30)優先權：2015/12/10 歐洲專利局

15199378.9

2016/11/14 歐洲專利局

16198655.9

(71)申請人：諾華公司(瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：科林貝克－雷尼克 佛羅里安 卡爾 KLEINBECK-RINIKER, FLORIAN KARL

(DE)；馬丁 班傑明 MARTIN, BENJAMIN (CH)；潘恩 葛赫德 PENN,

GERHARD (AT)；凡杜羅尼 法蘭西斯可 VENTURONI, FRANCESCO (IT)；許拉

瑪 蒂埃里 SCHLAMA, THIERRY (FR)；魯克 湯瑪士 RUCH, THOMAS (DE)；

艾爾梅丁哲 湯瑪士 ALLMENDINGER, THOMAS (DE)；威堤菲德 柏哈德

WIETFELD, BERNHARD (DE)；保羅 菲利波尼 PAOLO, FILIPPONI (IT)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 101684077A

CN 104557600A

WO 2008/031567A1

WO 2012/025502A1

審查人員：謝敏哲

申請專利範圍項數：15 項 圖式數：0 共 112 頁

(54)名稱

新穎方法及中間物

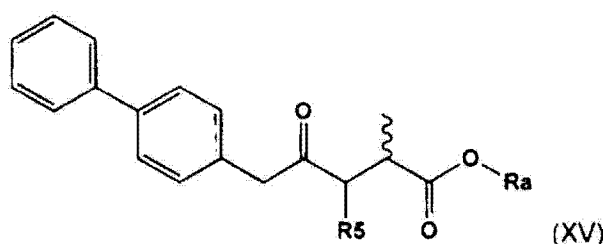
NEW PROCESS AND INTERMEDIATES

(57)摘要

本發明係關於可用於製備腦啡肽酶(neprilysin；NEP)抑制劑沙庫比曲(sacubitril)之新穎化學合成、中間物及觸媒。本發明進一步係關於新穎中間物化合物及其用於該新穎化學合成途徑之用途。

The present invention relates to a new chemical synthesis, intermediates and catalysts useful for the preparation of the neprilysin (NEP) inhibitor sacubitril. It further relates to new intermediate compounds and their use for said new chemical synthesis route.

特徵化學式：



【發明說明書】

【中文發明名稱】

新穎方法及中間物

【英文發明名稱】

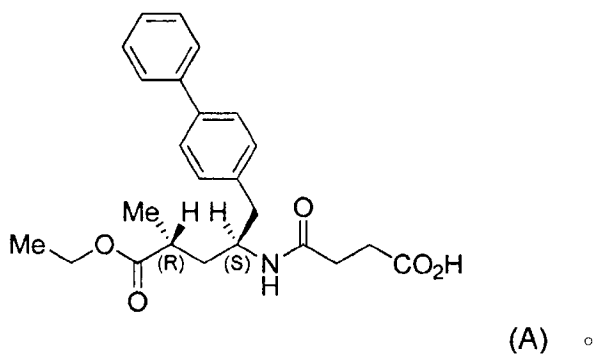
NEW PROCESS AND INTERMEDIATES

【技術領域】

本發明係關於可用於製備腦啡肽酶(neprilysin；NEP)抑制劑及其前藥之新穎化學合成途徑及中間物，具體而言係針對NEP抑制劑前藥沙庫比曲(sacubitril)。

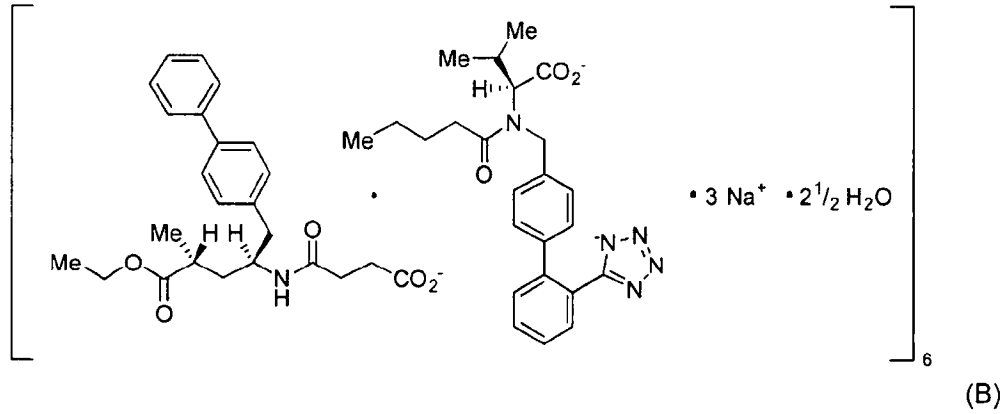
【先前技術】

NEP抑制劑前藥沙庫比曲(*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸乙基酯；IUPAC名稱4-{[(1*S*,3*R*)-1-([1,1'-聯苯]-4-基甲基)-4-乙氧基-3-甲基-4-側氧基丁基]胺基}-4-側氧基丁酸，亦稱為AHU377)由以下式(A)表示



沙庫比曲與巰沙坦(valsartan)(一種已知血管緊張素受體阻斷劑(angiotensin receptor blocker；ARB))會共同形成稱為LCZ696之鈉鹽水合物錯合物，該錯合物包含莫耳比分別為1:1:3:2.5之陰離子形式的沙庫比曲及巰沙坦、鈉陽離子及水分子(在固態晶體之不對稱單元晶胞中，比率

則為6:6:18:15)，且其示意性地以式(B)表示。



該錯合物亦由以下化學名稱提及：[3-((1*S*,3*R*)-1-聯苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基胺甲醯基)丙酸-(*S*)-3'-甲基-2'-(戊醯基{2''-(四唑-5-基)聯苯-4'-基甲基}胺基)丁酸]三鈉半五水合物，或六(4-{[(1*S*,3*R*)-1-([1,1'-聯苯]-4-基甲基)-4-乙氧基-3-甲基-4-側氧基丁基]胺基}-4-側氧基丁酸)六(*N*-戊醯基-*N*-{[2'-(1*H*-四唑-1-負離子-5-基)[1,1'-聯苯]-4-基]甲基}-*L*-纈胺酸)十八鈉-水(1/15)(IUPAC命名法)。

LCZ696 可充當血管緊張素受體腦啡肽酶抑制劑(angiotensin receptor neprilysin inhibitor；ARNI)且因此可具體地用於治療高血壓或慢性心臟衰竭。其效用業經臨床試驗(例如在landmark PARADIGM-HF試驗中)證實。

用於製備NEP抑制劑及其前藥，具體而言係沙庫比曲及其前體之化學合成途徑已在先前闡述，例如在Ksander等人*J. Med. Chem.* 1995, 38, 第1689頁至第1700頁中；在美國專利第5,217,996號中，在國際專利申請案 WO 2008/031567、WO 2008/083967、WO 2009/090251、WO 2010/081410、WO 2011/035569、WO 2011/088797、WO 2012/025501、WO 2012/025502、WO 2014/032627及WO 2016/135751中，及在最近公開之CN專利申請案(例如CN104557600A、

CN105152980A、CN105330569A、CN105601524A、CN105753741A、CN105884656A及CN105924355A及其他)中。

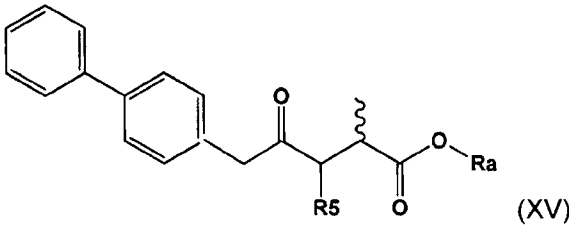
然而，業內仍需要設計用於合成沙庫比曲之化學方法，該化學方法適用於在經濟及環境有利的條件下工業規模生產且以高化學純度及高立體化學選擇性提供藥物物質。

【發明內容】

本發明係關於用於製造式(XV)，尤其係下文所表示之(XV-a)之化合物之新穎中間物及方法步驟及方法，及其在製造沙庫比曲中之其他用途。

在**第一態樣**中，本發明提供以下新穎化合物：

式(XV)化合物或其鹽

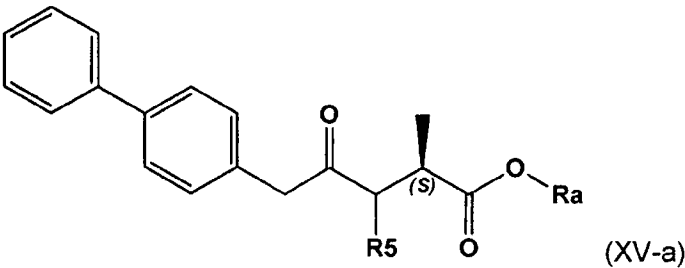


其中

R5選自氫及基團-CO-OR*，且

Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

在本發明之一個實施例中，式(XV)化合物係由具有以下立體化學之式(XV-a)表示，

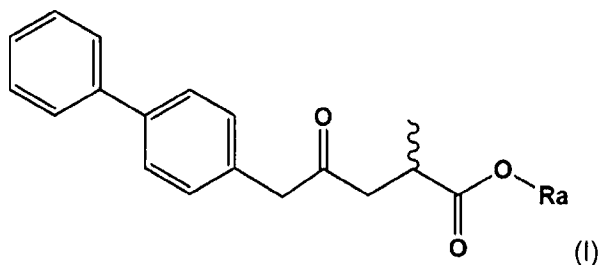


其中

R5選自氫及基團-CO-OR*，且

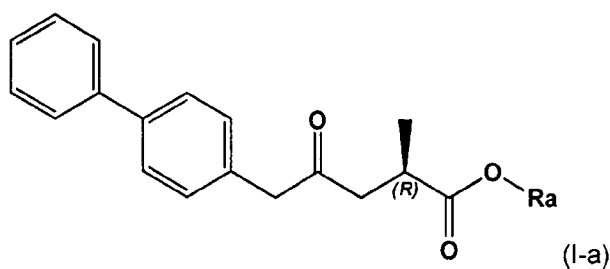
Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

在本發明之一個實施例中，式(XV)化合物係式(I)化合物或其鹽；



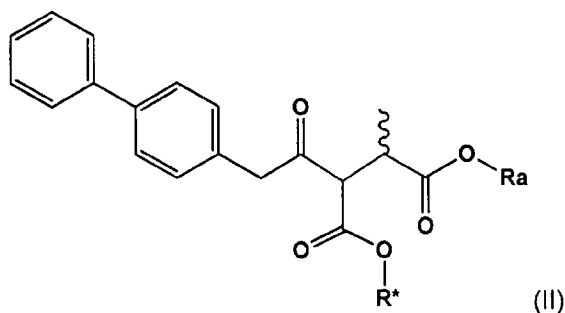
其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

在本發明之一個實施例中，式(I)化合物係由具有以下立體化學之式(I-a)表示，



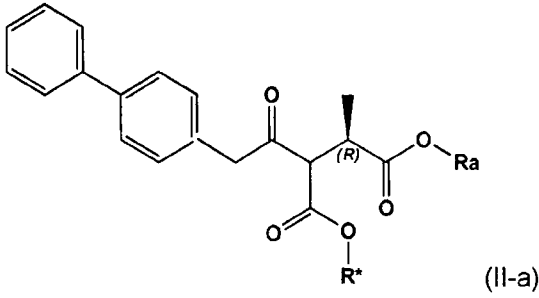
其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

在本發明之一個實施例中，式(XV)化合物係式(II)化合物或其鹽；



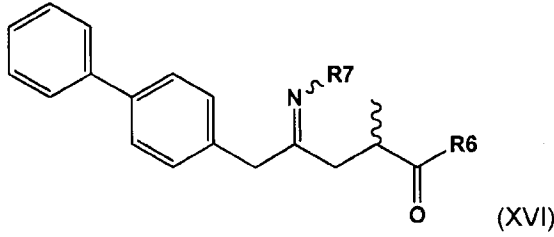
其中Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

在本發明之一個實施例中，式(II)化合物係由具有以下立體化學之式(II-a)表示，



其中Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

式(XVI)化合物或其鹽



其中

R₆係-O-Ra，且R₇選自

- -S(=O)-R_b
- -OH
- A，其中A係-O-C(=O)-R_c或-O-R_d

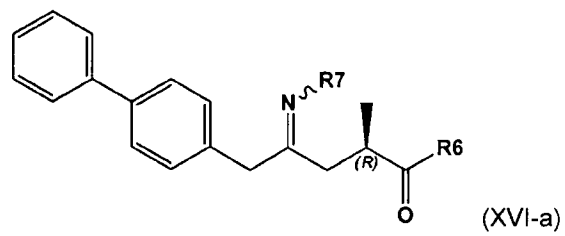
其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且

R_b、R_c及R_d獨立地選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-

烷基，或

R6及R7共同表示-O-或形成鍵。

在本發明之一個實施例中，式(XVI)化合物係由具有以下立體化學之式(XVI-a)表示，



其中

R6係-O-Ra，且R7選自

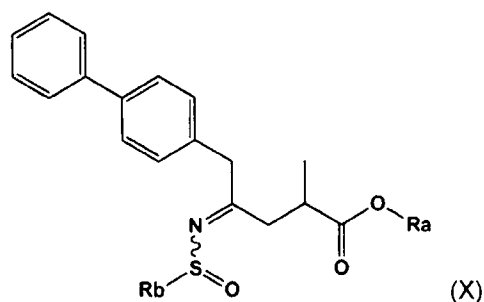
- -S(=O)-Rb
- -OH，及
- A，其中A係-O-C(=O)-Rc或-O-Rd

其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且

Rb、Rc及Rd獨立地選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基，或

R6及R7共同表示-O-或形成鍵。

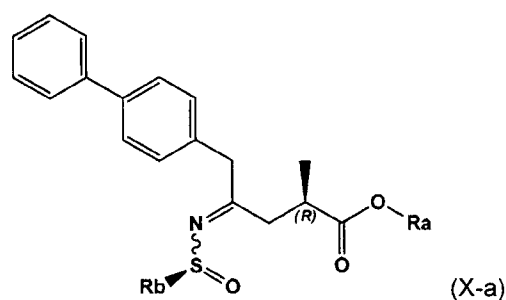
在本發明之實施例A中，式(XVI)化合物係**式(X)化合物或其鹽**



其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且

Rb選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基。

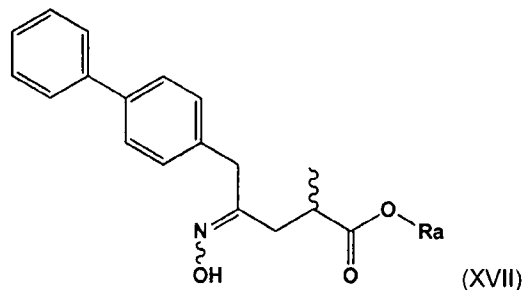
在本發明之一個實施例中，式(X)化合物係由具有以下立體化學之式(X-a)表示，



其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Rb選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以

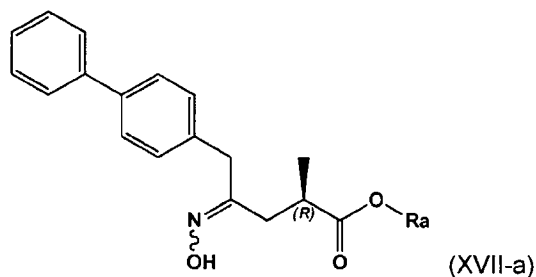
下之取代基取代：鹵基、 C_1 - C_7 -烷基、鹵基- C_1 - C_7 -烷基及 C_1 - C_7 -烷氧基、鹵基- C_1 - C_7 -烷氧基及 C_1 - C_7 -烷氧基- C_1 - C_7 -烷基。

在本發明之實施例B中，式(XVI)化合物係**式(XVII)化合物**或其鹽



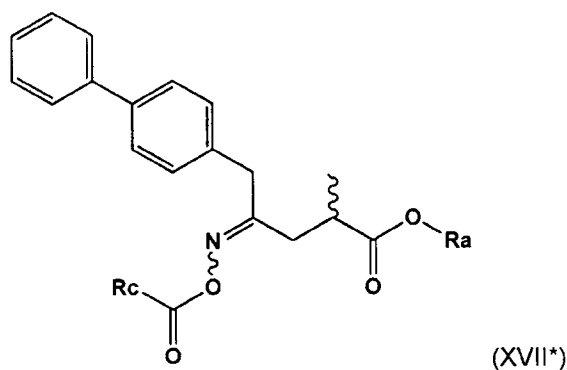
其中Ra選自氫、羧基保護基團及 C_1 - C_6 -烷基，較佳係乙基。

在本發明之一個實施例中，式(XVII)化合物係由具有以下立體化學之式(XVII-a)表示，



其中Ra選自氫、羧基保護基團及 C_1 - C_6 -烷基，較佳係乙基。

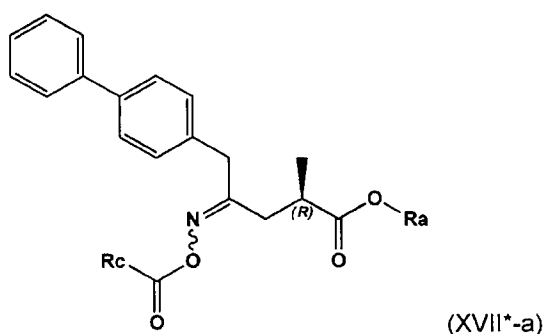
在本發明之實施例C中，式(XVI)化合物係**式(XVII*)化合物**或其鹽



其中Ra選自氫、羧基保護基團及 C_1 - C_6 -烷基，較佳係乙基，且Rc選自 C_1 - C_6 -烷基、 C_6 - C_{10} -芳基、 C_6 - C_{10} -芳基- C_1 - C_6 -烷基、 C_3 - C_8 -環烷基、 C_3 - C_8 -環烷基- C_1 - C_6 -烷基、雜環基或雜環基- C_1 - C_6 -烷基，其中該雜環基

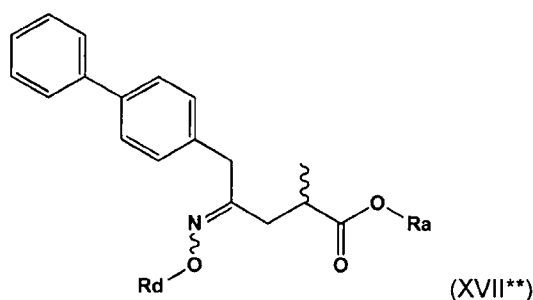
係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基。

在本發明之一個實施例中，式(XVII*)化合物係由具有以下立體化學之式(XVII*-a)表示，



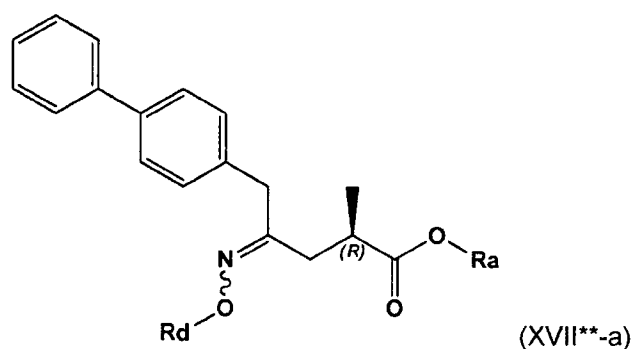
其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Rc選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基。

在本發明之實施例D中，式(XVI)化合物係式(XVII**)化合物或其鹽



其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Rd選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基。

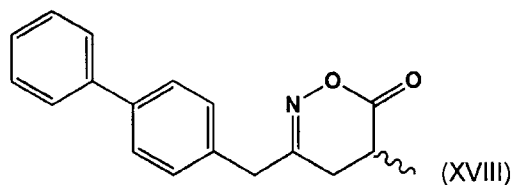
在本發明之一個實施例中，式(XVII**)化合物係由具有以下立體化學之式(XVII**-a)表示，



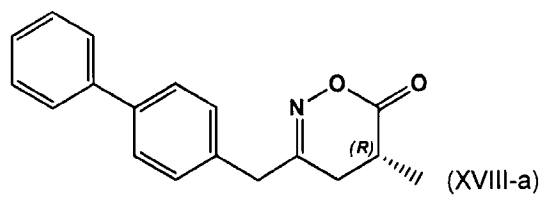
其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Rd選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系

統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基。

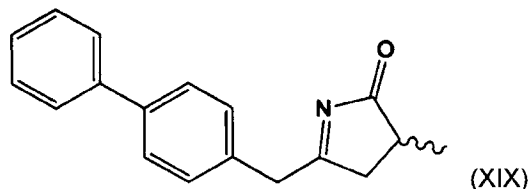
在本發明之實施例E中，式(XVI)化合物係**式(XVIII)化合物**或其鹽



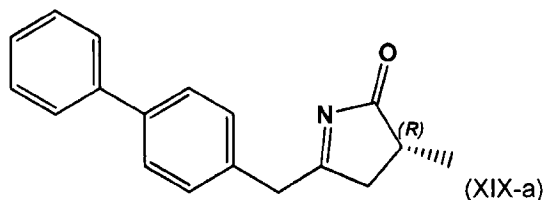
在本發明之一個實施例中，式(XVIII)化合物係由具有以下立體化學之式(XVIII-a)表示，



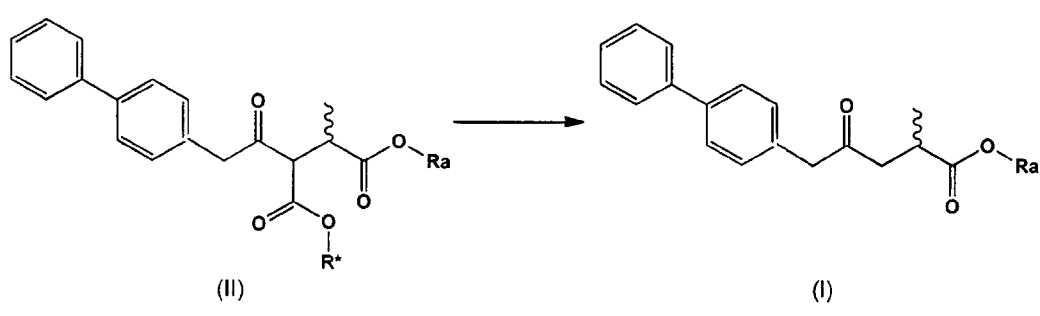
在本發明之實施例F中，式(XVI)化合物係**式(XIX)化合物**或其鹽



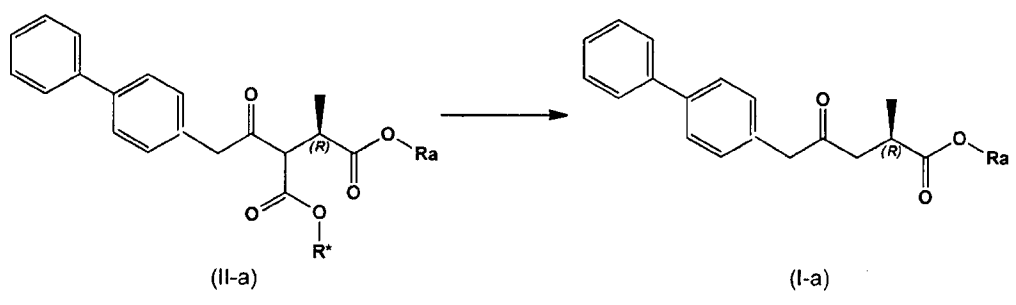
在本發明之一個實施例中，式(XIXI)化合物係由具有以下立體化學之式(XIXI-a)表示，



在**第二態樣**中，本發明提供用於**製造式(I)**，具體而言係式(I-a)之新穎化合物或其鹽之**新穎方法**。此方法包含經由新穎中間物化合物之若干步驟且分別繪示於以下方案1至4中，其中相應方案1、2、3或3*中所繪示之每一方法表示本發明之單獨實施例。



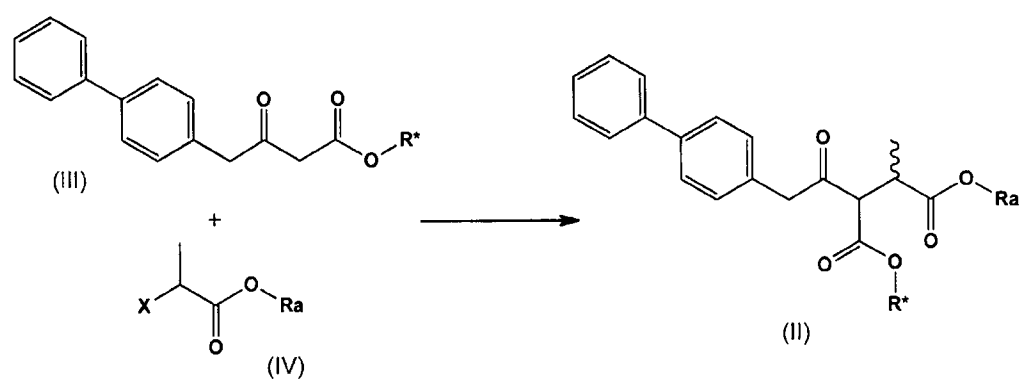
方案1



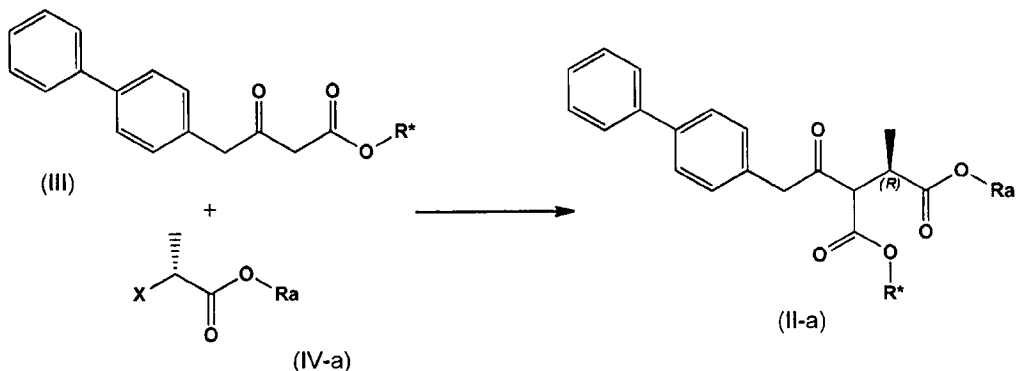
方案1-a

方案1及方案1-a繪示包含以下之方法：使式(II)，較佳係式(II-a)之新穎中間物化合物或其鹽，其中Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，在(若需要)去保護反應條件、隨後去羧反應條件下反應，及視情況藉由引入選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基之部分Ra (若需要或期望，例如若在去保護期間裂解掉Ra)，得到式(I)，較佳係式(I-a)之化合物或其鹽，其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。若R*及Ra不同且Ra已為C₁-C₆-烷基，尤其乙基，則可僅選擇性地裂解掉R* (例如第三丁基)，而在相同條件下C₁-C₆-烷基(例如乙基)保持結合。若期望(且方案1中並未明確揭示)，此可隨後將式(I)，尤其(I-a)之化合物利用(例如)酸轉化成鹽。

在一個實施例中，式(II)化合物可根據如以下方案2及2-a中所繪示之反應獲得：



方案2

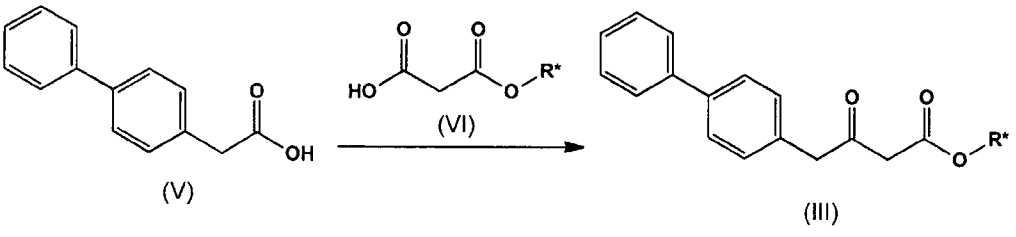


方案2-a

方案2及方案2-a均繪示包含以下之方法：使式(III)化合物與式(IV)，較佳係式(IV-a)之丙酸酯衍生物反應，其中X係脫離基且Ra選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，以獲得式(II)，較佳係式(II-a)之化合物，其中Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

若期望(且方案2中未明確揭示)，此可包括利用選自氫及C₁-C₆-烷基之基團替代羧基保護基團R*及Ra，得到式(II)化合物。

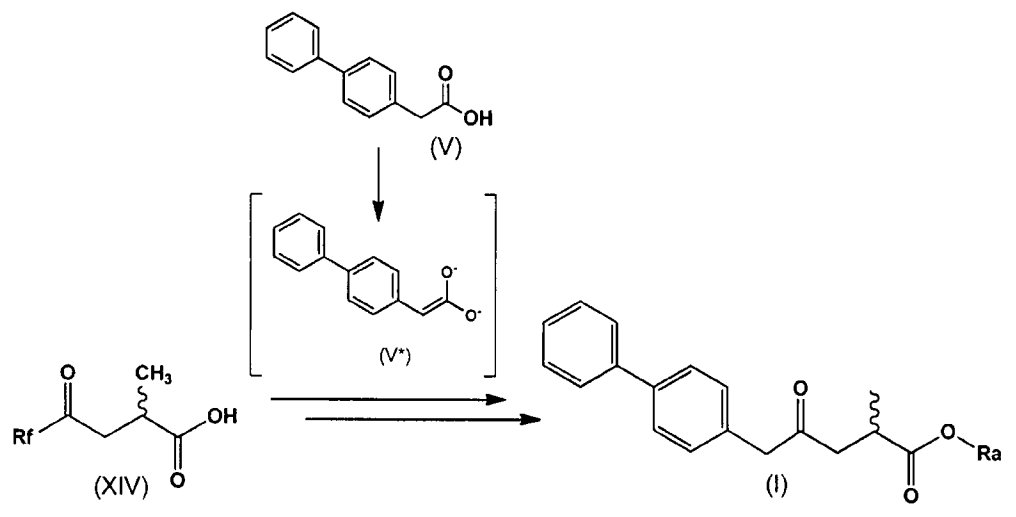
在一個實施例中，式(III)化合物可根據如以下方案3中所繪示之反應獲得：



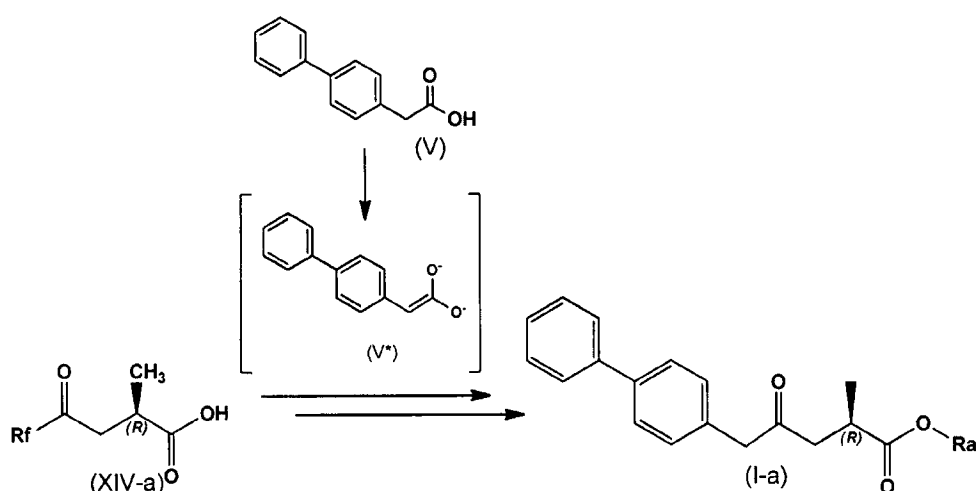
方案3

方案3繪示包含以下之方法：使式(V)化合物或其反應性衍生物與式(VI)之丙二酸半酯之鹽反應，其中R*選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，以獲得式(III)化合物。

作為如上文方案1至3中所繪示之方法之替代，**式(I)**，具體而言式(I-a)之**新穎化合物**或其鹽亦可藉由如以下方案3*或3*-a中所繪示之方法獲得，該方案亦表示本發明之單獨實施例。



方案3*



方案3*-a

方案3*及方案3*-a繪示包含以下之方法：使式(XIV)，較佳係式(XIV-a)之中間物化合物或其鹽，其中Rf選自基團-O-R*，其中R*選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳甲基；-N(CH₃)-O(CH₃)、嗎啉基及咪唑啉基，與式(V)化合物或其鹽之原位製備之經活化二陰離子衍生物(即式(V*)化合物)在鹼存在下反應，且隨後進行去羧反應，以獲得式(I)化合物或其鹽，其中Ra係氫。式XIV化合物在業內已知。若需要或期望，可使所獲得之式(I)化合物或其鹽(其中Ra係氫)與引入羧基保護基團之試劑反應，得到式(I)化合物，其中Ra係羧基保護基團，或

使所獲得之式(I)化合物或其鹽(其中Ra係氫)與偶合劑在C₁-C₆-烷醇，尤其係乙醇存在下反應，得到式(I)化合物，其中Ra係C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

在一個實施例中，在方案3及3*中用作起始化合物之式(V)化合物可根據如以下方案4中所繪示之反應獲得：



方案4

方案4繪示包含水解式(VII)之氰化物化合物以獲得式(V)化合物之方法。

在較佳實施例中，如上文方案1至4中所繪示之反應係一個步驟接一個步驟地依序實施：

方案4 -> 方案3 -> 方案2 -> 方案1，或

方案4 -> 方案3*。

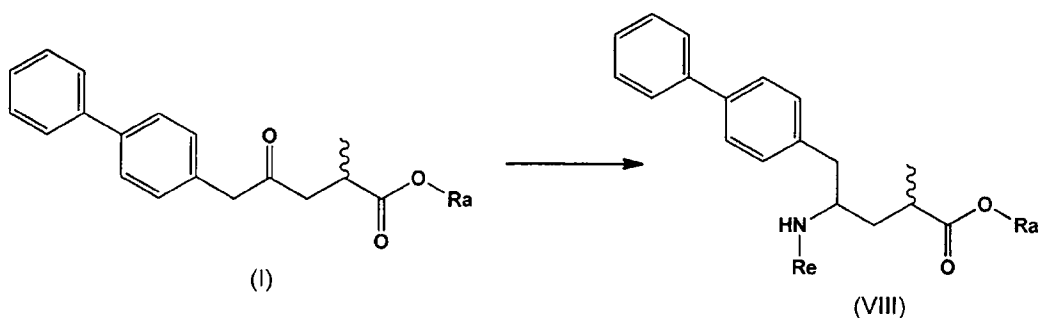
在另一實施例中，反應順序始於方案3：

方案3 -> 方案2 -> 方案1。

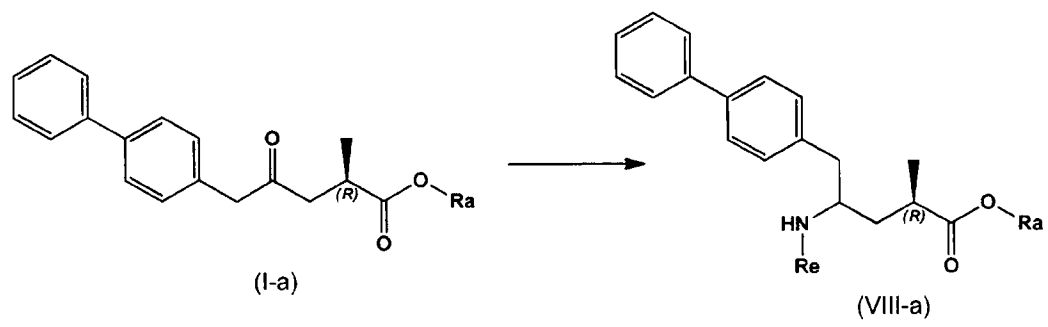
在另一實施例中，反應順序始於方案2：

方案2 -> 方案1。

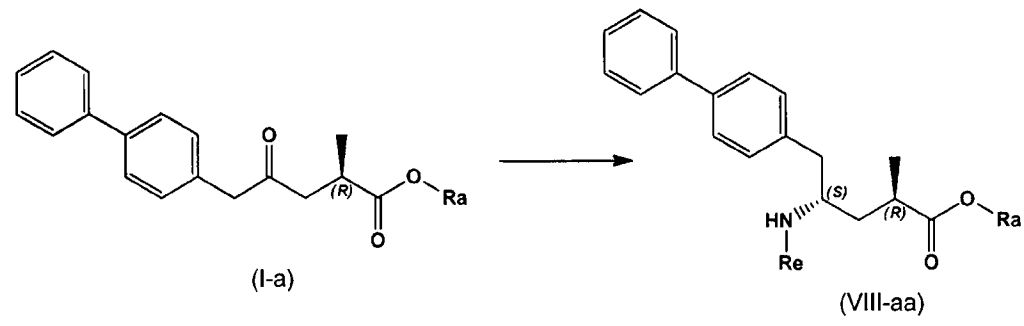
在**第三態樣**中，本發明提供藉由各種反應**製造式(VIII)**，具體而言係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之**化合物或其鹽之新穎方法**，如下文所繪示且如本文所定義，該等反應皆始於式(I)，具體而言係式(I-a)之新穎化合物或其鹽，如本文所定義。總體反應繪示於以下方案5、5-a及5-aa中：



方案5



方案5-a



方案5-aa

此反應可藉由以下方案6至10中分別繪示之各種反應達成，其中於每一方案5、6、7、8、9及10中繪示之方法表示本發明之單獨、替代之實施例。

在一個實施例中，可根據如上文方案5、5-A及5-aa中所繪示之反應(「與氨、一級胺或二級胺或其鹽反應」)(因此未單獨顯示)將新穎式(I)化合物轉化為式(VIII)化合物。

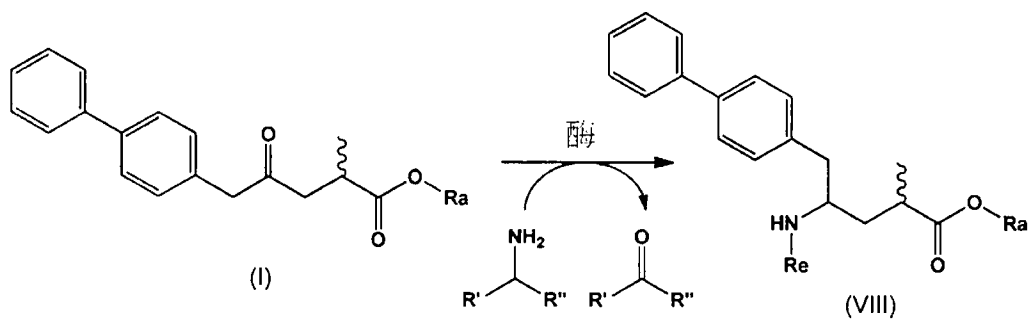
在此實施例中，方案5、5-a及5-aa繪示包含以下之方法：使式(I)化合物，較佳係式(I-a)之新穎中間物或其鹽(其中Ra係氫)與氨、一級胺或二級胺或其鹽反應，及視情況裂解掉胺之任何不期望之取代基，得到式(VIII)，具體而言係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra及Re係氫，或若一級胺具有式NH₂-Re，且Re為氮保護基團，則得到式(VIII)，具體而言係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係氫且Re係氮保護基團，及

視情況使所獲得之式(VIII)，具體而言係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽(其中Ra及Re係氫)與引入胺基保護基團之試劑反應，得到式(VIII)，具體而言係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物，其中Ra係氫，且Re係氮保護基團，及/或

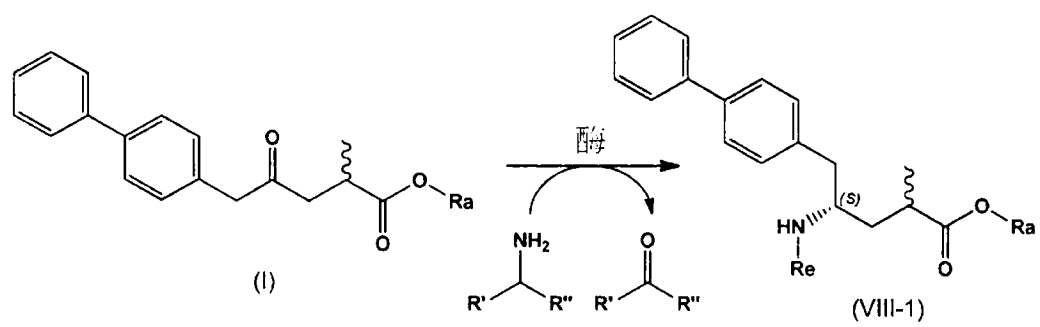
視情況隨後使式(VIII)，具體而言係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物之視情況胺基保護之類似物與偶合劑在C₁-C₆-烷醇，尤其係乙醇存在下反應，得到式(VIII)，具體而言係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫或氮保護基團。

在方案5、5-a或5-aa之一個實施例中，式(I)化合物係藉由如方案1中所繪示之方法(視情況包括如方案2至4中所繪示之反應步驟)或藉由如方案3*中所繪示之方法(視情況包括如方案4中所繪示之反應步驟)獲得。

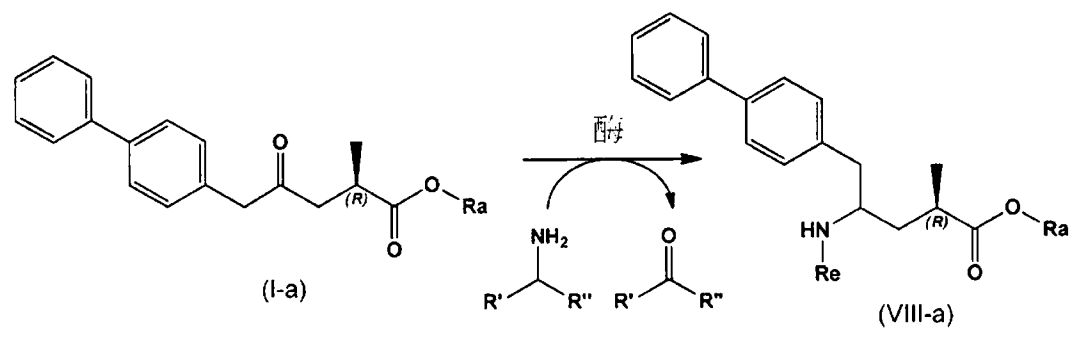
在一個實施例中，可根據如以下方案6、6-1、6-a及6-aa中所繪示之反應(「使用胺基轉移酶反應」)將新穎式(I)化合物轉化為式(VIII)化合物：



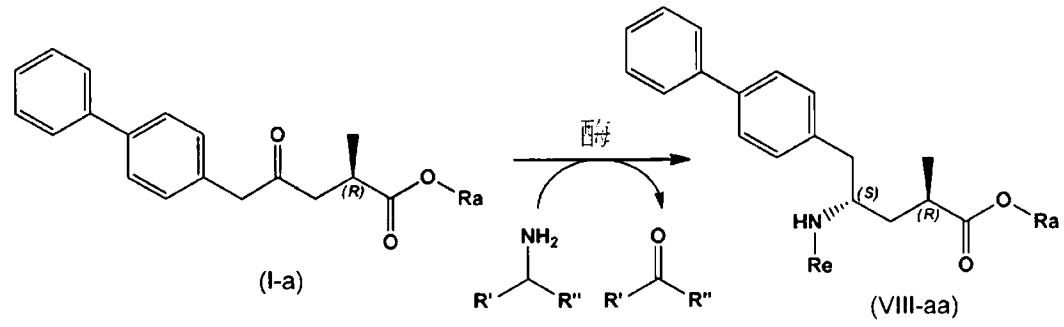
方案6



方案6-1



方案6-a



方案6-aa

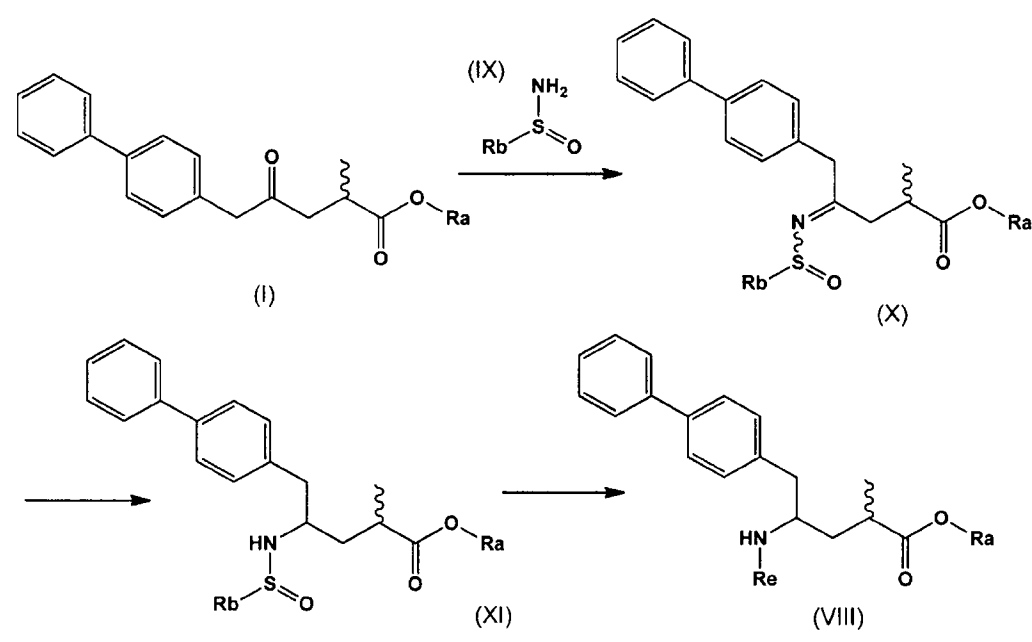
方案6、6-1、6-a及6-aa (「使用胺基轉移酶反應」)繪示包含以下之方法：藉由使式(I)或式(I-a)之新穎中間物化合物或其鹽(其中Ra選自氫及C₁-C₆-烷基，較佳氫)與(S)-選擇性ω-胺基轉移酶在通式R'R''CH-NH₂之胺供體及輔酶存在下接觸，將其轉化為式(VIII)，較佳係式(VIII-1)或式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物，其中Ra選自氫及C₁-C₆-烷基，較佳氫，且Re係氫或其鹽，其中式(I)化合物至式(VIII)，較佳係式(VIII-1)之化合物之轉化率，具體而言式(I-a)化合物至式(VIII-a)，較佳係式(VIII-aa)之化合物之轉化率大於50%。

此後視情況使所獲得之式(VIII)，具體而言係式(VIII-a)或式(VIII-a)，較佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽(其中Ra及Re係氫)與引入胺基保護基團之試劑反應，得到式(VIII)，具體而言係式(VIII-1)或式(VIII-a)，較佳係式(VIII-aa)之化合物，其中Ra係氫，且Re係氮保護基團。

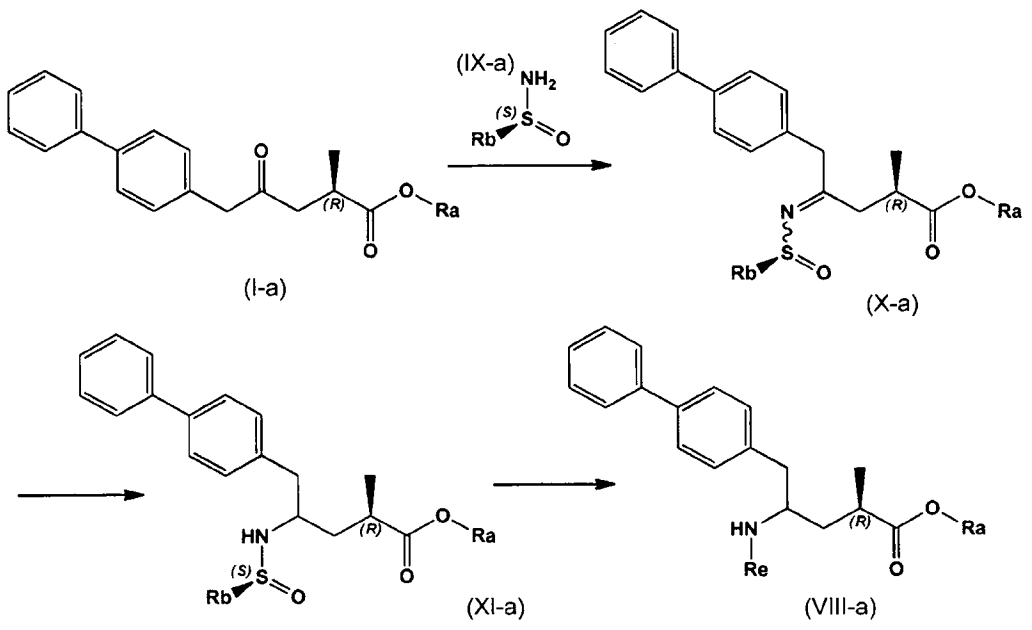
隨後或替代，視情況使式(VIII)，具體而言係式(VIII-1)或式(VIII-a)，較佳係式(VIII-aa)之化合物之視情況胺基保護之類似物(其中Ra係氫)與偶合劑在C₁-C₆-烷醇，尤其係乙醇存在下反應，得到式(VIII)，具體而言係式(VIII-1)或式(VIII-a)，較佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫或氮保護基團。

在方案6、6-1、6-a或6-aa之一個實施例中，式(I)化合物係藉由如方案1中所繪示之方法(視情況包括如方案2、2至3或2至4中所繪示之反應步驟)或藉由如方案3*中所繪示之方法(視情況包括如方案4中所繪示之反應步驟)獲得。

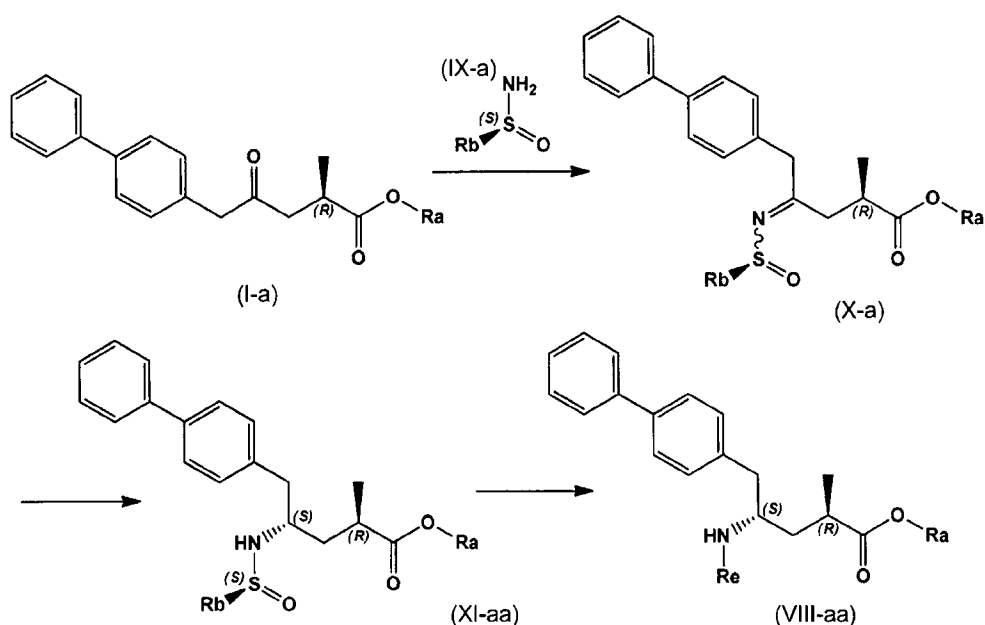
在一個實施例中，可根據如以下方案7、7-a及7-aa中所繪示之反應(「經由式(X)之新穎亞磺醯亞胺(sulfinimide)化合物反應」)將新穎式(I)化合物轉化為式(VIII)化合物：



方案7



方案7-a



方案7-aa

方案7、7-a及7-aa繪示包含以下之方法：使式(I)化合物，較佳係式(I-a)之新穎中間物或其鹽(其中Ra選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基)與式(IX)，尤其式(IX-a)之胺基亞磺醯基化合物或其鹽(其中Rb選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基)反應，得到式(X)，較佳係式(X-a)之亞磺醯亞胺化合物或其鹽，其中Rb選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S(=O)₂-之雜原子之單環

或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、 C_1 - C_7 -烷基、鹵基- C_1 - C_7 -烷基及 C_1 - C_7 -烷氧基、鹵基- C_1 - C_7 -烷氧基及 C_1 - C_7 -烷氧基- C_1 - C_7 -烷基且Ra選自羧基保護基團及 C_1 - C_6 -烷基，較佳係乙基，

然後在還原劑存在下還原所獲得之式(X)，較佳係式(X-a)之化合物或其鹽，得到式(XI)，較佳係式(XI-a)，更佳係式(XI-aa)之亞磺醯胺化合物或其鹽，其中Rb選自 C_1 - C_6 -烷基、 C_6 - C_{10} -芳基、 C_6 - C_{10} -芳基- C_1 - C_6 -烷基、 C_3 - C_8 -環烷基、 C_3 - C_8 -環烷基- C_1 - C_6 -烷基、雜環基或雜環基- C_1 - C_6 -烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、 $S(=O)$ -或 $S(=O)_2$ -之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、 C_1 - C_7 -烷基、鹵基- C_1 - C_7 -烷基及 C_1 - C_7 -烷氧基、鹵基- C_1 - C_7 -烷氧基及 C_1 - C_7 -烷氧基- C_1 - C_7 -烷基，且Ra選自羧基保護基團及 C_1 - C_6 -烷基，較佳係乙基，

然後藉由在酸存在下水解磺醯胺基團使所獲得之式(XI)，較佳係式(XI-a)，更佳係式(XI-aa)之亞磺醯胺化合物或其鹽反應，得到式(VIII)，具體而言係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra選自羧基保護基團及 C_1 - C_6 -烷基，較佳係乙基，且Re係氫，及

視情況去除所獲得之式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽之任一羧基保護基團，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係氫且Re係氫，及/或

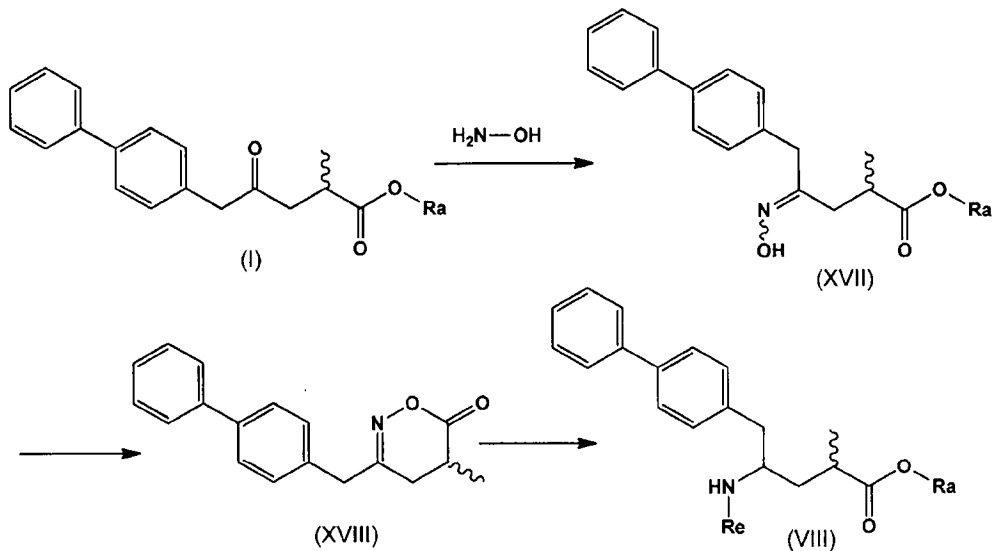
視情況使所獲得之式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)

之化合物或其鹽(其中Re係氫)與引入胺基保護基團之試劑反應，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係氫，且Re係氮保護基團，

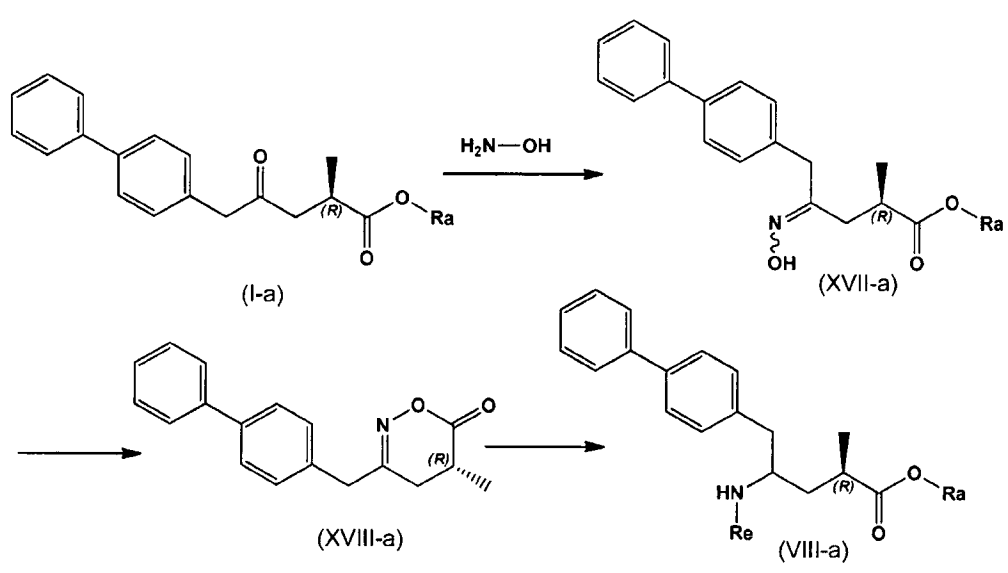
視情況隨後使式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽之視情況胺基保護之類似物與偶合劑在C₁-C₆-烷醇，尤其係乙醇存在下反應，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫或氮保護基團。

在方案7、7-a或7-aa之一個實施例中，式(I)化合物係藉由如方案1中所繪示之方法(視情況包括如方案2至4中所繪示之反應步驟)或藉由如方案3*中所繪示之方法(視情況包括如方案4中所繪示之反應步驟)獲得。

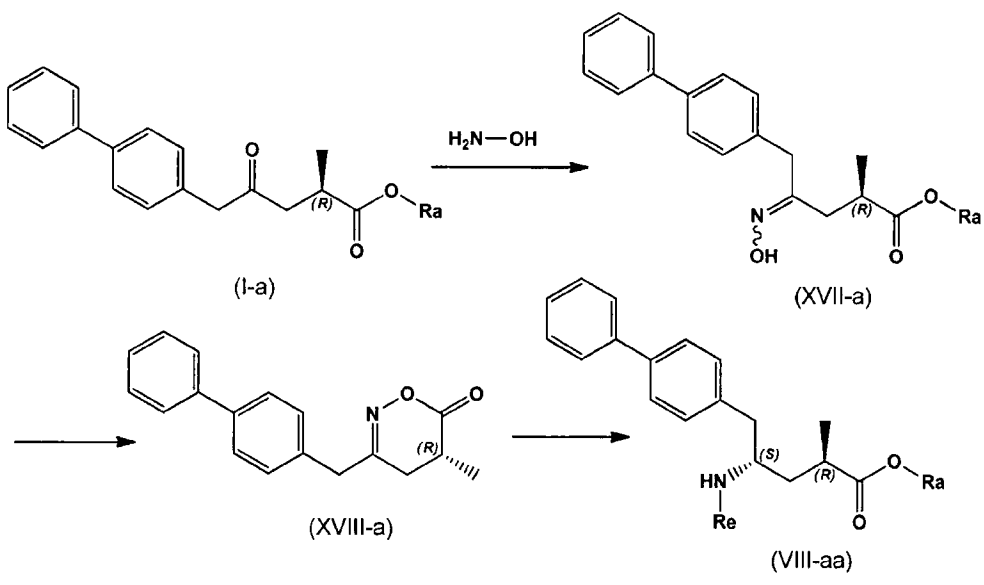
在另一實施例中，可根據如以下方案8、8-a及8-aa中所繪示之反應(「經由式(XVII)及式(XVIII)之新穎化合物與經基胺反應」)將新穎式(I)化合物轉化為式(VIII)化合物：



方案8



方案8-A



方案8-AA

方案8、8-A及8-AA繪示包含以下之方法：使式(I)化合物，較佳係式(I-a)之新穎中間物或其鹽(其中Ra係氫)與羥基胺或其鹽反應，得到式(XVII)，較佳係式(XVII-a)之化合物或其鹽，其中Ra係氫，

隨後環化所獲得之式(XVII)，較佳係式(XVII-a)之化合物或其鹽，得到式(XVIII)，較佳係式(XVIII-a)之相應化合物或其鹽，

然後在還原劑存在下還原所獲得之式(XVIII)，較佳係式(XVIII-a)之化合物或其鹽，以獲得式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之

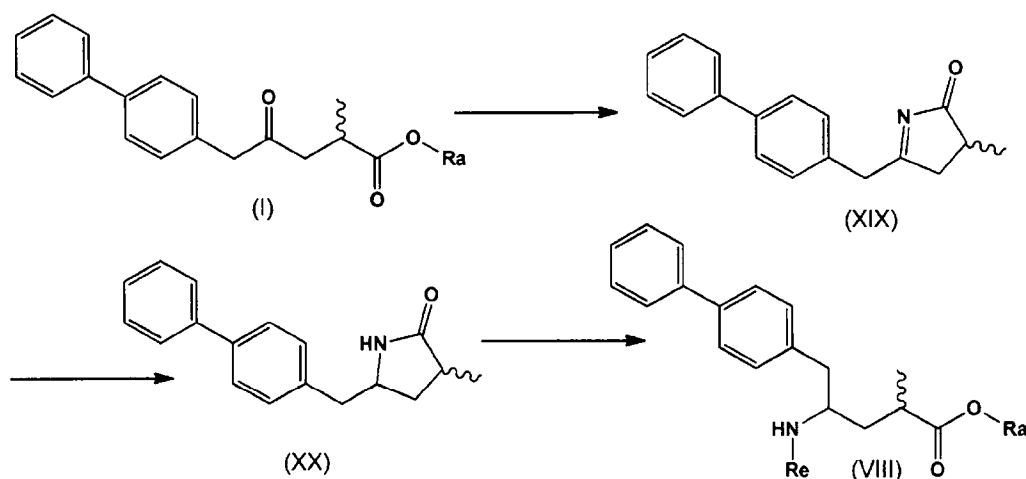
化合物或其鹽，其中Ra及Re均為氫，及

視情況使所獲得之式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽(其中Ra及Re係氫)與引入胺基保護基團之試劑反應，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係氫，且Re係氮保護基團，

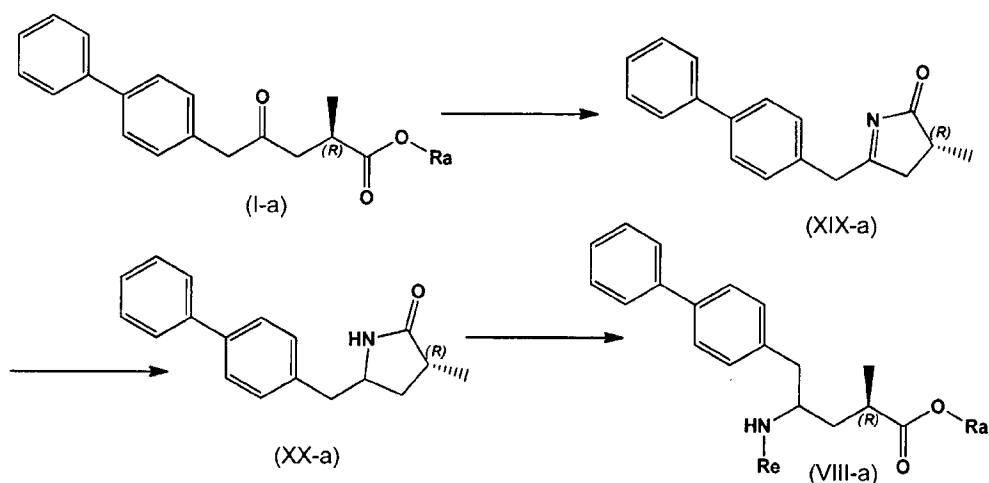
視情況隨後使式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽之胺基保護之類似物與偶合劑在C₁-C₆-烷醇，尤其係乙醇存在下反應，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫或氮保護基團。

在方案8、8-A或8-AA之一個實施例中，式(I)化合物係藉由如方案1中所繪示之方法(視情況包括如方案2至4中所繪示之反應步驟)或藉由如方案3*中所繪示之方法(視情況包括如方案4中所繪示之反應步驟)獲得。

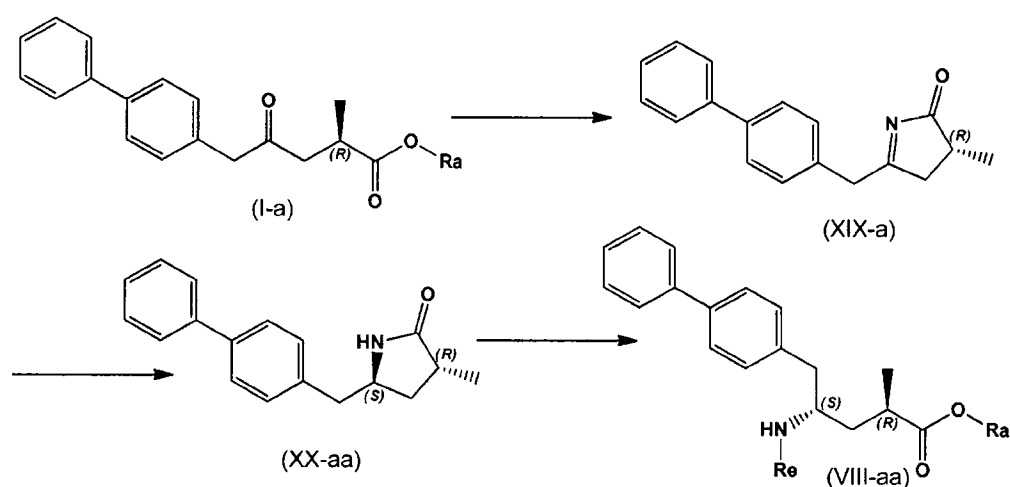
在另一實施例中，可根據如以下方案9、9-a及9-aa中所繪示之反應(「經由式(XIX)及(XX)之新穎化合物與氨或胺反應)將新穎式(I)化合物轉化為式(VIII)化合物：



方案9



方案9-a



方案9-aa

方案9、9-a及9-aa繪示包含以下之方法：使式(I)化合物，較佳係式(I-a)之新穎中間物或其鹽(其中Ra係氫)與氨或銨鹽反應，得到式(XIX)，較佳係式(XIX-a)之化合物或其鹽，

利用還原劑還原所獲得之式(XIX)，尤其(XIX-a)之化合物，得到式(XX)，較佳係式(XX-a)，更佳係式(XX-aa)之內醯胺化合物或其鹽，及

使所獲得之式(XX)化合物在開環條件下視情況在C₁-C₇-醇存在下反應，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra選自氫及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫，

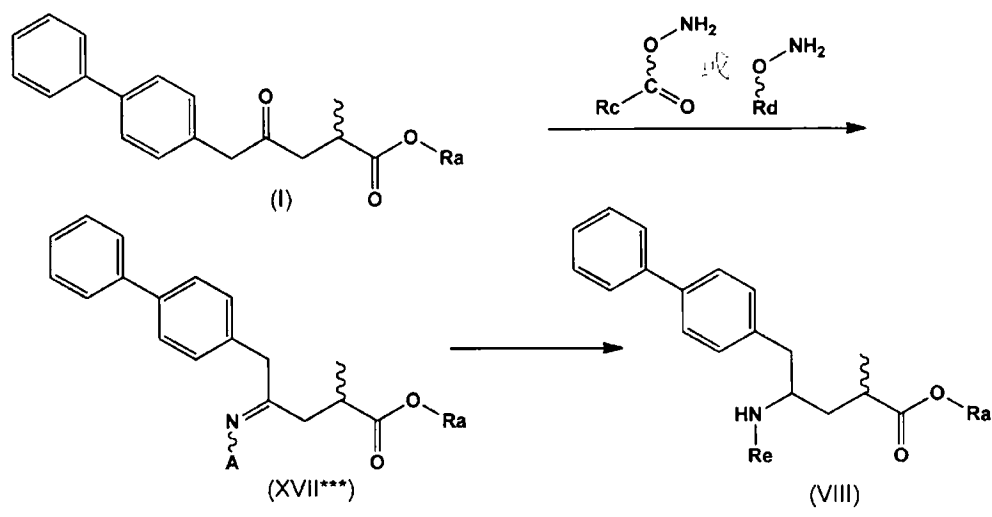
視情況使所獲得之式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)

之化合物或其鹽(其中Ra及Re係氫)與引入胺基保護基團之試劑反應，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物，其中Ra係氫，且Re係氮保護基團，

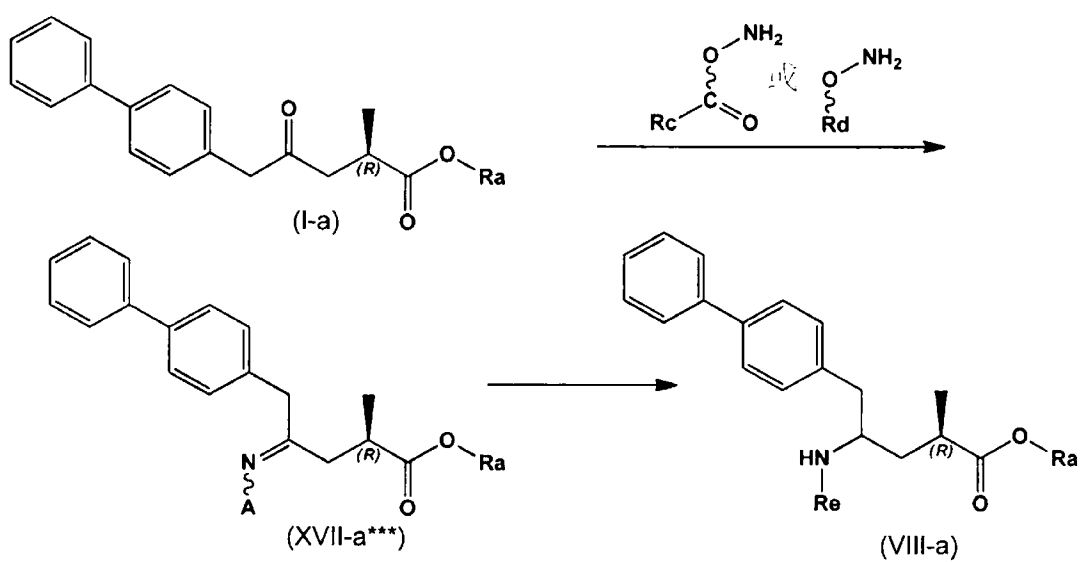
視情況隨後使式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽之胺基保護之類似物與偶合劑在C₁-C₆-烷醇，尤其係乙醇存在下反應，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫或氮保護基團。

在方案9、9-a或9-aa之一個實施例中，式(I)化合物係藉由如方案1中所繪示之方法(視情況包括如方案2至4中所繪示之反應步驟)或藉由如方案3*中所繪示之方法(視情況包括如方案4中所繪示之反應步驟)獲得。

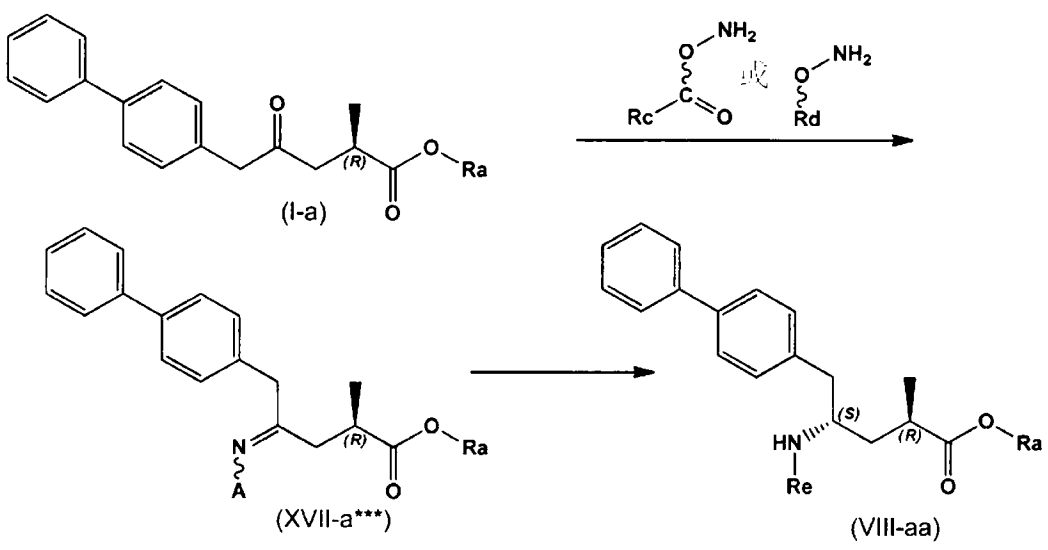
在一個實施例中，可根據如以下方案10、10-a及10-aa中所繪示之反應(「經由式(XVII***)，尤其式(XVII*)及式(XVII**)之新穎化合物與O取代之羥基胺反應」)將新穎式(I)化合物轉化為式(VIII)化合物：



方案10

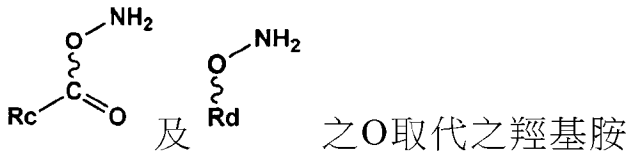


方案10-a



方案10-aa

方案10、10-a及10-aa繪示包含以下之方法：使式(I)化合物，較佳係式(I-a)之新穎中間物或其鹽(其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基)與選自



或在每一情形下其鹽進行反應，其中Rc及Rd獨立地選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-

C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基，

以得到式(XVII***)，較佳係式(XVII***-a)之化合物或其鹽，其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且A係-O-C(=O)-Rc或-O-Rd，其中Rc及Rd獨立地選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基，

還原所獲得之式(XVII***)，較佳係式(XVII***-a)之化合物或其鹽，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫，及

視情況去除所獲得之式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽之任一羧基保護基團，及/或

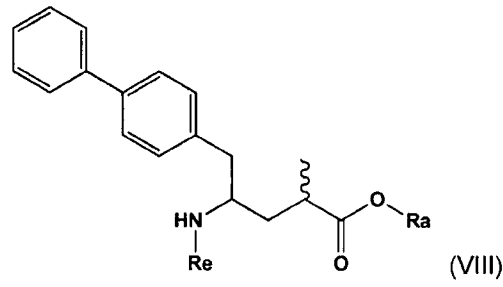
視情況使所獲得之式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)

之化合物或其鹽(其中Re係氫)與引入胺基保護基團之試劑反應，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係氫，且Re係氮保護基團，

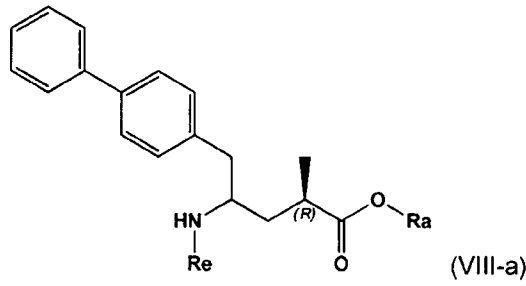
視情況隨後使式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽之胺基保護之類似物與偶合劑在C₁-C₆-烷醇，尤其係乙醇存在下反應，得到式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽，其中Ra係C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫或氮保護基團。

在方案9、9-a或9-aa之一個實施例中，式(I)化合物係藉由如方案1中所繪示之方法(視情況包括如方案2至4中所繪示之反應步驟)或藉由如方案3*中所繪示之方法(視情況包括如方案4中所繪示之反應步驟)獲得。

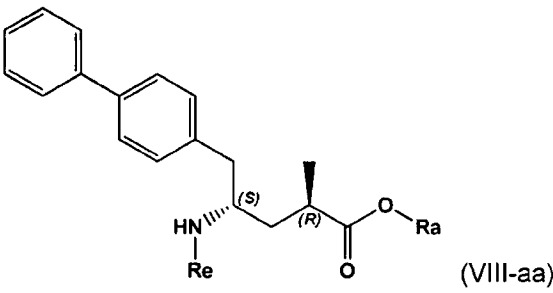
在另一實施例中，藉由以下來繼續如方案5至10中所繪示之方法：藉由以下將所獲得之式(VIII)化合物或其鹽



較佳式(VIII-a)化合物或其鹽

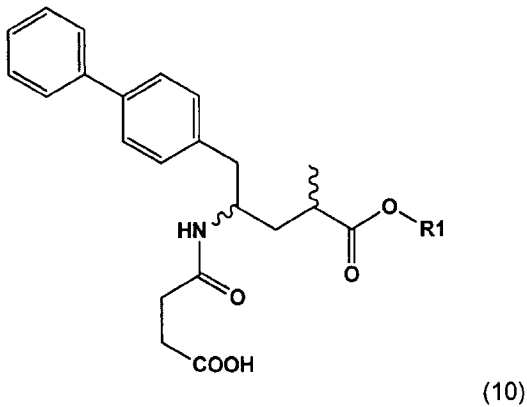


更佳式(VIII-aa)化合物或其鹽

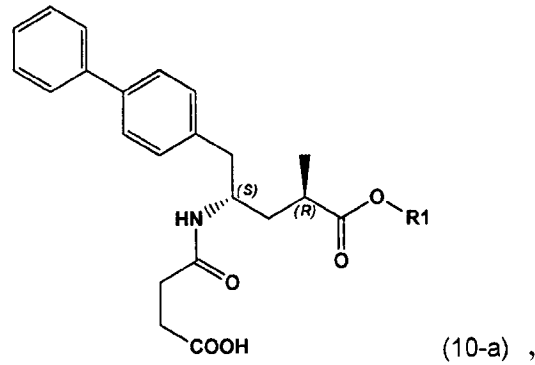


其中Ra選自氫及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re選自氫及氮保護基團，

轉變為式(10)化合物



較佳式(10-a)化合物



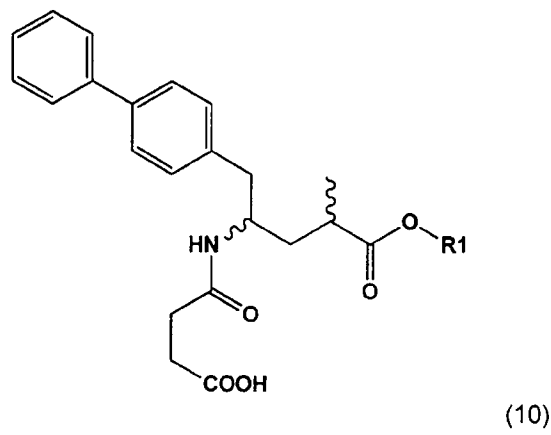
其中R1係氫或C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，具體而言轉變為化合物N-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸或其鹽，或N-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸乙基酯或其鹽：

若存在任一氮保護基團Re，視情況去除，

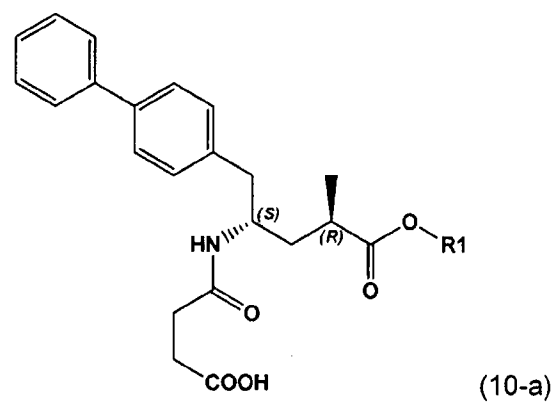
視情況使所獲得之式(VIII)化合物(其中Ra及Re係氫)與偶合劑在C₁-C₆-烷醇，較佳係乙醇存在下進行反應，以得到式(VIII)化合物(其中Ra選自C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫)，且

使式(VIII)化合物(其中Ra選自氫及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，且Re係氫)與琥珀酸酐反應。

在**第四**態樣中，本發明提供如上文所繪示之式(XV)，具體而言係式(I)或(II)之新穎化合物、式(XVI)、具體而言式(X)、(XVII)、(XVII*)、(XVII**)、(XVIII)及(IX)之新穎化合物或其較佳立體異構物之用途，其用於製造式(10)化合物



較佳式(10-a)化合物



其中R1係氫或C₁-C₆-烷基，較佳係乙基，
較佳用於製造*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基甲基)-4-胺

基-(2*R*)-甲基丁酸或其鹽或*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸乙基酯(在業內稱為AHU377或沙庫比曲)或其鹽。

在其他實施例中，本發明係關於申請專利範圍中所表示之以引用方式併入本文中之新穎化合物、方法及用途中之任一或多者。

本發明亦係關於上文及下文所述之方法步驟的任何順序組合。

在其於上文所提及且下文亦詳細給出之態樣中，本發明提供以下優點：該合成途徑適用於工業規模處理。該合成途徑係經濟且環境有利的。為沙庫比曲之合成所期望之中間物之式(I)及(XVI)化合物可以高產率及高立體選擇性產生。

【實施方式】

一般術語：

除非有不同的定義，否則上文及下文所用之一般定義具有以下含義，其中一或多個或所有表述或符號藉由更特定定義之替代可針對每一本發明實施例獨立地作出且導致更佳之實施例。

倘若化合物、起始材料、中間物、鹽、醫藥製劑、疾病、病症及諸如此類使用複數形式，則此意欲指一種(較佳)或多種單一化合物、鹽、醫藥製劑、疾病、病症或諸如此類，倘若使用單數或不定冠詞(「一(a、an)」)，則此並非意欲排除複數但較佳僅意指「一(one)」。

手性化合物

術語「手性」係指具有與其鏡像配體不重疊之性質的分子，而術語「非手性」係指與其鏡像配體可重疊之分子。

在本申請案之各式中，術語C-sp³上之「」表示共價鍵，其中未

界定鍵之立體化學。此意味著，術語C-sp³上之「」包含各別手性中心之(*S*)構形以及(*R*)構形。此外，本發明亦涵蓋混合物(例如鏡像異構物之混合物，例如外消旋物)。尤佳者係式(1)或(2)之化合物之單一立體異構物，尤其式(1-a)及(1-b)中之特定者。

在本申請案之各式中，術語C-sp²上之「」表示共價鍵，其中未界定該鍵之立體化學或幾何學。此意味著，術語C-sp²上之「」包含各別雙鍵之(*Z*)構形以及(*E*)構形。此外，本發明亦涵蓋混合物(例如雙鍵異構物之混合物)。

在本申請案之各式中，術語C-sp³上之「」指示絕對立體化學，(*R*)或(*S*)。

在本申請案之各式中，術語C-sp³上之「」指示絕對立體化學，(*R*)或(*S*)。

在本申請案之各式中，術語「」指示C-sp³-C-sp³鍵或C-sp²-C-sp²鍵。

本發明之化合物可具有一或多個不對稱中心。較佳絕對構形係如本文特定指示。然而，本發明涵蓋任何可能之純鏡像異構物、純非鏡像異構物或其混合物(例如，鏡像異構物之混合物，例如外消旋物)。

具有立體源中心但未指示特定構形之化合物視為具有各別構形(例如 *R,R* ; *R,S* ; *S,R* 及 *SS*)之化合物之混合物或純鏡像異構物/非鏡像異構物。

立體異構、尤其鏡像異構純度在提及時係指化合物之所有非鏡像異構物加在一起為(100%)。其係藉由手性層析(實例包括HPLC、uPLC及GC)或NMR (添加手性實體及或金屬)測定。方法之特定實例包括：配備有手性管柱Chiralpak ID 4.6mm ø × 250mm, 5 μm (Daicel Corporation,

Osaka, Japan) 之手性 HPLC 在 25 °C 下；移動相 Hept:EtOAc:CH₃CN, 90:8:2。

如本文所定義，術語「實質上光學純」化合物係指藉由本發明之方法獲得之化合物，其中化合物之光學純度為至少70% (ee = 鏡像異構物過量)、更佳地至少90% (ee) 且最佳地至少95% (ee)或以上，例如100% (ee)。光學純度係以一種鏡像異構物超過另一種鏡像異構物之過量%給出。因此，光學純度(%)係(R)鏡像異構物濃度與(S)鏡像異構物濃度之間之差與兩種鏡像異構物之濃度之和的商數(A之光學純度(%) = $([A]-[B]):([A]+[B]) \times 100$ ，其中A及B表示(R)鏡像異構物及(S)鏡像異構物之濃度或反之亦然)。

前藥

如本文所用術語「前藥」具體而言表示在活體內例如藉由在血液中水解轉變為母化合物之化合物，例如如以下文獻中所闡述：T. Higuchi及 V. Stella, 「Pro-drugs as Novel Delivery Systems」, ACS Symposium Series之第14卷；Edward B. Roche編者，「Bioreversible Carriers in Drug Design」, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987；H Bundgaard編者，「Design of Prodrugs」, Elsevier, 1985；Judkins等人*Synthetic Communications* **1996**, 26, 4351-4367，及「The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action」, 第二版, R. B. Silverman (具體而言第8章，第497頁至第557頁), Elsevier Academic Press, 2004。

前藥因此包括具有已轉化成其可逆衍生物之官能基之藥物。通常，該等前藥藉由水解轉化成活性藥物。作為實例，可提及以下各者：

官能基	可逆衍生物
羧酸	酯，包括(例如)烷基酯
醇	酯，包括(例如)硫酸酯及磷酸酯以及羧酸酯
胺	鹽胺、胺基甲酸酯、亞胺、烯胺，
羰基(醛, 酮)	亞胺、肟、縮醛/縮酮、烯醇酯、噁唑啉及噻唑啉

前藥亦包括可藉由氧化或還原反應轉化成活性藥物之化合物。作為實例，可提及：

氧化活化

- *N*-及*O*-去烷基化
- 氧化去胺化
- *N*-氧化
- 環氧化

還原活化

- 偶氮還原
- 亞砷還原
- 二硫化物還原
- 生物還原烷基化
- 硝基還原

NEP抑制劑

術語「NEP抑制劑」闡述抑制酶中性肽鏈內切酶(NEP, EC 3.4.24.11)之活性之化合物。

在本發明中，術語「NEP-抑制劑」或「NEP-抑制劑前藥」係指物質

本身或其鹽，較佳醫藥上可接受之其鹽。實例係鈉、鉀、鎂、鈣或銨鹽。鈣鹽較佳。

NEP抑制劑前藥*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸乙酯視情況進一步反應以獲得活體外或活體內活性NEP抑制劑*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸。

胺基轉移酶：

在本發明之背景下，胺基轉移酶係催化一級胺之胺基(NH₂)轉變為受體分子之羰基(C=O)之吡哆醛-磷酸酯依賴性酶。胺基轉移酶係以E.C. 2.6.1.X分類。在本發明之尤佳實施例中，胺基轉移酶係(R)-或(S)-選擇性胺基轉移酶，在較佳實施例中具體而言係ω-胺基轉移酶，具體而言(S)-選擇性ω-胺基轉移酶。

在本發明之背景下，ω-胺基轉移酶係較佳具有分類代碼E.C.2.6.1.18之酶。該等胺基胺基轉移酶之特徵在於其主要使用胺作為受質。該等酶之特徵進一步在於展現大於1之ω-胺基轉移酶催化反應平衡常數。

本發明在術語胺基轉移酶、具體而言ω-胺基轉移酶之下亦理解為含有胺基轉移酶、具體而言ω-胺基轉移酶之生物體提取物(例如微生物或細胞)，或本身包含胺基轉移酶、具體而言ω-胺基轉移酶之活的或死的細胞或微生物。此一微生物或細胞或提取物或胺基轉移酶可以固定或非固定形式使用。

胺基轉移酶、具體而言ω-胺基轉移酶亦可為以重組方式產生之天然(野生型)或經遺傳修飾之胺基轉移酶、具體而言ω-胺基轉移酶，其部分地或完全地由含於上文所鑑別生物體中之一者中之核酸序列或其衍生物或其

等效物編碼。

可使用及/或最佳化以根據本發明使用之 ω -胺基轉移酶之最近綜述闡述於(例如) Koszelewski等人(2010) Trends in Biotechnology, 28(6):324-332及Malik等人(2012)Appl Microbiol Biotechnol.;94(5):1163-71中。該等胺基轉移酶可自(例如)諸如紫色產色桿菌(*Chromobacterium violaceum*)、弗氏弧菌(*Vibrio fluvialis*)、反硝化產鹼菌(*Alcaligenes denitrificans*)、克雷伯氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)及蘇雲金芽孢桿菌(*Bacillus thuringiensis*)等微生物及其他微生物獲得。

在一個實施例中，本發明中所使用之 ω -胺基轉移酶係自Codexis Inc.以參考編號ATA-217 (Codex® ATA篩選套組之一部分)以及其進一步經遺傳修飾之 ω -胺基轉移酶變體(亦獲自Codexis Inc.)獲得。該等遺傳修飾之 ω -胺基轉移酶闡述於(例如)美國專利第8,470,564號中。

輔酶

胺基轉移酶需要輔酶吡哆醛-5'-磷酸酯(PLP)。「吡哆醛-磷酸酯」、「PLP」、「吡哆醛-5'-磷酸酯」、「PYP」及「P5P」在本文中可互換用於指在胺基轉移酶反應中充當輔酶之化合物。

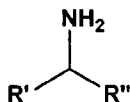
在一些實施例中，吡哆醛磷酸酯係由結構1-(4'-甲醯基-3'-羥基-2'-甲基-5'-吡啶基)甲氧基磷酸(CAS號[54-47-7])定義，吡哆醛-5'-磷酸酯可在活體內藉由吡哆醇(亦稱為維生素B6)之磷酸化及氧化產生。在使用胺基轉移酶之轉胺反應中，胺基供體之胺基團轉移至輔酶以產生酮基副產物，同時吡哆醛-5'-磷酸酯轉化為吡哆胺磷酸酯。吡哆醛-5'-磷酸酯可藉由與不同酮基化合物(胺基受體)反應再生。吡哆胺磷酸酯之胺基團轉移至胺基受體產生手性胺且再生成輔酶。

在一些實施例中，可藉由維生素B6家族之其他成員(包括吡哆醇(PN)、吡哆醛(PL)、吡哆胺(PM))及其磷酸化對應體吡哆醇磷酸酯(PNP)及吡哆胺磷酸酯(PMP)替代吡哆醛-5'-磷酸酯。

胺供體

在本發明之背景下，胺供體係能夠使用胺基轉移酶、具體而言 ω -胺基轉移酶為胺受體提供胺基之分子。在尤佳實施例中，胺供體係胺或胺基酸。

在一些實施例中，胺基供體係具有以下通式之分子，



其中R'及R''中之每一者在獨立地考慮時係烷基、環烷基、雜環烷基、芳基或雜芳基，該基團未經取代或經一或多個不以酶方式抑制之基團取代。R'與R''之結構或手性可相同或不同。在一些實施例中，R'及R''可共同形成環，該環未經取代、經取代或稠合至其他環。可使用之典型胺基供體包括手性及非手性胺基酸及手性及非手性胺。可使用之胺基供體包括例如(但不限於)異丙胺(2-胺基丙烷)、 β -丙胺酸、丙胺酸，具體而言D,L-丙胺酸、L-丙胺酸或D-丙胺酸、 α -甲基苄基胺(α -MBA)、麩胺酸鹽、苯丙胺酸、甘胺酸、3-胺基丁酸酯、2-胺基丁烷、 γ -胺基丁酸酯及其任一者之鹽(例如氯化物)。在本發明之較佳實施例中，異丙胺(2-胺基丙烷)係胺供體。

在此一實施例中，所獲得之酮產物將為丙酮、苯基丙酮酸、其鹽、丙酮酸、其鹽、乙醛酸、其鹽、苯乙酮、2-酮戊二酸鹽、3-側氧基丁酸酯、2-丁酮、3-側氧基吡咯啉(3-OP)、3-吡啶基甲基酮(3-PMK)、3-側氧基丁酸乙基酯(3-OBEE)、3-側氧基戊酸甲基酯(3-OPME)、N-1-boc-3-側

氧基六氫吡啶酮及*N*-1-boc-3-側氧基吡咯啉(B3OP)或其任一者之鹽(例如氯化物)。在本發明之較佳實施例中，所獲得之酮產物係丙酮。

酶促反應條件：

「適宜反應條件」係指胺基轉移酶催化之反應溶液方面之彼等條件(例如，酶負載、受質負載、輔因子負載、溫度、pH、緩衝液、共溶劑等之範圍)，在該等條件下所選胺基轉移酶能將受質化合物轉化為產物化合物(例如，將式(I)，較佳係(I-a)之化合物轉化為式(VIII)，較佳係(VIII-a)，具體而言係(VIII-aa)之化合物)。實例性「適宜反應條件」在本發明中提供且由各實例進行闡釋。

「負載」(例如「化合物負載」或「酶負載」或「輔因子負載」)係指在反應開始時反應混合物中組份之濃度或量。

「受質」在胺基轉移酶催化之反應方法之背景下係指由酶作用之化合物或分子。舉例而言，本文所揭示方法中之胺基轉移酶之實例性受質係化合物(I)。

「產物」在胺基轉移酶催化之反應方法之背景下係指源於酶之作用之化合物或分子。舉例而言，本文所揭示方法中之胺基轉移酶之實例性產物係化合物(VIII)。

在本發明之背景下，胺基轉移酶反應具有鏡像選擇性，即所產生之期望鏡像異構物超過不期望之鏡像異構物(在本發明之背景下，術語鏡像異構物係指引入胺基團之特定立體源中心；由於較佳受質已含有立體源中心，故實際上期望之化合物應具有非鏡像異構純度)。在一些實施例中，期望之鏡像異構物係以至少70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大之鏡像異構過量(ee)形

成。

在本發明中，胺基受體較佳以超過50%或至少60%、70%、80%、90%、95%、99%具體而言100%之轉化率轉化為期望之手性胺化合物。

取代基定義

烷基係定義為直鏈或具支鏈(一個、或若期望且可能更多個)碳鏈之基團或基團之一部分，且尤其係C₁-C₇-烷基，較佳C₁-C₆-烷基，更佳C₁-C₄-烷基。

術語「C₁-C₇-」、「C₁-C₆-」及「C₁-C₄-」分別定義具有最多且包括最大7、尤其最多且包括最大6及4個碳原子之部分，該部分係經支化(一或多次)或直鏈且經由末端或非末端碳結合。

環烷基係(例如)C₃-C₇-環烷基且係(例如)環丙基、環丁基、環戊基、環己基及環庚基。環戊基及環己基較佳。

烷氧基係(例如)C₁-C₇-烷氧基且係(例如)甲氧基、乙氧基、正丙基氧基、異丙基氧基、正丁基氧基、異丁基氧基、第二丁基氧基、第三丁基氧基且亦包括相應戊基氧基、己基氧基及庚基氧基。C₁-C₄-烷氧基較佳。

烷醯基係(例如)C₂-C₈-烷醯基且係(例如)乙醯基[-C(=O)Me]、丙醯基、丁醯基、異丁醯基或特戊醯基。較佳者係C₂-C₅-烷醯基，尤其乙醯基。

鹵基或鹵素較佳係氟、氯、溴或碘，最佳係氯、溴或碘。

鹵基-烷基係(例如)鹵基-C₁-C₇-烷基且具體而言係鹵基-C₁-C₄-烷基，例如三氟甲基、1,1,2-三氟-2-氯乙基或氯甲基。較佳鹵基-C₁-C₇-烷基係三氟甲基。

烯基可為含有雙鍵且包含較佳2至12個碳原子、尤佳2至10個碳原子

之直鏈或具支鏈烷基。尤佳者係直鏈C₂-C₇-烯基，更佳係C₂-C₄-烯基。烷基之一些實例係乙基及丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基、十四烷基、十六烷基、十八烷基及二十烷基之異構物，其每一者均含有雙鍵。尤佳者係烯丙基。

伸烷基係衍生自C₁₋₇-烷基之二價基團且其尤其係C₂-C₇-伸烷基或C₂-C₇-伸烷基，且其視情況可間雜有一或多個(例如多達三個)氧、NR¹⁴或硫，其中R¹⁴係烷基，其每一者均可未經取代或經一或多個獨立地選自以下之取代基取代：例如C₁-C₇-烷基、C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基或C₁-C₇-烷氧基。

伸烯基係衍生自C₂₋₇-烯基之二價基團且可間雜有一或多個(例如多達三個)氧、NR¹⁴或硫，其中R¹⁴係烷基且未經取代或經一或多個(例如多達三個)較佳獨立地選自上文針對伸烷基所提及之取代基之取代基取代。

為基團或基團之一部分之芳基係(例如) C₆₋₁₀-芳基且較佳為單環或多環芳基部分，尤其具有6至10個碳原子之單環、二環或三環芳基部分，例如苯基、萘基或蒽基，較佳苯基，且其可未經取代或經一或多個獨立地選自(例如)C₁-C₇-烷基、C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基或C₁-C₇-烷氧基之取代基取代。

術語芳基烷基係指芳基-C₁-C₇-烷基，其中芳基係如本文所定義且係(例如)苄基。

術語羧基係指-CO₂H。

芳基氧基係指芳基-O-，其中芳基係如上文所定義。

未經取代或經取代之雜環基係具有較佳3至14個(更佳5至14個)環原子且具有一或多個，較佳係1至4個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-

(=O)₂之雜原子之單環或多環系統，較佳單環、二環或三環系統，最佳單環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其未經取代或經一或多個(例如多達三個)較佳獨立地選自由以下組成之群之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基、C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基，例如三氟甲氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷氧基。當雜環基係芳香族環系統時，其亦稱為雜芳基。雜環基較佳係咪唑基、吡唑基、噁唑基、異噁唑基、噻唑基、異噻唑基、吡啶基、吡喃基、二唑基、噁嗪基、噻嗪基、二氧雜環己烯基、二硫雜環己二烯基(dithiinyl)、氮雜環庚烷基、氧雜環庚烷基、硫雜環庚烷基、吡啶基、異吡啶基、喹啉基、異喹啉基、苯并氮呋基、呋唑基、咪唑啉基、吡唑啉基、噁唑啉基、異噁唑啉基、噻唑啉基、二氧戊環基、二硫戊環基、呋咕基、噁二唑基、噻二唑基、二噻唑基、四唑基、六氫吡啶基、六氫吡嗪基、嗎啉基、硫嗎啉基、側氧基硫嗎啉基、二側氧基硫嗎啉基、二噁烷基、二噻烷基、氮雜環庚烷基、氧雜環庚烷基、硫雜環庚烷基或其苯并稠合之變體。

在雜環基烷基中，雜環基較佳如剛才所定義且係附接至如針對烷基所定義之烷基。實例係咪唑基甲基、吡啶基甲基或六氫吡啶基甲基。

乙醯基係-C(=O)C₁-C₇-烷基，較佳-C(=O)Me。

磺醯基係(未經取代或經取代之) C₁-C₇-烷基磺醯基(例如甲基磺醯基)、(未經取代或經取代之)苯基-或萘基-C₁-C₇-烷基磺醯基(例如苯基甲烷磺醯基)或(未經取代或經取代之)苯基-或萘基-磺醯基；其中若存在一個以上取代基，例如一至三個取代基，則取代基獨立地選自氟基、鹵基、鹵基-C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基氧基-及C₁-C₇-烷基氧基。尤佳者係C₁-C₇-烷基磺醯基(例如甲基磺醯基)及(苯基-或萘基)-C₁-C₇-烷基磺醯基(例如

苯基甲烷磺醯基)。

硫基係(未經取代或經取代之) C_{6-10} -芳基- C_1 - C_7 -烷基硫基或(未經取代或經取代之) C_{6-10} -芳基硫基，其中若存在一個以上取代基，例如1至4個取代基，則取代基獨立地選自硝基、鹵基、鹵基- C_1 - C_7 -烷基及 C_1 - C_7 -烷基氧基。

醯亞胺係指由二個結合至氮之醯基組成之(未經取代或經取代之)官能基，較佳衍生自二羧酸之環狀基團。尤佳者係衍生自琥珀酸之琥珀醯亞胺基或衍生自苯二甲酸之鄰苯二甲醯亞胺基。醯亞胺基可經一或多個獨立地選自以下之取代基取代：例如 C_1 - C_7 -烷基、 C_1 - C_7 -烷氧基- C_1 - C_7 -烷基、 C_1 - C_7 -烷氧基或鹵基。

疊氮化物係指基團- $N=N^+=N^-$ 。

如本文所用矽基係指根據式-SiR₁₁R₁₂R₁₃之基團，其中R₁₁、R₁₂及R₁₃彼此獨立地係 C_1 - C_7 -烷基、 C_6 - C_{10} -芳基或苯基- C_1 - C_4 -烷基。R₁₁、R₁₂及R₁₃之較佳實例係甲基、乙基、異丙基、第三丁基、苯基或苯基- C_{1-4} -烷基。

鹽

鹽尤其係本文所提及之任何中間物之醫藥上可接受之鹽或一般鹽，除非出於熟悉此項技術者將易於理解之化學原因而排除鹽。其可在存在鹽形成基團(例如鹼性或酸性基團)之情形中形成鹽，該等鹽可在(例如) pH範圍為4至10之水溶液中以至少部分地解離形式存在，或可尤其以固體、尤其結晶形式分離。

該等鹽係自本文所提及具有鹼性氮原子(例如，亞胺基或胺基)之化合物或任何中間物較佳與有機酸或無機酸以(例如)酸加成鹽、尤其醫藥上可

接受之鹽形成。適宜無機酸係(例如)氫鹵酸(例如鹽酸)、硫酸或磷酸。適宜有機酸係(例如)羧酸、膦酸、磺酸或磺胺酸，例如乙酸、丙酸、乳酸、富馬酸、琥珀酸、檸檬酸、胺基酸(例如麩胺酸或天冬胺酸)、馬來酸、羥基馬來酸、甲基馬來酸、苯甲酸、甲烷-或乙烷-磺酸、乙烷-1,2-二磺酸、苯磺酸、2-萘磺酸、1,5-萘-二磺酸、*N*-環己基磺胺酸、*N*-甲基-磺胺酸、*N*-乙基-磺胺酸或正丙基-磺胺酸或其他有機質子酸(例如抗壞血酸)。

在帶負電之基團(例如羧基或磺酸基)存在下，鹽亦可利用鹼形成，例如金屬鹽或銨鹽，例如鹼金屬鹽或鹼土金屬鹽，例如鈉鹽、鉀鹽、鎂鹽或鈣鹽，或銨鹽(利用氨或適宜有機胺(例如三級單胺，例如三乙胺或三(2-羥基乙基)胺))或雜環鹼(例如*N*-乙基-六氫吡啶或*N,N'*-二甲基六氫吡嗪)形成)。

當在同一分子中存在鹼性基團及酸性基團時，本文所提及之任何中間物亦可形成內鹽。

出於分離或純化本文所提及之任何中間物之目的，亦可使用醫藥上不可接受之鹽，例如苦味酸鹽或高氯酸鹽。

鑒於呈游離形式及其鹽形式(包括彼等(例如)在純化或鑑別化合物或其鹽中可用作中間物之鹽)之化合物與中間物之間之密切關係，若適當且方便且若未另外明確提及，則上文及下文對「化合物」、「起始材料」及「中間物」之任何提及應理解為亦指其一或多種鹽或相應游離化合物、中間物或起始材料與其一或多種鹽之混合物，其每一者意欲亦包括該等中之任一或多者之任何溶劑合物或鹽。可獲得且因此亦包括不同晶體形式。

氮保護基團

術語「氮保護基團」包含能夠可逆地保護氮官能基，較佳係胺及/或

醯胺官能基之任何基團。較佳地，氮保護基團係胺保護基團及/或醯胺保護基團。適宜氮保護基團照慣例用於(例如)肽化學中且闡述於(例如)標準參考著作之相關章節中，例如J. F. W. McOmie, 「Protective Groups in Organic Chemistry」, Plenum Press, London and New York 1973, P. G. M. Wuts 及 T. W. Greene, 「Greene's Protective Groups in Organic Synthesis」, 第四版, Wiley, New Jersey, 2007 及 「The Peptides」; 第3卷(編者: E. Gross 及 J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, 及 「Methoden der organischen Chemie」 (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl, 第四版, 第15/I卷, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974。

較佳氮保護基團通常包含: 未經取代或經取代之 C_1-C_6 -烷基(較佳 C_1-C_4 -烷基, 更佳 C_1-C_2 -烷基, 最佳 C_1 -烷基)、未經取代或經取代之 C_{2-4} -烯基, 其中每一 C_1-C_6 -烷基及 C_{2-4} -烯基視情況經以下單取代、二取代或三取代: 三烷基矽基- C_1-C_7 -烷氧基(例如三甲基矽基乙氧基)、環烷基、芳基(較佳苯基)或雜環基(較佳吡咯啉基), 其中該環烷基、該芳基環或該雜環基未經取代或經一或多個(例如二個或三個)例如選自由 C_1-C_7 -烷基、羥基、 C_1-C_7 -烷氧基、 C_2-C_8 -烷醯基-氧基、鹵素、硝基、氰基及 CF_3 組成之群之殘基取代; 芳基- C_1-C_2 -烷氧基羰基(較佳苯基- C_1-C_2 -烷氧基羰基例如苄基氧基羰基); C_{1-10} -烯基氧基羰基; C_{1-6} -烷基羰基(例如乙醯基或特戊醯基); C_{6-10} -芳基羰基; C_{1-6} -烷氧基羰基(例如第三丁氧基羰基); C_{6-10} -芳基- C_{1-6} -烷氧基羰基; 烯丙基或桂醯基; 磺醯基或硫基; 琥珀醯亞胺基; 經取代之矽基, 例如三芳基矽基或三烷基矽基(例如三乙基矽基)。

較佳氮保護基團之實例係乙醯基、苄基、異丙苯基、二苯甲基、三

苯甲基、苄基氧基羰基(Cbz)、9-苄基甲基氧基羰基(Fmoc)、苄基氧基甲基(BOM)、特戊醯基-氧基-甲基(POM)、三氯乙氧基羰基(Troc)、1-金剛烷基氧基羰基(Adoc)、烯丙基、烯丙基氧基羰基、三甲基矽基、第三丁基-二甲基矽基(TBDMS)、三乙基矽基(TES)、三異丙基矽基(TIPS)、三甲基矽基乙氧基甲基(SEM)、第三丁氧基羰基(BOC)、第三丁基、1-甲基-1,1-二甲基苄基、(苯基)甲苯、吡咯啉基及特戊醯基。最佳氮保護基團係乙醯基、苄基、苄基氧基羰基(Cbz)、三乙基矽基(TES)、三甲基矽基乙氧基甲基(SEM)、第三丁氧基羰基(BOC)、吡咯啉基甲基及特戊醯基。

更佳氮保護基團之實例係特戊醯基、吡咯啉基甲基、第三丁氧基羰基、苄基及矽基，具體而言根據式SiR¹¹R¹²R¹³基團之矽基，其中R¹¹、R¹²及R¹³彼此獨立地係C₁-C₇-烷基、C₆-C₁₀-芳基或苯基-C₁-C₄-烷基。R¹¹、R¹²及R¹³之較佳實例係甲基、乙基、異丙基、第三丁基及苯基。

最佳氮保護基團之實例係第三丁氧基羰基(BOC)、苯甲醯基、苯乙炔基、1-丁烯基、苄基、對甲氧基苄基(PMB)及吡咯啉基甲基，具體而言特戊醯基及第三丁氧基羰基(BOC)。

在一個實施例中，術語氮保護基團係指選自由以下組成之群之基團：

C₁-C₆-烷基，其未經取代或經三-C₁-C₆-烷基矽基C₁-C₇-烷氧基、C₆-C₁₀-芳基或雜環基(為具有5至14個環原子及1至4個獨立地選自N、O、S、S(O)或S(O)₂之雜原子之單環、二環或三環系統)單取代、二取代或三取代，其中芳基環或雜環基未經取代或經一個、二個或三個選自由以下組成之群之殘基取代：C₁-C₇-烷基、羥基、C₁-C₇-烷氧基、C₂-C₈-烷醯基-氧基、鹵素、硝基、氰基及CF₃；

C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₂-烷氧基羰基；C₁-C₁₀-烯基氧基羰基；C₁-C₆-烷基羰基；C₆-C₁₀-芳基羰基；C₁-C₆-烷氧基羰基；C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷氧基羰基；烯丙基；桂醯基；磺醯基；硫基；琥珀醯亞胺基及矽基，其中每一矽基係SiR₁₁R₁₂R₁₃基團，其中R₁₁、R₁₂及R₁₃彼此獨立地係C₁-C₇-烷基、C₆-C₁₀-芳基或苯基-C₁-C₄-烷基。

一般而言，在本申請案中，術語「氮保護基團」包含能夠可逆地保護胺基官能基之任何基團。

若實施例需要去除如上所定義之氮保護基團，則去除通常可藉由使用例如如上文所引用參考文獻中所闡述之已知方法來實施。較佳地，如上文所定義之氮保護基團係藉由使用酸性或鹼性條件來去除。酸性條件之實例係氫氯酸、三氟乙酸、硫酸。鹼性條件之實例係氫氧化鋰、乙醇鈉。可使用諸如硼氫化鈉之親核試劑。在*N*-苄基作為胺基保護基團之情形下，其可藉由氫化或藉由使用一些適宜氧化劑(例如硝酸銻銨(CAN)或2,3-二氯-5,6-二氰基-*p*-苯醌(DDQ))來去除。

羧基保護基團

羧基保護基團(例如本發明中之Ra或R*)可為業內已知之任一基團，尤其C₁-C₆-烷基，例如乙基、甲基、烯丙基或第三丁基或C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基，例如苄基或矽基SiR₁₁R₁₂R₁₃，其中R₁₁、R₁₂及R₁₃彼此獨立地係C₁-C₇-烷基、C₆-C₁₀-芳基或苯基-C₁-C₄-烷基。R₁₁、R₁₂及R₁₃之較佳實例係甲基、乙基、異丙基、第三丁基、苯基或苯基-C₁₋₄-烷基。羧基保護基團本身、其引入反應及其去除反應闡述於(例如)標準參考著作中，例如J. F. W. McOmie, 「Protective Groups in Organic Chemistry」, Plenum Press, London and New York 1973, T. W. Greene, 「Protective

Groups in Organic Synthesis」，第三版，Wiley, New York 1999，「The Peptides」；第3卷(編者：E. Gross及J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981，「Methoden der organischen Chemie」(*Methods of organic chemistry*), Houben Weyl, 第4版, 第15/I卷, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974，H.-D. Jakubke 及 H. Jescheit, 「Aminosäuren, Peptide, Proteine」(*Amino acids, peptides, proteins*), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982，及Jochen Lehmann, 「Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate」(*Chemistry of carbohydrates: monosaccharides and derivatives*), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974。

舉例而言，C₁-C₆-烷基(例如乙基)保護基團R*或Ra可藉由例如在鹼(例如鹼金屬氫氧化物，例如氫氧化鋰)存在下、在適當溶劑(例如環狀醚(例如四氫呋喃)及水)存在下、例如在0至50℃範圍內(例如10℃至30℃)之溫度下水解來去除。

通常，此意味著術語「保護基團」無論在本說明書中之何處使用，保護基團僅以對於下一個跟隨產物而言去除之方式使用，若其保留，則保護基團將變為取代基。因此，烷基(例如乙基)若去除則係保護基團，若其保留，則其變為永久部分。

倘若提及保護基團，則與保留在分子中之基團相比，其特徵在於其在隨後反應步驟中裂解掉；因此基於此功能作為保護基團之烷基(例如乙基)應與留在反應產物中之烷基(例如乙基)區分開。

實施例

以下部分視需要詳細闡述上文方案1至10中所展示之個別方法步驟。

根據方案1及1-A之反應

在本發明之一個實施例中，去保護及去羧反應較佳如下進行：在酸(例如無機酸，例如氫鹵酸，例如鹽酸)存在下，在適當溶劑或溶劑混合物中，例如在有機酸(例如乙酸)及水之混合物中，例如在50℃至反應混合物之回流溫度(例如90℃至120℃)之升高之溫度下；或利用鹼金屬氫氧化物(例如氫氧化鈉)，在適當溶劑或溶劑混合物(例如醇(例如乙醇)或醚(例如四氫呋喃或1,4-二噁烷))中，在例如在30℃至反應混合物之回流溫度範圍內(例如40℃至90℃)之溫度下，隨後利用(例如)HCl酸化用於去羧；或利用鹼金屬氯化物(例如氯化鈉)，在適當溶劑(例如DMSO)存在下，例如在50℃至反應混合物之回流溫度(例如90℃至160℃)之升高之溫度下(Krapcho去羧)；或在R*為第三丁基且Ra係(未去除)乙基之情形下，在酸(例如三氟乙酸)存在下，在適當溶劑或溶劑混合物中，及在常溫下；或若R*係苄基或烯丙基，則藉由在氫化觸媒(例如貴金屬，例如炭載Pd或Pd)存在下、在適當溶劑或溶劑混合物(例如醇(例如甲醇或乙醇))中氫化。

將除不同於氫之部分Ra引入去保護及去羧之化合物中(其中代替部分Ra，存在氫)較佳自式(I)，尤其(I-a)之相應的所得化合物(其中Ra係氫)藉由在活化劑(例如將酸轉變為醯鹵或酸酐之試劑)存在下與式Ra-OH之醇(其中Ra係如針對式(I)化合物所定義，尤其Ra係C₁-C₆-烷基(例如乙基))反應來執行。

適於形成醯鹵之試劑係例如選自亞硫醯氯、亞硫醯溴、PCl₃、PCl₅、草醯氯、Me₂C=C(Cl)NMe₂、PhCOCl、PBr₃、PBr₅、Ph₃PBr₂、草醯溴或Me₂C=C(Br)NMe₂。

該反應較佳在常規溶劑(例如C₁-C₆-烷基-醇，例如甲醇或乙醇)中且

在適當溫度(例如在0至100℃之範圍內，例如10℃至90℃)下進行。

根據方案2及2-A之反應

在本發明之一個實施例中，對於式(IV)，較佳係式(IV-a)之丙酸酯衍生物，脫離基X較佳係鹵基(例如溴、碘或氯)或經活化醇基團(例如甲磺酸酯或甲苯磺酸酯)。

此反應較佳如下進行：在四烷基鹵化銨(例如四丁基碘化銨)及鹼(例如鹼金屬碳酸鹽，例如碳酸鉀)存在下，在適當溶劑(例如丙酮)中，較佳在-10℃至50℃範圍內之溫度下(例如在-5℃至30℃下)。此轉變之替代條件係例如(a)四丁基硫酸氫銨在甲苯中在回流下(例如參見Monatshefte für Chemie 1990, 121, 173-187)，(b)烷氧化鈉在醇中在升高之溫度下(例如甲醇鈉在甲醇中在回流下)(例如參見(a) J. Org. Chem. 1989, 54, 1876-1883；(b)Tetrahedron Lett. 1984, 25, 1047-1048；(c) J. Org. Chem. 1998, 63, 3677-3679)，潛在地在銅(I)鹽(例如溴化物)及三烷基胺(例如三乙胺)存在下(例如參見Synthesi 1985, 1043-1047)或(c)氫化鈉在THF中(例如參見J. Org. Chem. 1995, 60, 5107-5113；(b) Tetrahedron Lett. 1993, 34, 2051-2054)。用於烷基化 β -二羰基化合物之該等及其他轉變條件為熟習此項技術者所熟知。

根據方案3之反應

在本發明之另一實施例中，式(III)化合物可較佳藉由包含以下之方法獲得：使式(V)之乙酸化合物或其反應性衍生物與式(VI)之丙二酸半酯之鹽反應，其中R*係羧基保護基團。

適當反應條件為業內所熟知。反應較佳如下進行：在偶合劑(例如N,N-羰基咪唑)存在下，在適當溶劑或溶劑混合物(例如醚(例如四氫呋喃))

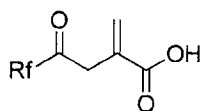
及/或腓(例如乙)腓)中，在鹼土金屬鹽(例如氯化鎂)及鹼(例如三級氮鹼，例如三甲胺)存在下，在-20℃至50℃(例如-10℃至30℃)範圍內之較佳溫度下。此轉變之替代條件(倘若條件亦可組合，亦即可混合用於製備經活化醯化劑及用於經活化亞甲基陰離子之模式))係例如(a)在其他方面相同之條件下使用相應醯氯(例如藉由利用草醯氯或亞硫醯氯處理相應酸製備)代替醯基咪唑化物，或潛在地與三烷基胺或吡啶鹼及梅氏酸(Meldrum's acid)之使用組合(例如參見Bioorg. Med. Chem. 2015, 23, 149-159；(b) J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 6938-6946)，(b)使用偶合劑(例如二環己基二咪唑)與梅氏酸之組合，在二氯甲烷中，在0-20℃下，且隨後潛在地在酸觸媒(例如對甲苯磺酸)存在下利用醇(例如乙醇)打開中間物產物(例如參見US 2004/2508 A1)，或(c)使用經活化混合酸酐(例如藉由利用氯甲酸烷基酯(例如氯甲酸乙酯)處理酸來製備)，潛在地與作為鹼用於單烷基丙二酸酯鹼金屬鹽之去質子之烷基鹵化鎂或烷基鋰試劑組合(例如參見J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 2002, 1663-1671；(b) WO2008/36420 A2)，在THF中，在降低之溫度(例如-30℃)下。

根據方案3*及3*-a之反應

在本發明之另一實施例中，式(III)化合物較佳可藉由包含以下之方法獲得：使式(XIV)，較佳係式(XIV-a)之中間物化合物或其鹽，其中R_f選自基團-O-R*，其中R*選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳甲基；-N(CH₃)-O(CH₃)(Weinreb-醯胺)、嗎啉基及咪唑啉基，與式(V)化合物或其鹽之原位製備之經活化二陰離子衍生物(即式(V*)化合物)在鹼存在下反應，且隨後進行去羧反應，以獲得式(I)化合物或其鹽，其中R_a係氫。

式(XIV)或(XIV-a)之起始化合物在業內已知且可自市面購得，或可

易於藉由業內已知之方法自下式化合物獲得；



具體而言式(XIV-a)之起始化合物可藉由(例如)在手性觸媒存在下實施不對稱氫化獲得。引入尤佳基團Rf(例如甲氧基、Weinreb醯胺或二級醯胺基團)之方法亦在業內熟知。

式(V)化合物之經活化二陰離子衍生物(所謂的Ivanov-試劑(V*))可藉由利用極強鹼(例如烷基鋰試劑、醯胺鋰鹼或格氏試劑(Grignard reagent))進行處理使式(V)化合物雙-去質子來原位製備(*Synthesis* **1982**, 521-578及其中所引用之參考文獻)。去質子較佳藉由較佳在 LiCl (例如 i-PrMgCl•LiCl, 所謂的 TurboGrignard, 購自 Sigma-Aldrich, 目錄號 656984)存在下、在適當溶劑(例如醚, 例如四氫呋喃)中、在 -20°C 至 50°C 範圍內(例如 -10°C 至 40°C)之較佳溫度下添加格氏試劑(例如異丙基氯化鎂或第二丁基溴化鎂)來實施。

然後在鹼存在下將式(V*)之經活化二陰離子衍生物添加至式(XIV)化合物或者式(XIV)化合物之鹽中。適宜鹼係(例如)格氏試劑, 例如異丙基氯化鎂或第二丁基溴化鎂或強鹼(如氫化鈉)。該添加較佳在適當溶劑(例如醚, 例如四氫呋喃)中在 -20 至 70°C 範圍內(例如 -20 至 30°C)之較佳溫度下實施 1h 至 24h 之時段。

後續去羧反應然後較佳在酸(例如無機酸, 例如氫鹵酸, 例如鹽酸)存在下、在適當溶劑或溶劑混合物中(例如在有機酸(例如乙酸)及水之混合物中)或在有機溶劑(例如四氫呋喃)中進行, 且在 0°C 至室溫之溫度下實施。或者, 亦可藉由加熱至溶劑之回流溫度達成去羧。

若需要或期望, 根據例如上文針對方案1或在關於羧基保護基團之概

述部分中所闡述之程序，可使所獲得之式(I)化合物或其鹽(其中Ra係氫)與引入羧基保護基團之試劑反應，得到式(I)化合物，其中Ra係羧基保護基團，或使所獲得之式(I)化合物或其鹽(其中Ra係氫)與偶合劑在C₁-C₆-烷醇，尤其係乙醇存在下反應，得到式(I)化合物，其中Ra係C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

根據方案4之反應

在本發明之另一實施例中，例如，較佳藉由包含水解式(VII)之氰化物之方法獲得式(V)化合物。

該水解較佳如下進行：在鹼(例如鹼金屬氫氧化物，例如氫氧化鉀)存在下、在適當溶劑(例如醇，例如二醇，例如乙二醇)中、在升高之溫度(例如30℃至反應混合物之回流溫度)下。

或者，式V化合物(聯苯乙酸)亦可自市面購得(Sigma-Aldrich, 目錄號196487, CAS編號5728-52-9)。

根據方案5至10之反應：

如上文亦及下文所闡述，形成本發明實施例之方法(所有皆按順序、個別地或以任一組合)可用於合成NEP抑制劑或其前藥、具體而言NEP-抑制劑或其前藥(例如沙庫比曲)。

因此，可使用式(I)，尤其(I-a)之化合物(在另一發明實施例中，單獨或與緊接地或其他前述及隨後一或多個步驟一起)分別製造式(VIII)，尤其式(VIII-a)之化合物或其鹽。

此轉變可以如方案6至10中所詳述之多種不同方式來實施。

根據方案5、5-A及5-aa之反應：

在一個實施例中，若自式(I)，尤其(I-a)之化合物(其中Ra係氫)或其

鹽開始，則該轉變包含包括以下之方法(單獨或與緊接地或其他前述及隨後一或多個步驟一起形成本發明實施例)：使式(I)，尤其(I-a)之化合物(其中Ra係氫或其鹽)與氨、一級胺或二級胺或其鹽反應，得到式(VIII化合物)，其中Ra係氫。或者，亦可藉由以下自式(I)，尤其式(I-a)之化合物獲得式(VIII)化合物：利用一級胺或二級胺(例如苄基胺或手性苄基胺，例如苯乙胺)來獲得相應的(苄基-)保護之胺，然後藉由氫解裂解各別(苄基-)保護之胺將該胺轉變為胺基酸(VIII)。

適當反應條件為業內所熟知。該反應較佳如下進行：利用銨鹽(例如甲酸銨、乙酸銨或氫氧化銨)，氨本身亦可單獨或與烷氧化鈦(例如異丙氧基鈦)或羥基胺鹽(例如鹽酸羥胺)組合使用，後者係與利用適當還原劑(例如硼氫化鈉、參(乙醯氧基)硼氫化鈉或氰基硼氫化鈉)之氫化組合，或亦可藉由通常利用Pd-觸媒(例如10% Pd/C)或Raney-Ni之氫化進行還原；在適當溶劑或溶劑混合物中(例如在水、醇(例如乙醇)及/或醚(例如四氫呋喃)或其兩者或更多者之混合物中)，在10°C至50°C或高達100°C(例如20°C至40°C或高達80°C)範圍內之較佳溫度下。

在另一發明實施例中，然後可使用此式(VIII)，尤其(VIII-a)之化合物或其鹽藉由以下來製造式(VIII)，尤其(VIII-a)之相應化合物，其中Ra係C₁-C₆-烷基：例如使式(VIII)，尤其(VIII-a)之化合物(其中Ra係氫)與引入胺基保護基團(例如第三丁氧基羰基)之試劑反應，隨後在(例如)50°C至80°C(例如65°C至75°C)範圍內之溫度下使式(VIII)，尤其(VIII-a)之化合物之胺基保護之類似物與活化試劑(例如亞硫醯氯)在醇，尤其乙醇存在下反應，得到式(VIII)，尤其(VIII-a)之相應化合物，其中Ra係C₁-C₆-烷基，尤其乙基。

可直接或以類似方式用於此順序之步驟之適當條件及試劑可參見(例如) WO 2008/083967A，尤其其中之實例8及9。

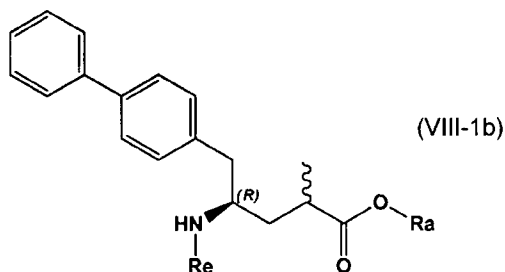
根據方案6、6-1、6-a及6-aa之反應：

在一個實施例中，轉變包含包括以下之方法(單獨或與緊接地或其他前述及隨後一或多個步驟一起形成發明實施例)：藉由使式(I)，尤其(I-a)之化合物或其鹽(其中Ra選自氫及C₁-C₆-烷基，較佳氫)與(S)-選擇性ω-胺基轉移酶在胺供體及輔酶存在下接觸將其轉化為式(VIII)，具體而言係(VIII-a)之化合物，較佳轉化為式(VIII-a)，具體而言(VIII-aa)之化合物(其中Ra選自氫及C₁-C₆-烷基，較佳氫，且Re係氫)或其鹽。

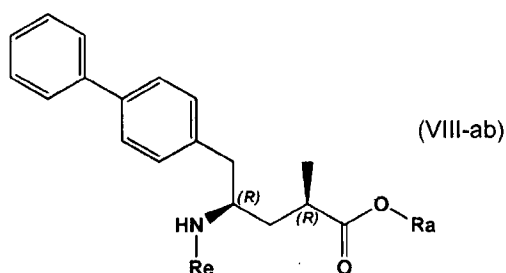
式(I)化合物至式(VIII)化合物，較佳至式(VIII-1)化合物之轉化率，尤其係式(I-a)化合物至式(VIII-a)，更佳式(VIII-aa)之化合物之轉化率超過50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約95%、至少約98%或至少約99%或甚至100%。

在一些實施例中，胺基轉移酶能在適宜反應條件下將分別式(I)及(I-a)之受質化合物，具體而言化合物(R)-5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸轉化為分別式(VIII-1)及(VIII-aa)之產物化合物、具體而言化合物(2R,4S)-5-([1,1'-聯苯]-4-基)-4-胺基-2-甲基戊酸，其中分別超過式

(VIII-1b)



及(VIII-ab)



(其中Ra選自氫及C₁-C₆-烷基，較佳氫，且Re係氫)之相應化合物、具體而言超過化合物(2R, 4R)-5-([1,1'-聯苯]-4-基)-4-胺基-2-甲基戊酸之鏡像異構過量(關於轉胺之立體源中心)大於80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或更大。

在一些實施例中，本發明中所使用之胺基轉移酶能在適宜反應條件下分別將化合物(I)轉化為化合物(VIII-1)及化合物(I-a)轉化為化合物(VIII-aa)，且對受質存在之耐性有所增加。因此，在一些實施例中，胺基轉移酶能在至少約1 g/L、約5 g/L、約10 g/L、約20 g/L、約30 g/L、約40 g/L、約50 g/L、約70 g/L、約100 g/L、約125 g/L、約150 g/L、約175 g/L或約200 g/L或更大之受質負載濃度存在下分別將受質化合物(I)及(I-a)轉化為產物化合物(VIII-1)及(VIII-aa)。該受質負載在適宜反應條件下在約120 h或更短、約96 h或更短、約72 h或更短、約48 h或更短、約36 h或更短、或約24 h或更短之反應時間內仍達成至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約95%、至少約98%或至少約99%或100%之轉化%。

適於達成該等轉化率之反應條件可關於胺基轉移酶之濃度或量、受質、輔因子、緩衝液、共溶劑、pH及/或包括溫度及反應時間之條件來確定，如下文及實例中進一步闡述。

使用胺基轉移酶之詳細方法

對於上述方法，較佳使用以參考編號ATA-217獲自Codexis Inc.之 ω -

胺基轉移酶(Codex® ATA Screening Kit之一部分)以及其他遺傳修飾之 ω -胺基轉移酶變體(亦獲自Codexis Inc.)。該等遺傳修飾之 ω -胺基轉移酶闡述於(例如)美國專利第8, 470, 564號中。

在本文且闡釋於實例中之實施例中，可用於該等方法中之適宜反應條件之各種範圍包括(但不限於)胺基供體、pH、溫度、緩衝液、溶劑系統、受質負載、酶(胺基轉移酶)負載、輔因子負載、壓力及反應時間之範圍。其他適於實施所主張胺基轉移酶方法之反應條件可易於根據本文所提供之指導藉由常規實驗來最佳化，該常規實驗包括(但不限於)在濃度、pH、溫度、溶劑條件之實驗反應條件下使胺基轉移酶及受質化合物接觸，及檢測產物化合物。

在本發明之一個實施例中，胺基轉移酶使用異丙胺(在本文中亦稱為「IPM」)作為胺供體。適宜反應條件包含以至少約0.1 M至約3.0 M、0.2M至約2.5 M、約0.5M至約2 M或約1M至約2 M之濃度存在之胺供體、具體而言IPM。在一些實施例中，胺基供體係以約0.1M、0.2 M、0.3 M、0.4 M、0.5 M、0.6 M、0.7 M、0.8 M、1.0 M、1.5 M、2.0 M、2.5 M或3.0 M之濃度存在。可使用更高濃度之胺供體(例如IPM)將平衡移位朝向胺產物形成。

適宜反應條件通常亦包含輔因子。在一個實施例中，輔因子係吡哆醛-5'-磷酸酯(亦稱為吡哆醛-磷酸酯PLP、P5P)。在一些實施例中，輔因子PLP天然存在於細胞提取物中且無需補充。在其他實施例中，例如當使用部分地純化或純化之胺基轉移酶時，適宜反應條件包含添加至酶反應混合物中之輔因子。適宜反應條件可包含以約0.1 g/L至約10 g/L、約0.2 g/L至約5 g/L、約0.5 g/L至約2.5 g/L之濃度存在輔因子(較佳PLP)。在一

些實施例中，反應條件包含約0.1 g/L或更少、0.2 g/L或更少、0.5 g/L或更少、1 g/L或更少、2.5 g/L或更少、5 g/L或更少或10 g/L或更少之PLP濃度。在一些實施例中，可在反應開始時添加輔因子及/或在反應期間添加額外輔因子。

考慮到(例如)產物化合物之期望量、受質濃度對酶活性之效應、酶在反應條件下之穩定性及受質至產物之轉化%，反應混合物中式(I)或(I-a)之受質化合物之濃度可有所變化。在一些實施例中，適宜反應條件包含至少約0.5 g/L至約200 g/L、1g/L至約200 g/L、5g/L至約150 g/L、約10g/L至約100 g/L、20g/L至約100 g/L或約50g/L至約100 g/L之受質化合物負載。在一些實施例中，適宜反應條件包含至少約0.5 g/L、至少約1 g/L、至少約5 g/L、至少約10 g/L、至少約15 g/L、至少約20 g/L、至少約30 g/L、至少約50 g/L、至少約75 g/L、至少約100 g/L、至少約150 g/L或至少約200 g/L或甚至更大之受質化合物負載。

適宜反應條件包含約0.01 g/L至約50 g/L；約0.05g/L至約50 g/L；約0.1g/L至約40 g/L；約1g/L至約40 g/L；約2g/L至約40 g/L；約5g/L至約40 g/L；約5g/L至約30 g/L；約0.1g/L至約10 g/L；約0.5g/L至約10 g/L；約1g/L至約10 g/L；約0.1g/L至約5 g/L；約0.5g/L至約5 g/L；或約0.1g/L至約2 g/L之胺基轉移酶濃度。在一些實施例中，胺基轉移酶濃度為約0.01 g/L、0.05 g/L、0.1 g/L、0.2 g/L、0.5 g/L、1 g/L、2 g/L、5 g/L、10 g/L、15 g/L、20 g/L、25 g/L、30 g/L、35 g/L、40 g/L或50 g/L。

在轉胺反應之過程期間，反應混合物之pH可改變。反應混合物之pH可維持在期望pH下或在期望pH範圍內。此可藉由在反應之前及/或在反應

過程期間添加酸或鹼進行。或者，可藉由使用緩衝液控制pH。在一些實施例中，適宜反應條件包含包括約6至約12之pH、約6至約10之pH、約6至約8之pH、約7至約10之pH、約7至約9之pH或約7至約8之pH之溶液pH。在一些實施例中，反應條件包含約6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5或12之溶液pH。

因此，在一些實施例中，反應條件包含緩衝液。適於維持期望pH範圍之緩衝液為業內已知且包括(例如但不限於)硼酸鹽、碳酸鹽、磷酸鹽、三乙醇胺緩衝液及諸如此類。在一些實施例中，緩衝液係硼酸鹽。在該方法之一些實施例中，適宜反應條件包含三乙醇胺之緩衝液溶液，其中三乙醇胺濃度為約0.01 M至約0.4 M、0.05M至約0.4 M、0.1M至約0.3 M或約0.1M至約0.2 M。在一些實施例中，反應條件包含約0.01 M、0.02 M、0.03 M、0.04 M、0.05 M、0.07 M、0.1 M、0.12 M、0.14 M、0.16 M、0.18 M、0.2 M、0.3 M或0.4 M之三乙醇胺濃度。在一些實施例中，反應條件包含水作為適宜溶劑，且不存在緩衝液。

在轉胺方法之實施例中，例如考慮到在較高溫度下反應速率之提高及在反應時間段期間酶之活性，可使用適於反應條件之溫度。因此，在一些實施例中，適宜反應條件包含約10°C至約70°C、約10°C至約65°C、約15°C至約60°C、約20°C至約60°C、約20°C至約55°C、約30°C至約55°C或約40°C至約50°C之溫度。在一些實施例中，適宜反應條件包含約10°C、15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C、45°C、50°C、55°C、60°C、65°C或70°C之溫度。在一些實施例中，酶促反應期間之溫度可在整個反應過程中維持在某一溫度。在一些實施例中，酶促反應期間之溫度可調整超過在反應過程期間之溫度曲線。

本發明方法通常在溶劑中實施。適宜溶劑包括水、水性緩衝液溶液、有機溶劑、聚合溶劑及/或共溶劑系統，該系統通常包含水性溶劑、有機溶劑及/或聚合溶劑。水性溶劑(水或水性共溶劑系統)可為pH緩衝的或未緩衝的。在一些實施例中，胺基轉移酶方法通常在包含以下之水性共溶劑系統中實施：有機溶劑(例如，乙醇、異丙醇(IPA)、二甲亞砜(DMSO)、乙酸乙酯、乙酸丁酯、1-辛醇、庚烷、辛烷、甲基第三丁基醚(MTBE)、甲苯及諸如此類)、離子或極性溶劑(例如，1-乙基-4-甲基咪唑鎓四氟硼酸鹽、1-丁基-3-甲基咪唑鎓四氟硼酸鹽、1-丁基-3-甲基咪唑鎓六氟磷酸酯、甘油、聚乙二醇及諸如此類)。在一些實施例中，共溶劑可為極性溶劑，例如多元醇、二甲亞砜、DMSO或低碳數醇。水性共溶劑系統之非水性共溶劑組份可與水性組份混溶，從而提供單一液相，或可與水性組份部分地混溶或不混溶，從而提供二個液相。實例性水性共溶劑系統可包含水及一或多種選自有機溶劑、極性溶劑及多元醇溶劑之共溶劑。一般而言，水性共溶劑系統之共溶劑組份經選擇使得其在反應條件下不會不利地去活化胺基轉移酶。適當共溶劑系統可易於藉由利用酶活性分析(例如本文所闡述之彼等)量測在候選者溶劑系統中具有所定義之所關注受質之指定胺基轉移酶的酶活性來鑑別。

在該方法之一些實施例中，適宜反應條件包含水性共溶劑，其中共溶劑包含多元醇溶劑、具體而言二醇。適宜多元醇溶劑之實例包括(例如但不限於)聚乙二醇、聚乙二醇甲醚、二乙二醇二甲醚、三甘醇二甲醚及聚丙二醇。在一些實施例中，水性共溶劑包含聚乙二醇，該聚乙二醇可以不同分子量使用。尤其有用者係較低分子量之二醇，例如PEG200至PEG600。因此，在一些實施例中，水性共溶劑包含約1 v/v%至約40

v/v%；約1 v/v%至約40 v/v%；約2 v/v%至約40 v/v%；約5 v/v%至約40 v/v%；2 v/v%至約30 v/v%；5 v/v%至約30 v/v%；1 v/v%至約20 v/v%；約2 v/v%至約20 v/v%；約5 v/v%至約20 v/v%；約1 v/v%至約10 v/v%；約2 v/v%至約10 v/v%之PEG200。在一些實施例中，適宜反應條件包含包括約1 v/v%、2 v/v%、5 v/v%、10 v/v%、15 v/v%、20 v/v%、25 v/v%、30 v/v%、35 v/v%、35 v/v %或約40 v/v%之PEG200之水性共溶劑。

在該方法之一些實施例中，適宜反應條件包含水性共溶劑，其中共溶劑包含約1%(v/v)至約80% (v/v)、約1%(v/v)至約70% (v/v)、約2%(v/v)至約60% (v/v)、約5%(v/v)至約40% (v/v)、10%(v/v)至約40% (v/v)、10%(v/v)至約30% (v/v)、或約10%(v/v)至約20% (v/v)之DMSO。在該方法之一些實施例中，適宜反應條件包含包括至少約1%(v/v)、5%(v/v)、10%(v/v)、15%(v/v)、20%(v/v)、25%(v/v)、30%(v/v)、35%(v/v)、40%(v/v)、45%(v/v)、50%(v/v)、55%(v/v)、60%(v/v)、65%(v/v)、70%(v/v)、75%(v/v)或80% (v/v)之DMSO之水性共溶劑。

轉胺反應中所用反應物之量通常將端視期望產物之量及隨之使用之胺基轉移酶受質之量而變化。熟習此項技術者將易於瞭解如何改變該等量以使其適應期望之生產力水準及生產規模。

在一些實施例中，添加反應物之次序並不關鍵。可將反應物同時一起添加至溶劑(例如，單相溶劑、二相水性共溶劑系統及諸如此類)中，或另一選擇為，可單獨添加一些反應物，且在不同時間點一起添加一些反應物。舉例而言，可首先將輔因子、胺基轉移酶及胺基轉移酶受質添加至溶劑中。

可將固體反應物(例如，酶、鹽等)以各種不同形式(包括粉末(例如，凍乾、噴霧乾燥及諸如此類)、溶液、乳液、懸浮液及諸如此類)提供至反應中。可使用熟習此項技術者已知之方法及設備容易地凍乾或噴霧乾燥該等反應物。舉例而言，蛋白質溶液可以小等份試樣冷凍在 -80°C 下，然後將其附加至預冷之凍乾室中，隨後施以真空。

為在使用水性共溶劑系統時改良混合效率，可首先添加胺基轉移酶及輔因子並將其混合成水相。然後添加有機相並加以混合，隨後添加胺基轉移酶受質。或者，可在有機相中預混合胺基轉移酶受質，之後將其添加至水相中。

通常容許轉胺反應繼續進行，直到酮受質至胺產物之進一步轉化不會隨反應時間顯著變化，例如少於10%之受質轉化，或少於5%之受質轉化。在一些實施例中，容許反應繼續進行，直到受質酮完全或幾乎完全轉化為產物胺為止。受質至產物之轉變可使用已知方法藉由檢測受質及/或產物來監測。適宜方法包括氣相層析、HPLC及諸如此類。在反應混合物中生成之手性胺產物之轉化產率通常大於約50%，亦可大於約60%，亦可大於約70%，亦可大於約80%，亦可大於90%，且通常大於約97%。

通常，在適宜反應條件下，轉胺反應繼續進行約120 h或更少、約96 h或更少、約72 h或更少、約48 h或更少、約36 h或更少、約24 h或更少、約18 h或更少或約12 h或更少之反應時間。

在一些實施例中，使用胺基轉移酶在適宜反應條件下製備式(VIII-1)及(VIII-aa)之化合物之方法，使得酮受質(例如分別式(I)及(I-a)之化合物)在約120 h或更少、約96 h或更少、約72 h或更少、約48 h或更少、約36 h或更少、約24 h或更少或甚至更少之時間內至少約91%、92%、93%、

94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多的轉化為胺產物化合物(例如分別式(VIII-1)及(VIII-aa)之化合物)。

在另一實施例中，適宜反應條件包含向反應溶液中加載初始受質，然後使其與胺基轉移酶接觸。利用化合物之額外受質隨時間以連續添加方式以至少約1 g/L/h、至少約2 g/L/h、至少約4 g/L/h、至少約6 g/L/h或更高之速率進一步補充此反應溶液。因此，根據該等適宜反應條件，將胺基轉移酶添加至具有至少約20 g/L、30 g/L或40 g/L之初始受質負載之溶液中。然後在此胺基轉移酶添加之後，將額外受質以約2 g/L/h、4 g/L/h、或6 g/L/h之速率連續添加至溶液中，直至達到至少約30 g/L、40 g/L、50 g/L、60 g/L、70 g/L、100 g/L、150 g/L、200 g/L或更大之遠遠更高之最終受質負載為止。因此，在該方法之一些實施例中，適宜反應條件包含將胺基轉移酶添加至具有至少約20 g/L、30 g/L或40 g/L之初始受質負載之溶液中，隨後將其他受質以約2 g/L/h、4 g/L/h或6 g/L/h之速率添加至溶液中，直至達到至少約30 g/L、40 g/L、50 g/L、60 g/L、70 g/L、100 g/L或更大之最終受質負載。此受質補充反應條件容許達成更高之受質負載同時維持至少約91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大之高酮受質至胺產物轉化率。在此方法之一些實施例中，所添加之其他受質在包含至少約0.5 M、至少約1.0 M、至少約2.5 M、至少約5.0 M、至少約7.5 M、至少約10.0 M濃度之異丙胺或異丙胺乙酸酯之溶液中。

在該等方法之一些實施例中，該轉胺反應可包含以下適宜反應條件：(a)約5 g/L至200 g/L之受質負載；(b)約0.1 g/L至50 g/L之胺基轉移酶；(c)約0.1 M至4 M之異丙胺(IPM)；(d)約0.1 g/L至10 g/L之吡哆醛磷

酸酯(PLP)輔因子；(e)約6至10之pH；及(f)約30°C至60°C之溫度。

在該等方法之一些實施例中，轉胺反應可包含以下適宜反應條件：
(a)約10g/L至約80 g/L之受質負載；(b)約0.5g/L至25 g/L之胺基轉移酶；
(c)約0至10 v/v%之PEG200；(d)約0.1 M至2 M之異丙胺(IPM)；(e)約0.1 g/L至1 g/L之吡哆醛磷酸酯(PLP)輔因子；(f)約8至10之pH；(g)約40°C至55°C之溫度及(h)18 hr至36 hr之反應時間。

在該等方法之一些實施例中，轉胺反應可包含以下適宜反應條件：
(a)約25 g/L至約100 g/L之受質負載；(b)約0.5g/L至10 g/L之胺基轉移酶；(c)約0至10 v/v%之PEG200；(d)約0.1 M至2 M之異丙胺(IPM)；(e)約0.1g/L至1 g/L之吡哆醛磷酸酯(PLP)輔因子；(f)約0.005 M至約0.1 M之硼酸鹽(或相當)緩衝液；(g)約8至10之pH；及(h)約40°C至55°C之溫度。

在一些實施例中，實施其他反應要素或其他技術以補充反應條件。該等可包括採取措施以穩定或防止酶去活化、減少產物抑制、使反應平衡移位至產物形成。

因此，在製備胺(例如手性胺)之方法之一些實施例中，可添加額外量之胺基受體(至多飽和)及/或可自反應混合物連續去除所形成之胺基受體(酮)。舉例而言，可使用溶劑橋或兩相共溶劑系統將胺產物移至萃取溶液中，且藉此降低胺產物之抑制且亦使平衡移位朝向產物形成(例如，參見Yun及Kim, 2008, Biosci. Biotechnol. Biochem. 72(11):3030 -3033)。

在一些實施例中，倘若胺基供體之選擇產生具有高於水之蒸氣壓力之羰基副產物(例如，低沸點連產物，例如揮發性有機羰基化合物)，則可藉由利用非反應性氣體吹掃反應溶液或藉由施加真空以降低反應壓力並去除氣相中之羰基副產物來去除羰基副產物。非反應性氣體係任一不與反應

組份反應之氣體。各種非反應性氣體包括氮及稀有氣體(例如，惰性氣體)。在一些實施例中，非反應性氣體係氮氣。在一些實施例中，該方法中所使用之胺基供體係異丙胺(IPM)，其在將胺基轉移至胺基受體後形成羰基副產物丙酮。可藉由用氮氣吹掃或將真空施加至反應溶液並藉由丙酮陷阱(例如冷凝器或其他冷阱)去除氣相之丙酮來去除丙酮。或者，可藉由使用胺基轉移酶還原成異丙醇來去除丙酮。

在上文方法之一些實施例中，倘若去除羰基副產物，則可在轉胺反應期間添加相應胺基供體以補足胺基供體及/或維持反應之pH。補足胺基供體亦使平衡移位朝向產物形成，藉此提高受質至產物之轉化。因此，在其中胺基供體係異丙胺且丙酮產物經原位去除之一些實施例中，可將異丙胺添加至溶液中以補足在丙酮去除期間失去之胺基供體。

在其他實施例中，將受質化合物轉化為產物化合物之上述方法中之任一者可進一步包含一或多個選自以下之步驟：萃取；分離；純化；及產物化合物之結晶。用於萃取、分離、純化及/或結晶藉由上文所揭示方法所產生之產物胺自生物催化反應混合物之方法、技術及方案為熟習此項技術者習知及/或藉助常規實驗來評價。另外，下文實例中提供闡釋性方法。

在另一發明實施例中，在轉胺反應後，然後可使用所獲得之式(VIII)或(VIII-a)，尤其(VIII-1)或(VIII-aa)之化合物或其鹽(其中Ra及Re係氫)藉由(例如)使式(VIII)，尤其(VIII-1)或(VIII-aa)之化合物(其中Ra係氫)與引入此一胺基保護基團(例如第三丁氧基羰基)之試劑反應來製造式(VIII)或(VIII-a)，尤其(VIII-1)及(VIII-aa)之相應化合物，其中Ra係氫且Re係氮保護基團(例如第三丁氧基羰基)。

另一選擇為或隨後，然後可在(例如)50°C至80°C(例如65°C至75°C)範圍內之溫度下使式(VIII)或(VIII-a)，尤其(VIII-1)或(VIII-aa)之化合物之視情況胺基保護之類似物(其中Ra係氫且Rc係氫或氮保護基團，較佳氫)與活化試劑(例如亞硫醯氯)在醇，尤其乙醇存在下反應，得到式(VIII)或(VIII-a)，尤其(VIII-1)或(VIII-aa)之相應化合物，其中Ra係C₁-C₆-烷基，尤其乙基。

可直接或以類似方式用於此順序之步驟之適當條件及試劑可參見(例如)WO 2008/083967A，尤其其中之實例8及9。

根據方案7、7-a及7-aa之反應：

在另一實施例中，轉變包含包括以下之方法(單獨或與緊接地或其他前述及隨後一或多個步驟一起形成發明實施例)：使式(I)，尤其(I-a)之化合物(其中Ra係羧基保護基團或尤其C₁-C₆-烷基，例如乙基)分別與式(IX)、Rb-S(=O)-NH₂，尤其(IX-a)之亞磺醯胺化合物及/或其鏡像異構物或其鹽反應，其中Rb係較佳選自由以下組成之群之有機部分：C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基；尤其巨大部分，例如第三烷基(例如第三丁基)或芳基(例如對甲苯基)部分；得到式(X)，尤其式(X-a)之亞磺醯亞胺化合物，其中Rb係如剛才針對式(IX)化合物所定義且Ra係如剛才所

定義。

此反應較佳如下進行：例如在埃爾曼反應(Ellman reaction)之條件下(例如參見F. Chemla, F. Ferreira, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 8244)，尤其在適當溶劑或溶劑混合物(例如鹵化烴(例如二氯甲烷)或醚(例如四氫呋喃))中，較佳在每週活性之酸性觸媒(例如作為路易斯酸之對甲苯磺酸吡啶鎘、 $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ 或 $\text{Ti}(\text{OEt})_4$)存在下(例如參見T. Boulwood, D. P. Affron, A. D. Trowbridge, J. A. Bull, *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 6632)，例如在0至100°C(例如15°C至70°C)範圍內之溫度下。

在該反應之後較佳實施包含以下之方法(亦單獨或與緊接地或其他前述及隨後一或多個步驟一起形成發明實施例)：在還原劑存在下還原式(X)，尤其(X-a)之化合物，得到式(XI)之亞磺醯胺化合物或其鹽，尤其係式(XI-a)，更佳係式(XI-aa)之亞磺醯胺化合物或其鹽，其中Rb及Ra係如上文針對式(X)化合物所定義。

較佳氫作為還原劑，在諸如Ru等觸媒存在下，例如在利用(例如)異丙醇作為溶劑之轉移催化條件，在40-90°C之較佳溫度下，使用錯合物氫化物，例如鹼金屬硼氫化物(例如硼氫化鈉)(若期望，在酸(例如硼酸、甲苯磺酸或苯甲酸)存在下)、鹼金屬鋁氫化物(例如氫化鋰鋁)。

該反應較佳在常規溶劑(例如醚，例如二乙醚或四氫呋喃)且在適當溫度(例如在-78°C至40°C(例如-78°C至20°C)範圍內)下進行。

或者，可在低溫下(例如在-100°C至0°C之範圍內，例如在-78°C下)在適當溶劑(例如醚，例如四氫呋喃)中使用二異丁基氫化鋁、硼烷、L-Selectride (三-第二丁基(氫)硼酸鋰-(1-))或 LiBEt_3H (三乙基硼氫化鋰)。

然後可使式(XI)，尤其(XI-a)之化合物進一步反應以產生式(VIII)，

尤其(VIII-a)之化合物或其鹽。在此反應中，在酸存在下水解式(XI)之亞磺醯胺化合物或其鹽，尤其式(XI-a)之亞磺醯胺化合物或其鹽，其中Rb係如針對式(X)化合物所定義且Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，較佳係乙基或氫，更佳乙基。

適宜酸係有機(例如乙酸或檸檬酸)或較佳無機酸(例如氫鹵酸(例如鹽酸)、硫酸、磷酸或其兩者或更多者之混合物)，較佳呈具體而言包含另一有機溶劑(例如醇(例如甲醇、乙醇或異丙醇)或醚(例如1, 4-二噁烷、四氫呋喃、第三丁基甲醚或乙醚)或該等溶劑中之兩者或更多者之混合物)之水溶液形式，較佳在例如0至60℃(例如20℃至25℃或至多回流)範圍內之溫度下。

利用所使用之酸，此較佳產生式(VIII)，尤其(VIII-a)之化合物之鹽。

若期望，然後可使用常規方法將式(VIII)，尤其(VIII-a)之化合物之鹽轉化為式(VIII)，尤其(VIII-a)之游離化合物，或使用(例如)離子交換層析、與鹼(例如鹼金屬氫氧化物)中和或諸如此類轉化為不同的鹽。

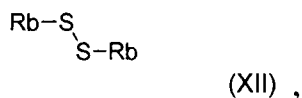
另一選擇為，可在不存在水下(例如藉由使用無水無機酸(例如氫鹵酸(例如鹽酸)，其係作為氣體使用或使用適宜試劑原位生成))、在式Ra-OH之醇(其中Ra選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，尤其乙基)存在下將化合物(XI)，尤其化合物(XI-a)分別轉變為化合物(VIII)，尤其化合物(VIII-a)，其中Ra係C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

適於原位生成無機酸之試劑例如選自亞磺醯氯、亞磺醯溴、PCl₃、PCl₅、草磺醯氯、Me₂C=C(Cl)NMe₂、PhCOCl、PBr₃、PBr₅、Ph₃PBr₂、草磺醯溴或Me₂C=C(Br)NMe₂。

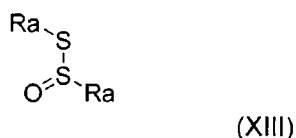
該反應較佳在常規溶劑(例如醇、例如甲醇或乙醇)中且在適當溫度(例如在0至50°C (例如10°C 至30°C)範圍內)下進行。

適當反應條件之實例可參見 *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2062-2065 (亞磺醯基胺之去保護及伴隨酯化；亞磺醯氯在甲醇中)。

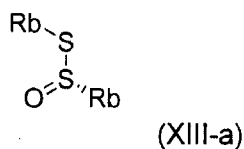
式(IX) Rb-S(=O)-NH_2 ，尤其(IX-a)之亞磺醯胺化合物(其中Rb係第三丁基)在業內熟知且可以兩種立體異構形式自市面購得(例如，參見Sigma-Aldrich，(R)-鏡像異構物之目錄號497401、CAS編號196929-78-9；(S)-鏡像異構物之目錄號513210、CAS編號343338-28-3)。具有Rb之其他含義(亦及對於Rb = 第三丁基之已知含義)之化合物可藉由以下獲得：例如(對於較佳不對稱之式(IX-a)化合物之製造)單-氧化式(XII)之二硫化物



其中Rb係如上文針對式(IX)，尤其(IX-a)之化合物所定義，隨後利用金屬醯胺醯胺化所得式(XIII)、



尤其式(XIII-a)之亞磺醯硫化物，

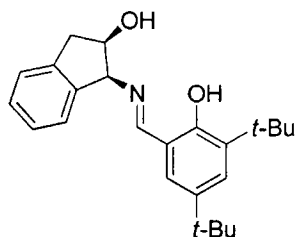


及/或其鏡像異構物，

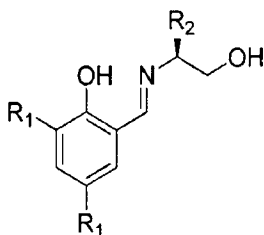
其中Rb係如剛才所定義，且隨後進行 $\text{S}_{\text{N}}2$ 攻擊，得到式 Ra-SH 之硫醇及式(IX)，尤其(IX-a)之化合物。

對於經由(XIII-a)合成式(IX-a)化合物，不對稱單-氧化較佳在以下配

體存在下實施：手性配體，例如下式之苯并環戊醇亞胺(稱為(1*S*, 2*R*)-1-[(2-羥基-3, 5-二-第三丁基-亞苄基)-胺基]-二氫茚-2-醇)



或選自具有下式之彼等之其他配體：



其中 R_1 係氫、第三丁基或甲氧基；且 R_2 係第三丁基、異丙基、苄基或苯基。

作為實例，可提及具有名稱N-(3, 5-二-第三丁基柳基亞甲基)-第三白胺醇之化合物(其中 $R_1 = R_2 =$ 第三丁基)。

單-氧化較佳利用過氧化物，尤其過氧化氫在適當溶劑(例如酮，例如丙酮)中，例如在Ellman等人(參見D. J. Weix, J. A. Ellman, *Org. Lett.* **2003**, 5, 1317)所闡述之條件下、在氧釩基錯合物、尤其雙-乙醯基丙酮酸氧釩存在下、在適當溶劑或溶劑混合物(例如酮，例如丙酮)中，較佳係在(例如)-20℃至20℃(例如-5℃至5℃)範圍內之較低溫度下達成。

然後使所得式(XIII)，尤其(XIII-a)之亞磺醯硫化合物在 S_N2 取代下與金屬醯胺、尤其鹼金屬醯胺(例如醯胺鋰)在適當溶劑或溶劑混合物中(例如在於環狀醚(例如四氫呋喃)中之 NH_3 中)，較佳係在低溫(例如在-100℃至0℃(例如-80℃至-50℃)範圍內)下反應，得到式(IX)，尤其(IX-a)之亞磺醯胺。

根據方案8、8-a及8-aa之反應：

在另一實施例中，若自式(I)，尤其(I-a)之化合物(其中Ra係氫)或其鹽開始，則該轉變包含包括以下之方法(單獨或與緊接地或其他前述及隨後一或多個步驟一起形成發明實施例)：使式(I)，尤其(I-a)之化合物(其中Ra係氫)或其鹽與羥基胺或其鹽反應，得到式(XVII)，尤其式(XVII-a)之化合物，其中Ra係氫。

該反應較佳利用羥基胺鹽(例如鹽酸羥胺)在適當溶劑或溶劑混合物中(例如在醇(例如乙醇)中)、在鹼(例如吡啶)存在下、在0至100℃範圍內(例如在20℃至90℃範圍內)之較佳溫度下進行。

在該反應之後較佳實施包含以下之方法(亦形成單獨發明實施例)：環化式(XVII)，尤其式(XVII-a)之化合物，得到式(XVIII)，尤其式(XVIII-a)之環狀O-醯基肟化合物。

該環化較佳在以化學計量或催化量，較佳係以催化量(例如0.05當量至0.5當量)存在之酸(例如有機酸，例如磺酸，例如對甲苯磺酸)存在下、在適當溶劑或溶劑混合物中(例如在甲苯中)、例如在50℃至反應混合物之回流溫度(例如70℃至90℃)之升高溫度下進行。

然後可藉由包含還原環狀O-醯基肟之方法使式(XVIII)，尤其(XVIII-a)之化合物進一步轉化(在本發明之另一方法中，作為單一步驟或與上文前述反應一起進行)，分別得到式(VIII)，尤其式(VIII-a)之化合物或其鹽，其中Ra係氫或羧基保護基團或尤其C₁-C₆-烷基，更尤其乙基。環狀肟衍生物至相應胺之還原通常係使用金屬催化之氫化反應(例如固體載體(如活性碳或氧化鋁)載Pd或Rh或Raney-Ni)或錯合物氫化物(例如硼氫化鈉或氫化鋁鋰)達成。

式(XVII)，較佳係式(XVII-a)之游離肟至式(VIII)之相應胺之替代直接還原通常可使用金屬催化之氫化反應(例如固體載體(如活性碳或氧化鋁)載Pd或Rh或Raney-Ni)或錯合物氫化物(例如硼氫化鈉或氫化鋁鋰)達成。

該還原可如下達成：使用氫，在過渡金屬觸媒(例如RhCl(PPh₃)₃、[Ru(S)-BINAP(對蒔蘿烴)Cl]Cl、Pd/C或Pt/C)存在下(若期望，在酸(例如苯甲酸)存在下)，例如在高達30巴(bar)之升高之壓力下，在適當溶劑或溶劑混合物(例如THF、甲醇或THF/水)中，例如在20℃至80℃(例如25℃至70℃)之溫度下；或藉由兩步驟方法之還原，其由以下組成：(1)使用氫化劑(例如硼氫化鈉)還原C-N雙鍵，隨後(2)在(例如)適當溶劑(例如醇，例如甲醇或乙醇)中、在(例如)0℃至回流溫度(例如20℃至50℃)範圍內之溫度下、使用氫及觸媒(例如具有或沒有載體之貴金屬觸媒，例如Pt或Pd或炭載Pd或Pt)還原N-O鍵。

根據方案9、9-a及9-aa之反應：

在另一實施例中，該轉變包含包括以下之方法(單獨或與緊接地或其他前述及隨後一或多個步驟一起形成發明實施例)：使式(I)，尤其(I-a)之化合物(其中Ra係氫或其鹽)與氨或銨鹽反應，得到式(XIX)，尤其(XIX-a)之化合物。該化合物亦可作為任一相對比率之雙鍵異構物之混合物存在。

該反應較佳進行銨鹽(例如乙酸銨)、在適當溶劑或溶劑混合物中(例如在有機酸(例如乙酸)中)、在50℃至150℃範圍內(例如在100℃至140℃範圍內)之較佳溫度下利用。

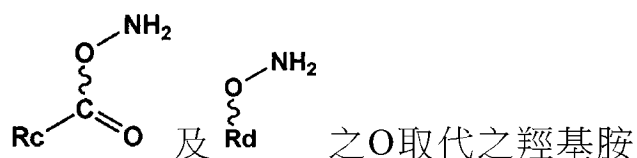
在該反應之後較佳實施包含以下之方法：還原式(XIX)，尤其(XIX-a)之化合物，得到式(XX)，尤其式(XX-a)之環狀內醯胺化合物。

該還原較佳如下進行：使用氫，在過渡金屬觸媒(例如Pd/C)存在下，在(例如)高達10巴(例如在3-8巴範圍內)之升高之壓力下，在適當溶劑或溶劑混合物(例如甲醇)中，在(例如)20℃至150℃(例如80℃至140℃)之溫度下。其他可能的還原方法包含使用除氫以外之氫化劑(例如氫化物鹽，例如氫化鋁鋰)還原C-N雙鍵。(例如，參見(Chem. Ber. 1971, 104, 2134-2142)。

然後可將化合物(XX)，尤其化合物(XX-a)轉化為化合物(VIII)、尤其化合物(VIII-a)，如(例如) WO 2008/083967A、尤其其中之實例7及13中所闡述。Ra = H之化合物(VIII)可藉由在水性酸性條件處理化合物(XX)(例如藉由在回流下在乙酸及濃鹽酸之混合物中加熱化合物(XX))獲得。Ra = C₁-C₆-烷基之化合物(VIII)可藉由在升高之溫度(例如80-120℃)下、在潛在地用作反應溶劑之醇存在下、利用無機酸(例如硫酸或鹽酸)或有機酸(例如對甲苯磺酸)處理化合物(XX)獲得。

根據方案10、10-a及10-aa之反應：

在另一實施例中，轉變包含包括以下之方法(單獨或與緊接地或其他前述及隨後一或多個步驟一起形成發明實施例)：使式(I)，尤其(I-a)之化合物(其中Ra係氫或羧基保護基團或尤其C₁-C₆-烷基，更尤其係乙基)與以下化合物反應：選自



或在每一情形下其鹽，其中Rc及Rd獨立地選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且

具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、 $S(=O)$ -或 $S-(=O)_2$ -之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、 C_1 - C_7 -烷基、鹵基- C_1 - C_7 -烷基及 C_1 - C_7 -烷氧基、鹵基- C_1 - C_7 -烷氧基及 C_1 - C_7 -烷氧基- C_1 - C_7 -烷基；較佳 $O-(C_1-C_6\text{-烷基-鹵基})$ -羥基胺、 $O-(C_6-C_{10}\text{-芳基-}C_1-C_6\text{-烷基})$ -羥基胺或 $O-C_1-C_6\text{-烷基-羥基胺}$ 或在每一情形下其鹽，分別得到式(XVII***)，尤其(XVII***-a)之化合物或其鹽。

與O取代之羥基胺之反應較佳如下進行：在以化學計量或催化量，較佳係以催化量(例如0.05當量至0.5當量)存在之酸(例如有機酸，例如磺酸，例如對甲苯磺酸)存在下，在適當溶劑或溶劑混合物中(例如在甲苯中)，在(例如)50℃至反應混合物之回流溫度(例如70℃至90℃)之升高之溫度下。

取代基Rc及Rd較佳以避免式(XVII***)化合物環化成式(XVIII)化合物之方式來選擇(參見方案8)，及/或若期望，可加以去除以得到其中A係羥基之相應化合物(即式(XVII)化合物)。

或者，為避免環化式(XVII***)化合物，Ra可具有除氫以外之所提及含義中之一者。

然後可藉由包含以下之方法使式(XVII***)，尤其(XVII***-a)之化合物進一步轉化(在本發明之另一方法中，作為單一步驟或與上文前述反應一起進行)：還原O取代之肟基團，分別得到式(VIII)，尤其式(VIII-a)之化合物或其鹽，其中Ra係氫或羧基保護基團或尤其 C_1 - C_6 -烷基，更尤其乙基。肟衍生物至相應胺之還原通常使用金屬催化之氫化反應(例如固體載體(如活性碳或氧化鋁)載Pd或Rh或Raney-Ni)或錯合物氫化物(例如硼氫

化鈉或氫化鋁鋰)達成。

該還原可如下達成：使用氫，在過渡金屬觸媒(例如RhCl(PPh₃)₃、[Ru(*S*)-BINAP(對蒚蘿烴)Cl]Cl、Pd/C或Pt/C)存在下(若期望，在酸(例如苯甲酸)存在下)，例如在高達30巴之升高之壓力下，在適當溶劑或溶劑混合物(例如THF、甲醇或THF/水)中，例如在20℃至80℃(例如25℃至70℃)之溫度下；或藉由兩步驟方法之還原，其由以下組成：(1)使用氫化劑(例如硼氫化鈉)還原C-N雙鍵，隨後(2)在(例如) 0℃至回流溫度(例如20℃至50℃)範圍內之溫度下、在(例如)適當溶劑(例如醇，例如甲醇或乙醇)中、使用氫及觸媒(例如具有或沒有載體之貴金屬觸媒，例如Pt或Pd或炭載Pd或Pt)還原N-O鍵。

後續式(VIII)化合物反應以產生NEP抑制劑

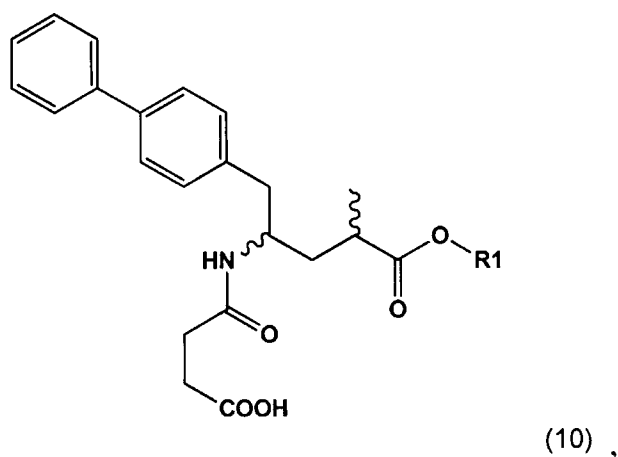
在本發明之另一實施例中，如上文所繪示之式(XV)、具體而言式(I)或(II)及式(XVI)、具體而言式(X)、(XVII)、(XVII*)、(XVII**)、(XVIII)及(IX)之中間物、具體而言新穎化合物或其較佳立體異構物及本發明方法之產物可用於合成NEP抑制劑或其鹽或前藥，具體而言其可用於合成包含γ-胺基-δ-聯苯-α-甲基烷酸或酸酯主鏈之NEP抑制劑。包含γ-胺基-δ-聯苯-α-甲基鏈烷酸或酸酯主鏈之NEP抑制劑或其前藥包括(例如)NEP抑制劑前藥*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸乙酯及相應NEP抑制劑*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸。

術語「NEP抑制劑」闡述抑制酶中性肽鏈內切酶(NEP, EC 3.4.24.11)之活性之化合物。

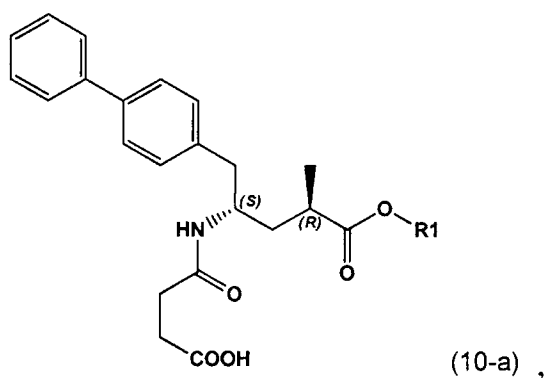
如本文上文所述之式(VIII)化合物或其鹽，較佳係式(VIII-a)或其

鹽，更佳係式(VIII-aa)或其鹽可進一步反應以獲得NEP抑制劑或其鹽或前藥，具體而言NEP抑制劑前藥*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基-甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸乙酯或相應NEP抑制劑*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸，如Ksander等人在*J. Med. Chem.* **1995**, 38, 1689-1700中所述或如WO 2008/31567中所述。

在本發明之較佳實施例中，式(VIII)，較佳係式(VIII-a)，更佳係式(VIII-aa)之化合物或其鹽藉由與琥珀酸或其衍生物，較佳係琥珀酸酐之反應來進一步反應，以獲得式(10)



較佳式(10-a)之NEP抑制劑前藥

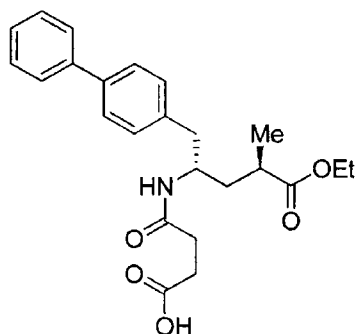


其中R1係氫或C₁-C₆-烷基，較佳係乙基。

氮官能基之去保護(即，去除Boc基團)、(若需要)重新引入乙酯基團且隨後與琥珀酸酐偶合，提供期望之NEP抑制劑前藥化合物。視情況，可

將酯皂化成游離酸，提供NEP抑制劑藥物化合物。

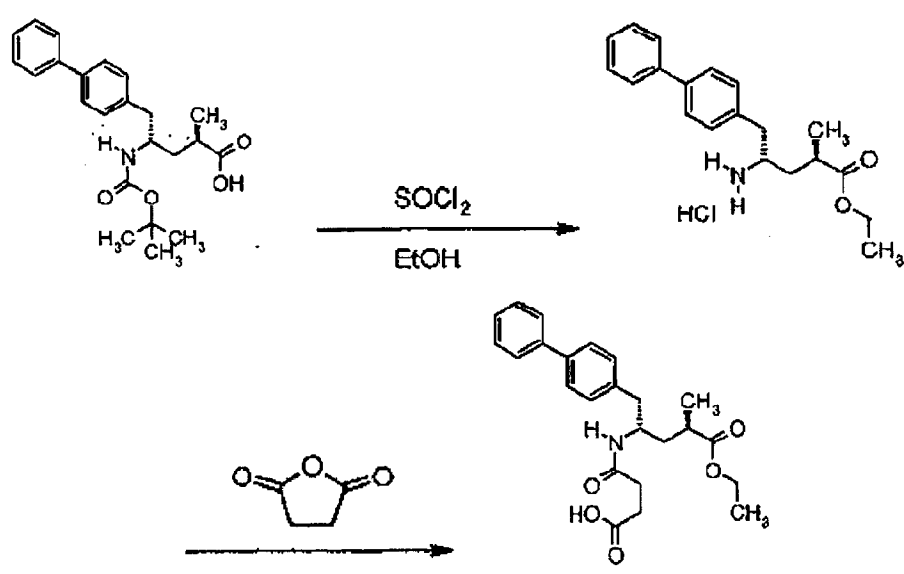
在一個實施例中，式(10-a)化合物係*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸乙酯(在此項技術中稱為AHU377)或其鹽。



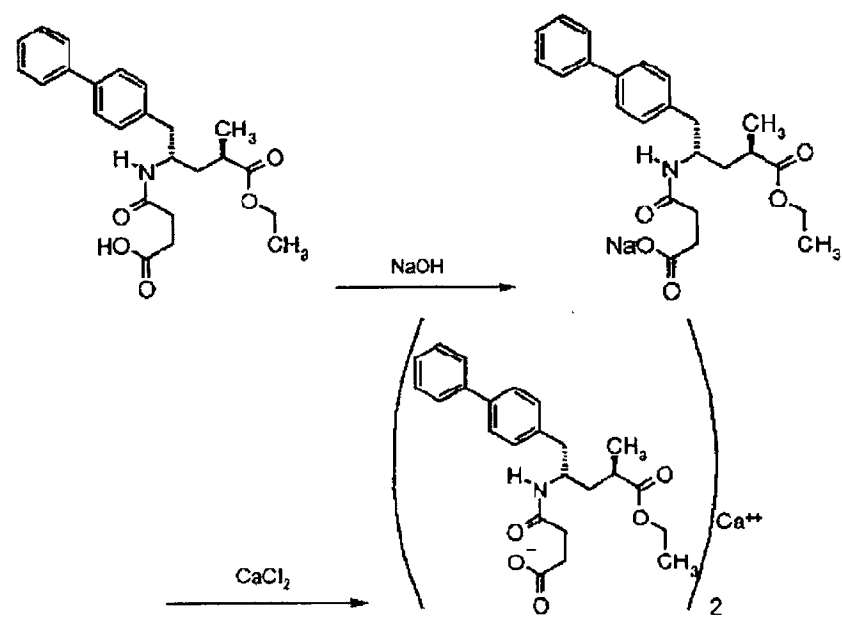
視情況使NEP抑制劑前藥*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸乙酯進一步反應以獲得NEP抑制劑*N*-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4*S*)-(對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2*R*)-甲基丁酸。

舉例而言，此轉化可使用Boc去保護之胺基酸(例如根據以下方案Z，其中在式(8-a)中Boc對應於R'且R''係H且R1係H)及胺基乙酯(以下方案Z中之右上方式，其中R' = H，R'' = H，R1 = Et)實施。若R1係乙基，則反應以相同方式進行。若R1係不同的烷基，則在此之前需要轉酯化或皂化。

方案Z：



若需要進一步轉化為各別鹽，則此可藉由實施以下額外步驟達成：



該等反應之條件為熟習此項技術者習知 (例如，參見 WO 2008/031567)。

化合物

本發明亦係關於上下文所提及之新穎化合物。自該等化合物，在實例中明確提及之彼等最佳。

實例

以下實例用於闡釋本發明而非限制其範圍，同時另一方面其表示反

應步驟、中間物及/或本發明方法之較佳實施例。

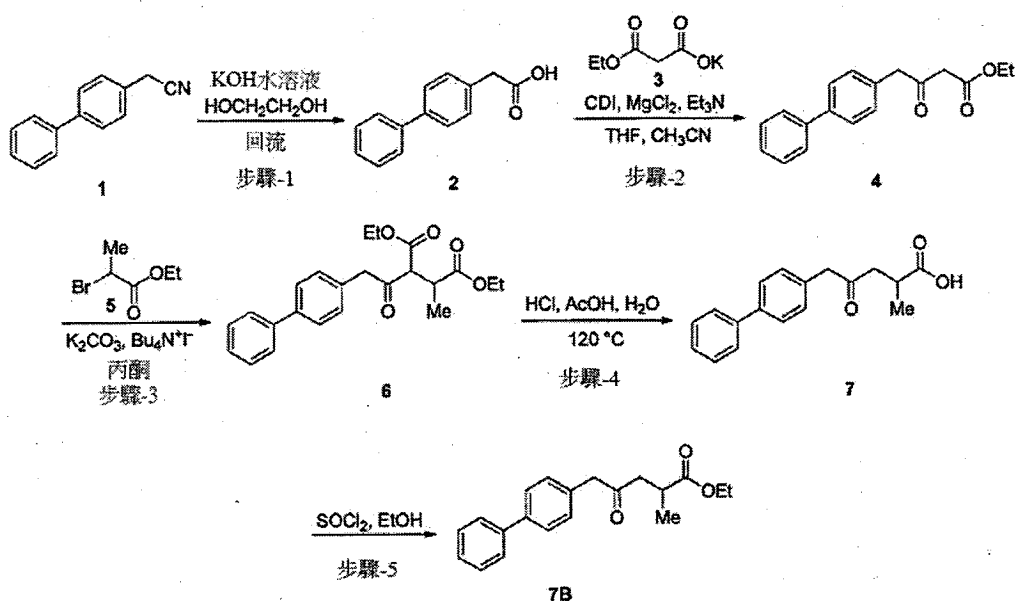
縮寫：

Aq.、aq.	水性
Ac	乙醯基
Bu	丁基
CDI	<i>N, N</i> -羰基二咪唑
Et	乙基
h	小時
Me	甲基
min	分鐘
NMR	核磁共振
Pd/C	碳載鈀
Ph	苯基
RT	室溫

在引用NMR數據中，使用以下縮寫：s，單峰；d，雙峰；t，三重峰；q，四重峰；quint.，五重峰；m，多重峰。

注意在實例中，化合物之編號(例如1或2)與由在以上括弧及申請專利範圍中之編號表示之化合物(例如(1)或(2))不同且與其區分開，此只為澄清範例。

綜述I



實例1：步驟-1 - 2-([1,1'-聯苯]-4-基)乙酸2之製造

向2-([1,1'-聯苯]-4-基)乙腈1(例如Sigma-Aldrich，目錄號133612，CAS編號31603-77-7)(100 g, 517.46 mmol)於乙二醇(1000 mL)中之溶液中添加氫氧化鉀(590 g, 10515 mmol)於水(1000 mL)中之溶液並將所得混合物加熱至120°C並攪拌16h。使反應混合物冷卻至0°C並在攪拌下使用濃HCl酸化。藉由過濾收集分離出之固體，用水洗滌並乾燥。將固體溶解於乙酸乙酯中並用水洗滌乙酸乙酯層，經硫酸鈉乾燥並在減壓下濃縮，得到白色固體。將固體吸收於石油醚中，攪拌約30 min，過濾並乾燥，得到白色固體狀2-([1,1'-聯苯]-4-基)乙酸2。(107.2 g, 97.6%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12.41 (br. s, 1 H), 7.59-7.66 (m, 4 H), 7.44-7.47 (m, 2 H); 7.34-7.37 (m, 3 H), 3.61 (s, 2 H) ppm; MS (MM-ES, APCI): 負模式257.0 $[\text{M} + \text{HCO}_2]^-$ 。

實例2：步驟-2 - 4-([1,1'-聯苯]-4-基)-3-側氧基丁酸乙酯4之製造

在0°C下在 N_2 下向2-([1,1'-聯苯]-4-基)乙酸2 (107 g, 504.12 mmol)於四氫呋喃(1000 mL)中之溶液中逐滴添加 N, N -羰基二咪唑(64.1 g, 395.3 mmol)並將所得混合物在相同溫度下攪拌15 min且然後升溫至室溫並攪拌

16 h。在單獨燒瓶中，在0℃下在N₂下向丙二酸單乙酯鉀鹽**3**(138 g, 810.76 mmol)於乙腈(1000 mL)中之攪拌懸浮液中相繼添加氯化鎂(96 g, 1008.3 mmol)及三乙胺(160 mL, 1147.9 mmol)，並在相同溫度下攪拌3 h且在室溫下攪拌2 h。然後將經活化酸混合物逐滴添加至攪拌之鎂鹽懸浮液中，且然後將所得混合物在室溫下攪拌24 h。然後將硫酸氫鈉(600 g)於H₂O (2 L)中之溶液添加至反應混合物中並攪拌5 min。用水對其進行進一步稀釋並用乙酸乙酯萃取。用水、5% NaOH溶液、最後用鹽水洗滌合併之有機層，經硫酸鈉乾燥並在減壓下濃縮，得到褐色固體。藉由管柱層析(矽膠，230-400網目；溶析液：於石油醚中之0-20%乙酸乙酯)純化所獲得之粗產物。在石油醚及乙醚(8:2)之混合物中漿液化所獲得之固體，過濾，用石油醚洗滌並乾燥，以獲得灰白色固體狀4-([1,1'-聯苯]-4-基)-3-側氧基丁酸乙酯**4**(128 g, 89.9%)。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.59-7.66 (m, 4 H), 7.42-7.47 (m, 2 H), 7.32-7.37 (m, 1 H), 7.25-7.28 (m, 2 H), 4.10 (q, 2 H), 3.91 (s, 2 H), 3.68 (s, 2 H), 1.18 (t, 3 H) ppm。

實例3：步驟-3 - 2-(2-([1,1'-聯苯]-4-基)乙醯基)-3-甲基琥珀酸二乙酯**6**之製造

在0℃下在N₂下向4-([1,1'-聯苯]-4-基)-3-側氧基丁酸乙酯**4** (64 g, 226.68 mmol)、碳酸鉀(63 g, 455.83 mmol)及四丁基碘化銨(17 g, 46.02 mmol)於丙酮(1800 mL)中之攪拌混合物中逐滴添加2-溴丙酸乙酯**5**(26.5 mL, 204.06 mmol)並將所得混合物在室溫下攪拌48 h。在減壓下濃縮反應混合物以去除丙酮並用水稀釋殘餘物並用乙酸乙酯萃取。用水及鹽水洗滌合併之有機層，經無水Na₂SO₄乾燥並在減壓下濃縮，得到酒紅色黏性油

狀粗產物**6**(159 g)。

所獲得之粗產物不經進一步純化即用於下一步驟中。

實例4：步驟-4 -5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸7**之製造**

將2-(2-([1,1'-聯苯]-4-基)乙醯基)-3-甲基琥珀酸二乙酯**6**(159 g, 415.73 mmol)、乙酸(1500 mL)、濃鹽酸(1500 mL)及水(750 mL)之混合物加熱至120°C並攪拌6 h。

在減壓下濃縮反應混合物並用水稀釋殘餘物並用乙酸乙酯萃取。使用水及鹽水洗滌合併之有機層，經無水Na₂SO₄乾燥並在減壓下濃縮，以獲得粗產物。

藉由管柱層析(兩次)(矽膠，230-400網目；溶析液：於石油醚中之0-35%乙酸乙酯)純化所獲得之粗產物，且然後用石油醚洗滌所獲得之固體並乾燥，得到白色固體狀5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸**7**(55.3 g, 47.1%)。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12.13 (br. s, 1H), 7.61-7.67 (m, 4 H), 7.45-7.48 (m, 2 H), 7.34-7.38 (m, 1 H), 7.27-7.29 (m, 2 H), 3.82 (s, 2 H), 2.88 (dd, 1 H), 2.72 (ddq, 1 H), 2.57 (dd, 1 H), 1.06 (d, 3 H) ppm；MS (MM-ES, APCI)：負模式281.0 [M - H]⁻。

實例5：步驟-5 - 5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸乙酯7B**之製造**

向5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸**7**(55 g, 194.8 mmol)於乙醇(500 mL)中之溶液中添加亞硫醯氯(43 mL, 589.5 mmol)並將所得混合物在80°C下攪拌3 h。

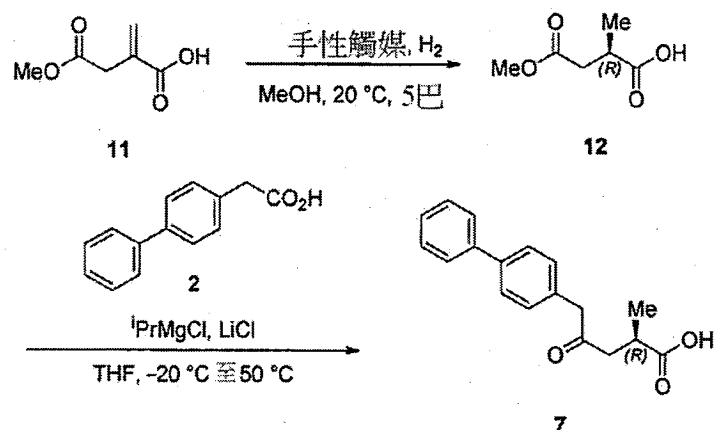
在減壓下濃縮反應混合物以去除揮發物並用水稀釋殘餘物並用乙酸乙酯萃取。使用水及鹽水洗滌合併之有機層，經無水Na₂SO₄乾燥並在減

壓下濃縮，以獲得粗產物。

將所獲得之粗產物與在另一批次中所獲得之產物(約14.1 g)混合並藉由管柱層析(兩次)(矽膠，230-400網目；溶析液：於石油醚中之0-3%乙酸乙酯)純化。在二個流份中收集淺黃色黏性油狀產物**7B**。(將二個流份溶解於二氯甲烷中並在減壓下在45°C下濃縮)。流份-1: 50.5 g (>99%純)；流份-2: 17 g (約95%純)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7.56-7.61 (m, 4 H), 7.43-7.47 (m, 2 H), 7.34-7.38 (m, 1 H), 7.27-7.30 (m, 2 H), 4.13 (q, 2 H), 3.77 (s, 2 H), 2.93-3.01 (m, 2 H), 2.50-2.57 (ddq, 1 H), 1.25 (t, 3 H), 1.17 (d, 3 H) ppm ; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 206.3, 175.7, 140.7, 140.0, 133.0, 129.9, 128.8, 127.5, 127.3, 127.1, 60.6, 49.8, 45.1, 34.9, 17.1, 14.2 ppm ; MS (MM-ES, APCI) : 正模式311.0 $[\text{M} + \text{H}]^+$; IR: 3029, 2977, 2361, 1717, 1603, 1519, 1486, 1458, 1403, 1375, 1338, 1262, 1184, 1041, 925, 837, 760, 737, 697 cm^{-1} 。

綜述II：



實例6：(R)-4-甲氧基-2-甲基-4-側氧基丁酸12之合成

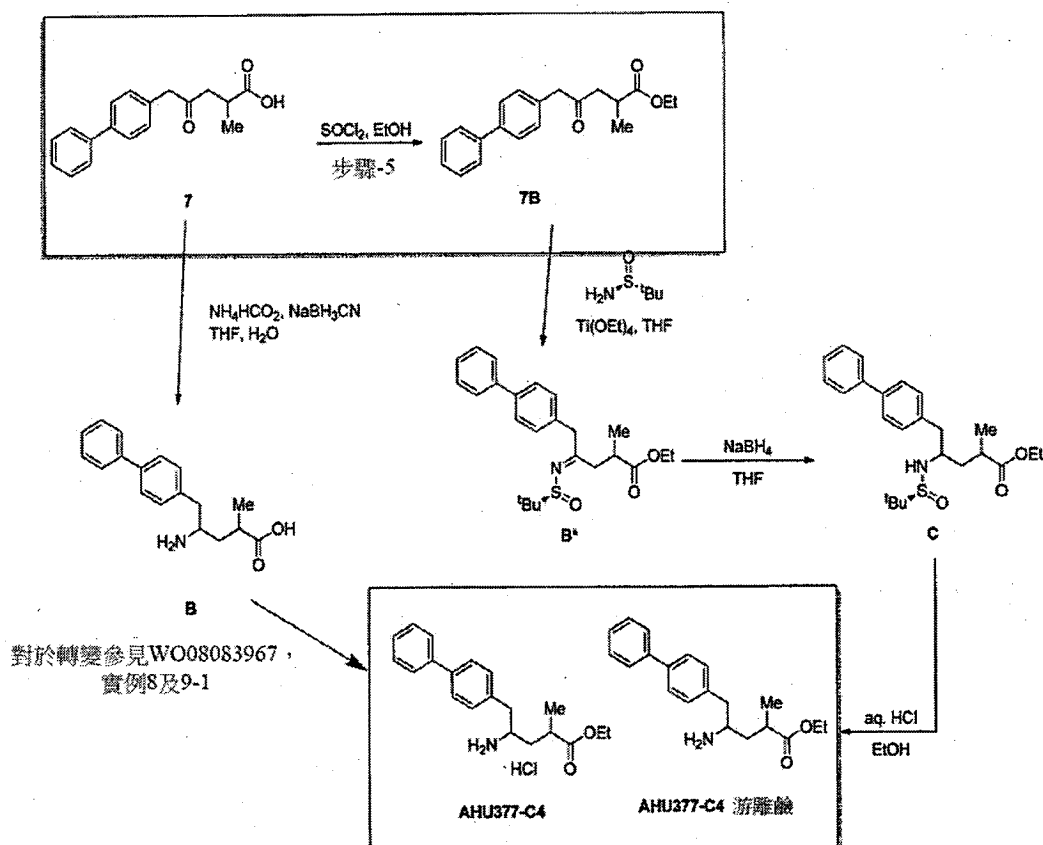
化合物 **12** 可自市面購得且可根據文獻程序(例如 *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 308-322 ; *Adv. Synth. Catal.* **2004**, 346, 1263-第 85 頁(發明說明書))

1266 ; *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 3983-4010 ; *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 14267-14271)自4-甲氧基-2-亞甲基-4-側氧基丁酸**11**來製備。

實例7：(R)-5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸7**之合成：**

在35℃下利用ⁱPrMgCl • LiCl於THF中之20%溶液(100 g, 137.7 mmol, 3.00 當量)將4-聯苯乙酸**2**(10.0 g, 45.70 mmol, 1.00 當量)於THF (36 mL)中之溶液處理20 min。在攪拌1.5 h後，使溶液冷卻至0℃。在單獨燒瓶中，在-15℃下利用ⁱPrMgCl • LiCl於THF中之20%溶液(41.8 g, 57.56 mmol, 1.25 當量)將化合物**12**(8.45 g, 54.83 mmol, 1.20 當量)於THF (48 mL)中之溶液處理20 min。在-15℃下攪拌10 min後，使溶液升溫至室溫且在此溫度下進一步攪拌45 min，之後經1 h添加至先前製備之4-聯苯乙酸**2**之雙陰離子之溶液中。使溶液升溫至5℃並攪拌15 h，之後藉由添加至1 M HCl水溶液(240 mL)中進行淬滅。將反應混合物攪拌30 min，然後利用乙酸異丙酯(2 × 200 mL)萃取。將有機層經硫酸鈉乾燥，過濾並在真空中濃縮，得到粗產物形式之化合物**7**。

綜述III：



實例8：5-([1,1'-聯苯]-4-基)-4-胺基-2-甲基戊酸B之製造

在室溫下將乙酸鉍(1.45 g, 18.81 mmol)添加至5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸7(242 mg, 0.857 mmol)於THF及水之混合物(1:1 V/V, 2.5 mL)中之溶液中。利用氰基硼氫化鈉(58 mg, 0.923 mmol)處理黃色懸浮液並在40℃下攪拌過夜。緩慢添加6 M鹽酸水溶液(5 mL)以控制氣體逸出，隨後添加乙酸乙酯(8 mL)。分離各相，且在減壓下濃縮有機層。將乙酸乙酯添加至殘餘物中，並在減壓下去除溶劑，得到5-([1,1'-聯苯]-4-基)-4-胺基-2-甲基戊酸B之相應米色固體狀鹽酸鹽(250 mg, 91.2%, dr 45:55，有利於順式-異構物)。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 順式-異構物): δ 12.35 (br. s, 1 H), 8.24 (br. s, 3 H), 7.64-7.68 (m, 4 H), 7.44-7.48 (m, 2 H), 7.33-7.37 (m, 3 H), 3.09 (dd, 1 H), 2.89 (dd, 1 H), 2.65 (ddq, 1 H), 1.93 (ddd, 1 H), 1.48

(ddd, 1 H), 1.01 (d, 3 H) ; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , 反式異構物): δ 12.31 (br. s, 1 H), 8.19 (br. s, 3 H), 7.64-7.68 (m, 4 H), 7.44-7.48 (m, 2 H), 7.34-7.38 (m, 3 H), 3.42 (br. s, 1 H), 3.05 (dd, 1 H), 2.89 (dd, 1 H), 2.65 (ddq, 1 H), 1.86 (ddd, 1 H), 1.58 (ddd, 1 H), 1.06 (d, 3 H) ppm ; MS (ES-API) : 正模式 284.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

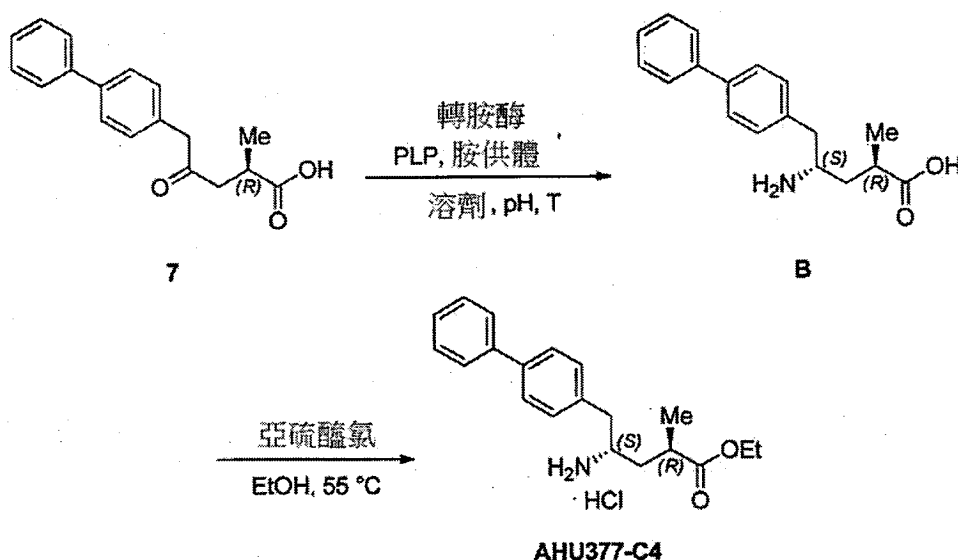
實例9 : (2*R*, 4*S*)-5-([1,1'-聯苯]-4-基)-4-胺基-2-甲基戊酸乙酯(AHU377-C4)

在室溫下向(*R*)-5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸乙酯(100 mg, 0.322 mmol)於THF (5 mL)中之溶液中相繼添加(*S*)-2-甲基丙烷-2-亞磺醯胺(43 mg, 0.355 mmol, Sigma-Aldrich, 目錄號497401)及乙醇鈦(294 mg, 1.289 mmol)。將反應混合物在回流下攪拌12 h, 然後冷卻並在0°C下逐滴添加至硼氫化鈉(37 mg, 0.978 mmol)於THF (5 mL)中之懸浮液中。將反應混合物在室溫下進一步攪拌1 h, 然後冷卻至0°C。添加3 M鹽酸水溶液(20 mL)並分離各相。經 Na_2SO_4 乾燥有機層, 過濾並在真空中濃縮。將殘餘物溶解於乙醇(3 mL)中, 隨後添加6 M鹽酸水溶液(2 mL)。隨後將反應混合物在微波中加熱至120°C並保持30 min。在真空中濃縮後, 將殘餘物吸收於水及二氯甲烷中。分離各相, 並藉由製備型TLC純化有機層, 得到呈非鏡像異構物之混合物形式之5-([1,1'-聯苯]-4-基)-4-胺基-2-甲基戊酸乙酯(AHU377-C4)(20 mg, 19.9% ; (2*R*, 4*S*): (2*S*, 4*R*): (2*S*, 4*S*): (2*R*, 4*R*) 52:10:11:27), 其中期望之(2*R*, 4*S*)-5-([1,1'-聯苯]-4-基)-4-胺基-2-甲基戊酸乙酯作為主要異構物。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 呈鹽酸鹽形式之(2*R*, 4*S*)-異構物): δ 8.30 (br. s, 3 H), 7.64-7.68 (m, 4 H), 7.44-7.48 (m, 2 H), 7.34-7.37 (m, 3

H), 3.98 (q, 2 H), 3.38 (dddd, 1 H), 3.09 (dd, 1 H), 2.82 (dd, 1 H), 2.76 (ddq, 1 H), 1.86 (ddd, 1 H), 1.62 (ddd, 1 H), 1.09 (t, 3 H), 1.07 (d, 3 H) ppm; MS (ES-API): 正模式312.4 $[M + H]^+$ 。

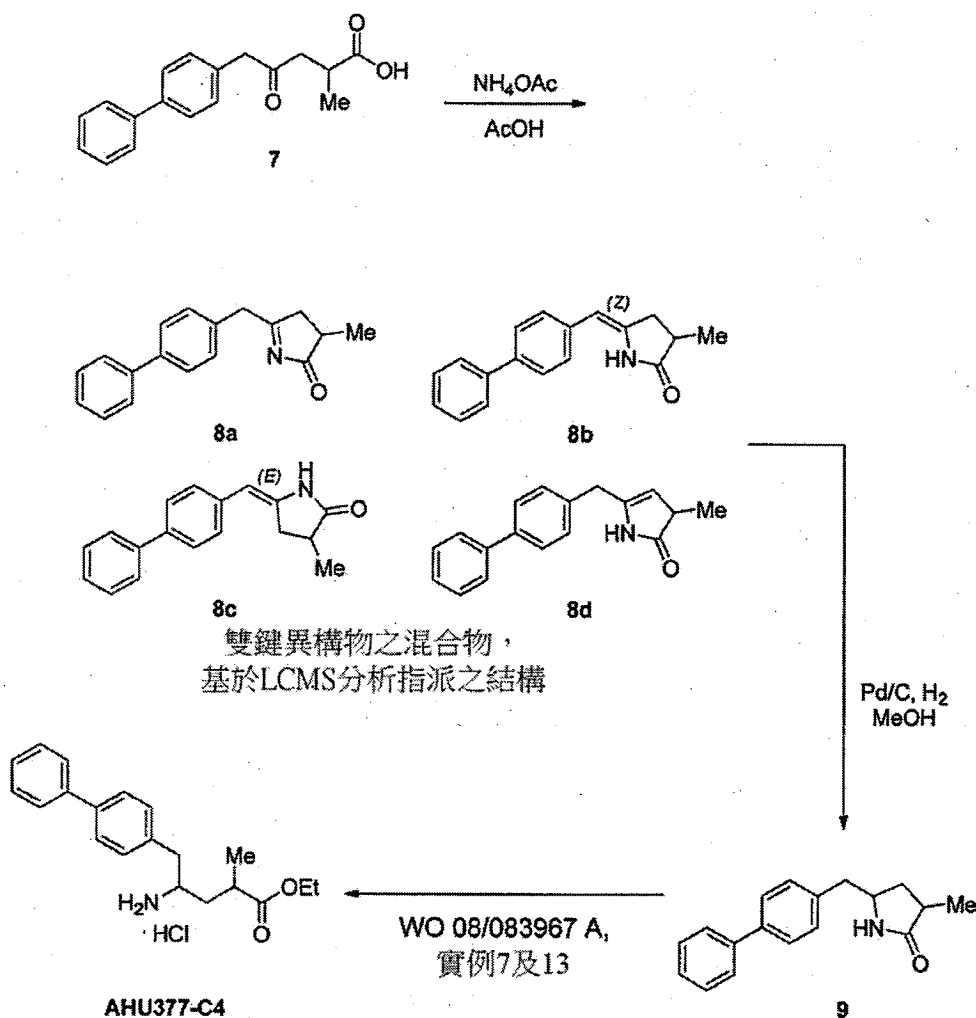
綜述IV：



實例10：(2R, 4S)-5-([1,1'-聯苯]-4-基)-4-胺基-2-甲基戊酸B

將鹽酸異丙胺(19.95 g, 208.8 mmol)溶解於0.1 M K_2HPO_4 水溶液(100 mL; pH 9.36)中，然後添加吡哆醛5'-磷酸酯(PLP)(27 mg)。藉由添加異丙胺將pH值調節至pH 9.00。將(R)-5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸7(40 mg, 0.142 mmol)懸浮於1800 μ L此緩衝液溶液中並使用超音波懸浮2 min，隨後藉由添加異丙胺調節至pH 9.00。將胺基轉移酶ATA-447 (30 mg; Codexis Inc., Redwood City, CA, USA)溶解於200 μ L緩衝液溶液中並振盪5 min，然後添加至反應混合物中。將反應混合物在50°C及180 rpm下振盪5 d，使得78%轉化為期望產物B，且dr > 99:1。

綜述V：



實例11：5-([1,1'-聯苯]-4-基甲基)-3-甲基吡咯啉-2-酮之製造

將乙酸鉍(3.32 g, 43.07 mmol)添加至5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸(1.52 g, 5.38 mmol)於乙酸(18 mL)中之溶液中，在耐壓微波小瓶中得到懸浮液，將該小瓶立即密封。在室溫下將小瓶置於油浴中且隨後加熱至130℃。17 h後，使小瓶冷卻回至室溫，之後打開，並在二氯甲烷(30 mL)與0.1 M磷酸氫二鉀溶液(30 mL 1.74 g於100 mL水中之溶液)之間分離黃色溶液。用二氯甲烷洗滌水相並用1 M磷酸氫二鉀溶液(30 mL 17.4 g於100 mL水中之溶液)將合併之有機相萃取兩次。將有機相經固體硫酸鈉乾燥並藉由旋轉蒸發汽提溶劑，得到黃色固體(1.35 g, 95%粗產率)。

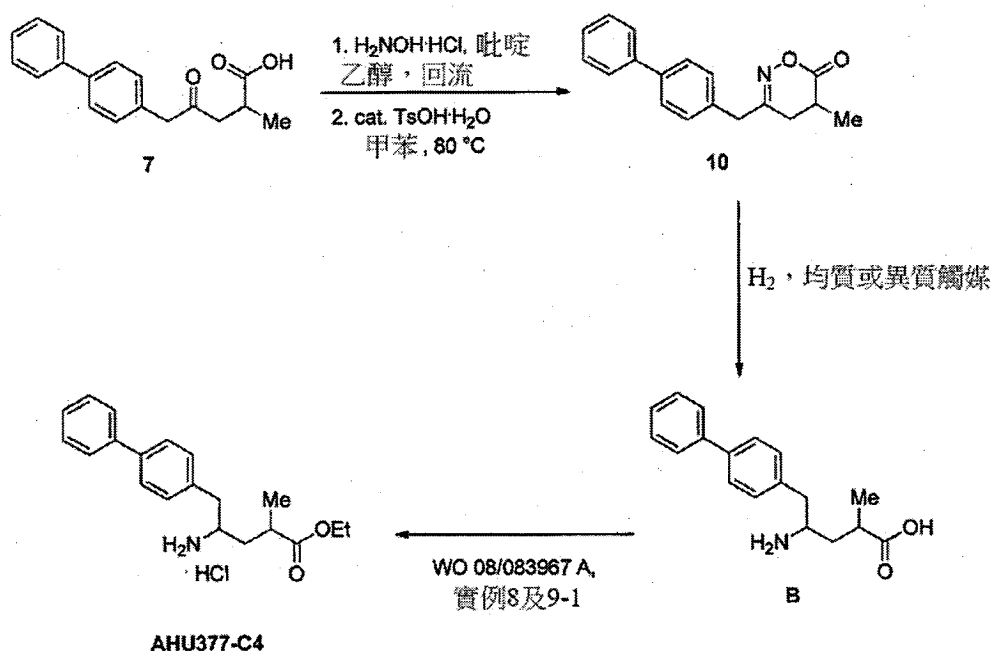
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃-d) ppm 1.20-1.40 (m, 5 H) 1.93 (t, 3 H) 2.62 (s, 1 H) 2.69-2.85 (m, 3 H) 2.94 (dd, 2 H) 3.37 (ddd, 1 H) 4.25 -4.31 (m, 1 H) 5.96 (t, 1 H) 6.59 (br. s, 1 H) 6.75 (s, 1 H) 7.27 -7.49 (m, 14 H) 7.52-7.67 (m, 11 H) 8.32 (br. s, 1 H)

LC-MS (管柱：ACQUITY UPLC® HSS T3 1.8 μm；管柱溫度：60.0℃；1.0 mL/min流速；在9.4 min內5%至98% B之梯度；溶析液A：水+ 0.05%甲酸+ 3.75 mM乙酸；溶析液B：乙腈+ 0.04%甲酸)；三個主要信號，所有m/z皆對應於吡咯啉酮產物質量：3.92 min (27%)；4.34 min (64%)；4.66 min (9%)。

將炭載鈀(4 mg, 10% Johnson-Matthey DLR 0462)添加至來自先前實驗之粗混合物(0.2 g, 0.76 mmol)於甲醇(2 mL)中之溶液中。密封懸浮液並相繼利用氮及氫氣重複沖洗頂隙，最後達到4巴之壓力。在室溫下將反應物攪拌4.5 h，隨後在130℃下攪拌24 h之時段。在釋放壓力並利用氮沖洗頂隙之後，過濾產物混合物以去除觸媒，且然後使其經受HPLC分析。

HPLC (ReproShell C18，75 mm × 3 mm；管柱溫度35℃；0.8 mL/min流速；溶析液A：5 mmol NaH₂PO₄，利用H₃PO₄調節至pH 3；溶析液B：乙腈/甲醇2:3；15%至95% B之梯度)。將相對選擇性與可獲得之參考化合物相比較，指示化合物**9**之反式-異構物對順式-異構物之比率為56:44。

綜述IV：



實例12：3-([1,1'-聯苯]-4-基甲基)-5-甲基-4H-1,2-噁嗪-6(5H)-酮之製造

將吡啶(10.4 mL, 128.3 mmol)添加至5-([1,1'-聯苯]-4-基)-2-甲基-4-側氧基戊酸(10.02 g, 35.12 mmol)及鹽酸羥胺(7.00 g, 98.65 mmol)於無水乙醇(120 mL)中之懸浮液中。將反應混合物加熱至回流並在回流下保持30 min。在冷卻至室溫後，在真空中濃縮反應混合物。用水(80 mL)及乙酸乙酯(150 mL)處理殘餘物，並分離各相。利用乙酸乙酯(2×80 mL)萃取水層，並將合併之有機層經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在真空中濃縮。將殘餘物與甲苯一起(100 mL及50 mL)共蒸發，以去除殘餘吡啶，得到米色-褐色油狀物，其在靜置後固體化。粗產物不經純化即直接用於下一步驟中。

將對甲苯磺酸一水合物(0.756 g, 3.97 mmol)添加至來自先前步驟之產物於甲苯(120 mL)中之懸浮液中。活化分子篩 $4 \text{ \AA}$ (6 g)，並將反應混合物加熱至 80°C ，隨後在 80°C 下攪拌2 h。添加其他對甲苯磺酸一水合物(0.653 g, 3.43 mmol)，並將反應混合物在 80°C 下進一步攪拌4 h。在冷卻至室溫後，過濾掉固體。將乙酸乙酯(100 mL)添加至濾液中，並用水($3 \times$

100 mL)萃取溶液。用乙酸乙酯(80 mL)反萃取合併之水層。將合併之有機層經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並在真空中濃縮，得到黃色-淺褐色油狀物。使產物自乙酸乙酯/庚烷1:1重結晶，得到淺米色固體狀3-([1,1'-聯苯]-4-基甲基)-5-甲基-4H-1, 2-噁嗪-6(5H)-酮(3.17 g, 32.0%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7.64-7.67 (m, 4 H), 7.44-7.48 (m, 2 H), 7.34-7.41 (m, 3 H), 3.75 (s, 2 H), 2.70 (ddq, 1 H), 2.60 (dd, 1 H), 2.46 (dd, 1 H), 1.07 (d, 3 H) ppm ; MS (ES-API) : 正模式280.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

實例13：5-([1,1'-聯苯]-4-基)-4-胺基-2-甲基戊酸之製造

將3-([1,1'-聯苯]-4-基甲基)-5-甲基-4H-1,2-噁嗪-6(5H)-酮(28 mg, 0.100 mmol)及5% $\text{Pt}/\text{Al}_2\text{O}_3$ (6 mg ; Johnson-Matthey類型B301099, 20% 乾重)於甲醇(3 mL)中之混合物在40°C及3巴氫壓力下氫化3 h。冷卻反應混合物並藉由HPLC進行分析，藉由HPLC顯示75%產物(dr 65:35，有利於(2*R*, 4*R*)-異構物)。



公告本

申請日: 105/12/09

【發明摘要】

IPC分類: **C07C 233/47** (2006.01)
C07C 67/343 (2006.01)
C07C 69/738 (2006.01)

【中文發明名稱】

新穎方法及中間物

【英文發明名稱】

NEW PROCESS AND INTERMEDIATES

【中文】

本發明係關於可用於製備腦啡肽酶(neprilysin ; NEP)抑制劑沙庫比曲(sacubitril)之新穎化學合成、中間物及觸媒。本發明進一步係關於新穎中間物化合物及其用於該新穎化學合成途徑之用途。

【英文】

The present invention relates to a new chemical synthesis, intermediates and catalysts useful for the preparation of the neprilysin (NEP) inhibitor sacubitril. It further relates to new intermediate compounds and their use for said new chemical synthesis route.

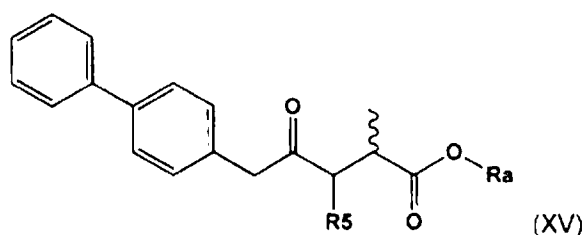
【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】





公告本

申請日: 105/12/09

【發明摘要】

IPC分類: **C07C 233/47** (2006.01)
C07C 67/343 (2006.01)
C07C 69/738 (2006.01)

【中文發明名稱】

新穎方法及中間物

【英文發明名稱】

NEW PROCESS AND INTERMEDIATES

【中文】

本發明係關於可用於製備腦啡肽酶(neprilysin ; NEP)抑制劑沙庫比曲(sacubitril)之新穎化學合成、中間物及觸媒。本發明進一步係關於新穎中間物化合物及其用於該新穎化學合成途徑之用途。

【英文】

The present invention relates to a new chemical synthesis, intermediates and catalysts useful for the preparation of the neprilysin (NEP) inhibitor sacubitril. It further relates to new intermediate compounds and their use for said new chemical synthesis route.

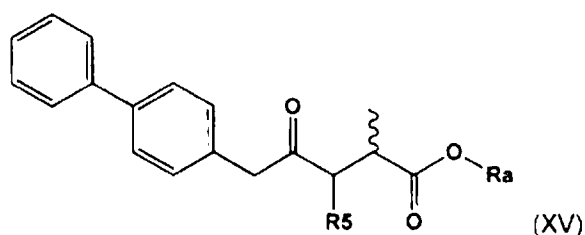
【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

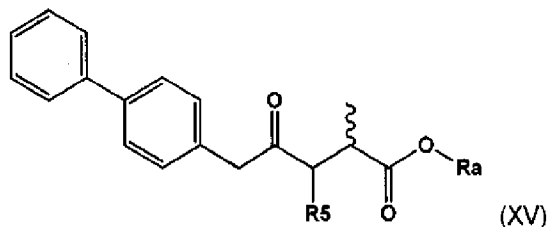
【特徵化學式】



【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種式(XV)化合物或其鹽，



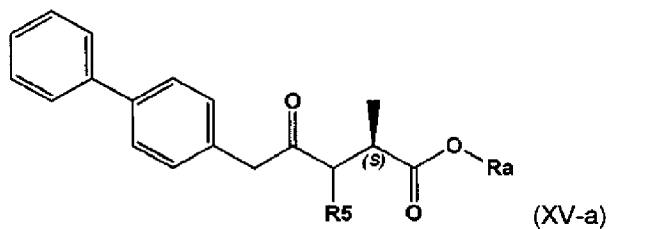
其中

R₅係選自氫及基團-CO-OR*，且

Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基。

【第2項】

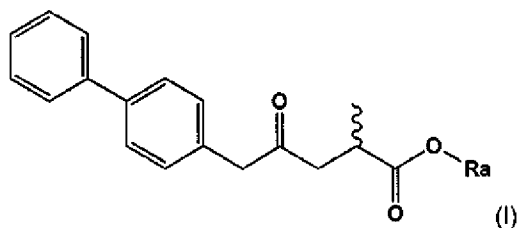
如請求項 1 之式(XV)化合物，其中該化合物係式(XV-a)化合物或其鹽；



【第3項】

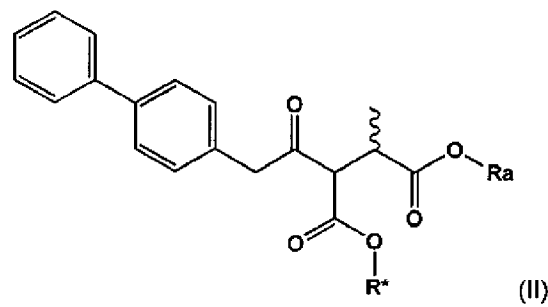
如請求項1之式(XV)化合物，其中

a)該化合物係式(I)化合物或其鹽；



其中Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，或

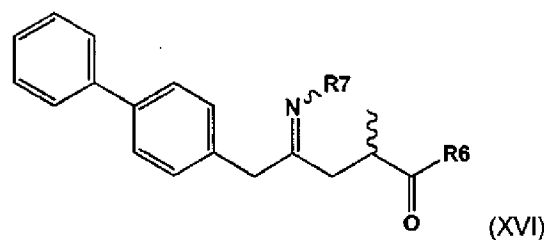
b)該化合物係式(II)化合物或其鹽；



其中Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基。

【第4項】

一種式(XVI)化合物或其鹽，



其中

R6係-O-Ra，且R7係選自

- -S(=O)-Rb
- -OH
- A，其中A係-O-C(=O)-Rc或-O-Rd

其中Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，且

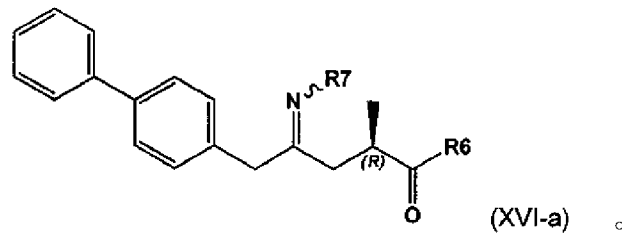
Rb、Rc及Rd獨立地選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-

烷基，或

R6及R7共同表示-O-或形成鍵結。

【第5項】

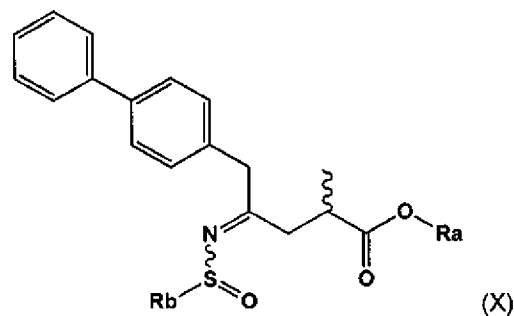
如請求項 4 之式(XVI)化合物，其中該化合物係式(XVI-a)化合物或其鹽；



【第6項】

如請求項4之式(XVI)化合物，其中

a)該化合物係式(X)化合物或其鹽；



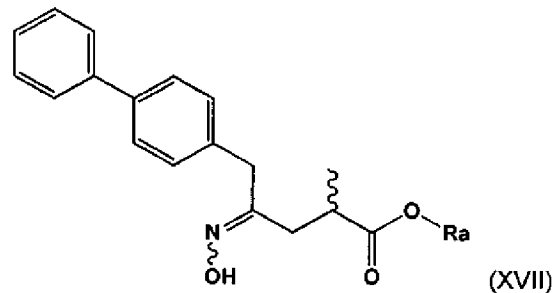
其中

Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，

Rb係選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及

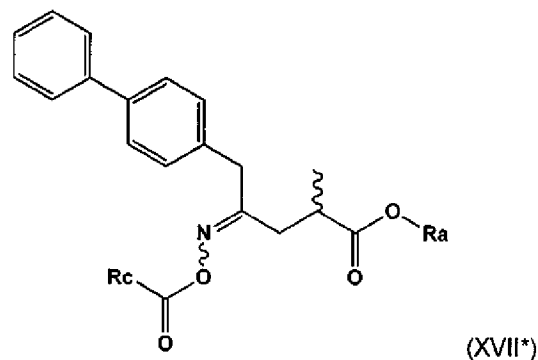
C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基，

b)該化合物係式(XVII)化合物或其鹽



其中Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，

c)該化合物係式(XVII*)化合物，

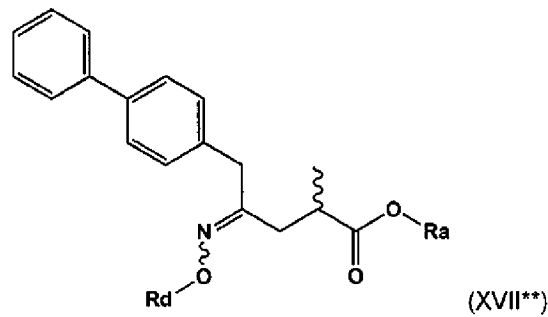


其中

Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，

Rc係選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基，

d)該化合物係式(XVII**)化合物，

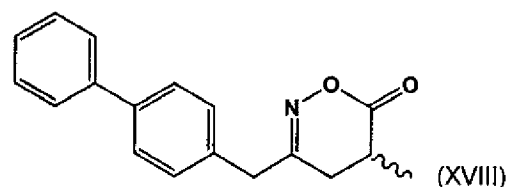


其中

Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，

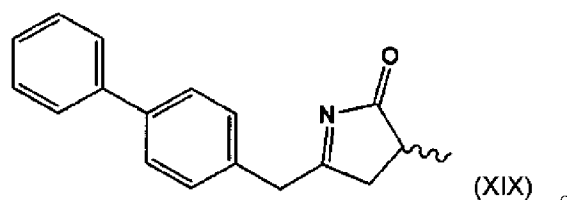
Rd係選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基，

e)該化合物係式(XVIII)化合物，



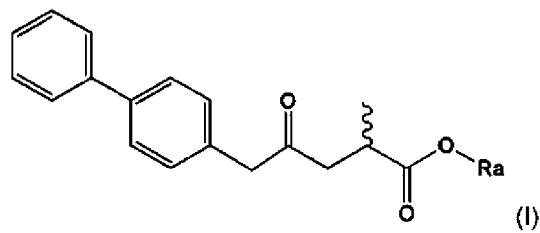
或

f)該化合物係式(XIX)化合物，

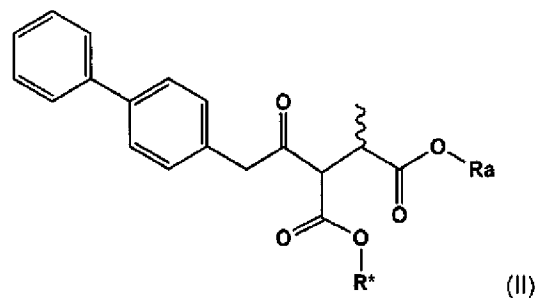


【第7項】

一種製造式(I)化合物或其鹽之方法，



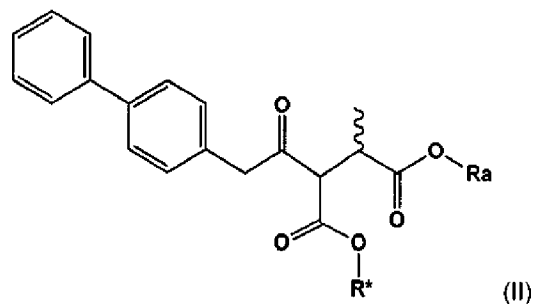
其中Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，
其包含使式(II)化合物或其鹽



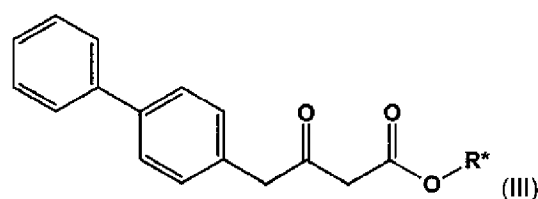
其中Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，
在(若需要)去保護反應條件、隨後去羧反應條件下進行反應，及視情況引入選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基之部分Ra，以得到式(I)化合物。

【第8項】

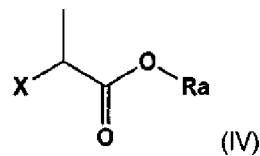
如請求項7之方法，其中式(II)化合物或其鹽



其中Ra及R*彼此獨立地選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，
係藉由包含以下之方法來製備：使式(III)化合物，



其中R*係選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，
與式(IV)之丙酸酯衍生物，

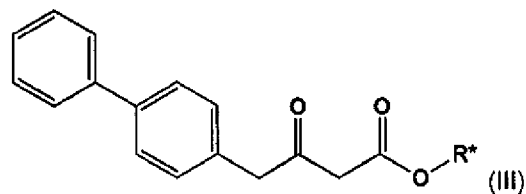


其中X係脫離基且Ra係選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，

且(若需要)利用選自氫及C₁-C₆-烷基之基團替代該等羧基保護基團R*及Ra，以得到式(II)化合物。

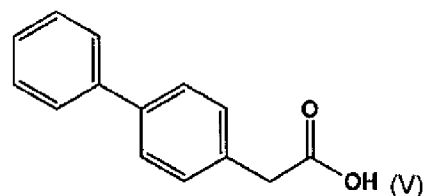
【第9項】

如請求項8之方法，其中式(III)化合物，



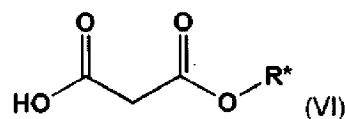
其中R*係選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，

係藉由包含以下之方法來製備：使式(V)化合物



或其反應性衍生物，

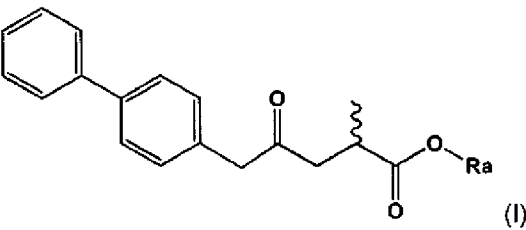
與式(VI)之丙二酸半酯之鹽進行反應，



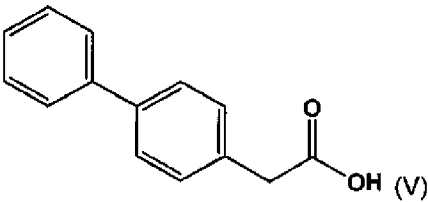
其中R*係選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基。

【第10項】

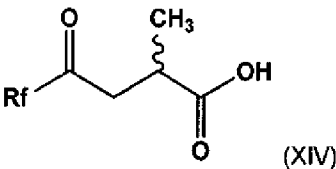
一種製造式(I)化合物或其鹽之方法，



其中Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，
其包含使式(V)化合物或其鹽之經活化二陰離子衍生物



與式(XIV)化合物或其鹽



其中Rf係選自

- O-R*，其中R*係選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，
- N(CH₃)-O(CH₃)，
- 嗎啉基，及
- 咪唑啉基，

在鹼存在下進行反應，及
隨後實施去羧反應，

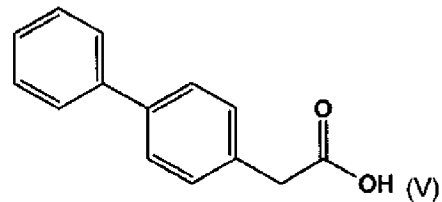
以獲得式(I)化合物或其鹽，其中Ra係氫，

視情況隨後使所獲得之式(I)化合物或其鹽(其中Ra係氫)，與引入羧基保護基團之試劑反應，以得到式(I)化合物(其中Ra係羧基保護基團)，及
/或

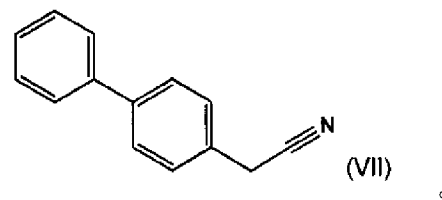
視情況隨後使式(I)化合物或其鹽(其中Ra係氫)，與偶合劑在C₁-C₆-
 烷醇存在下反應，以得到式(I)化合物，其中Ra係C₁-C₆-烷基。

【第11項】

如請求項9或10之方法，其中式(V)化合物

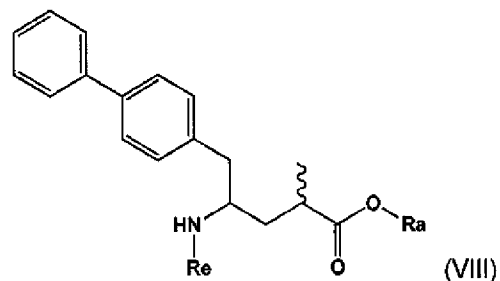


係藉由包含水解式(VII)氰化物之方法來製備



【第12項】

一種製造式(VIII)化合物或其鹽之方法，

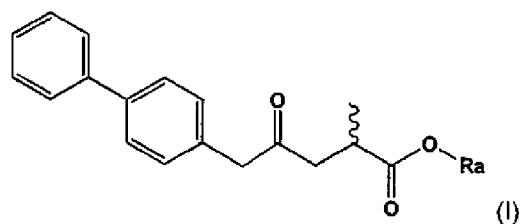


其中Ra係選自氫及C₁-C₆-烷基，且

Re係選自氫及氮保護基團，

其係藉由包含以下之方法達成：

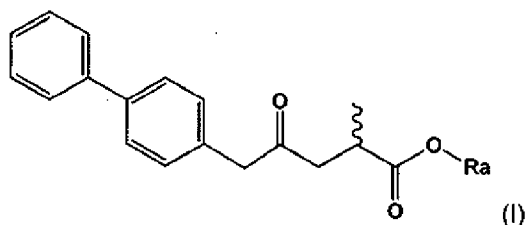
(i)使式(I)化合物或其鹽；



其中Ra係氫，

與氨、一級胺或二級胺或其鹽進行反應，以得到式(VIII)化合物或其鹽，其中Ra及Re係氫，或

(ii)藉由使式(I)化合物或其鹽；

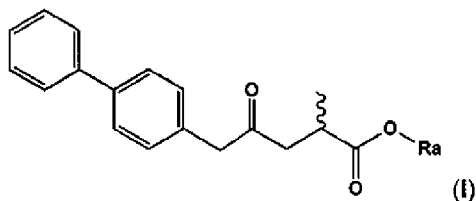


與(S)-選擇性 ω -胺基轉移酶在胺供體及輔酶存在下接觸，

其中Ra係選自氫及C₁-C₆-烷基，

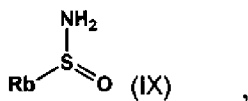
將其轉化為式(VIII)化合物或其鹽，其中Ra係選自氫及C₁-C₆-烷基，且Re係氫，其中式(I)化合物至式(VIII)化合物之轉化率大於50%，或

(iii)a)使式(I)化合物或其鹽；



其中Ra係選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，

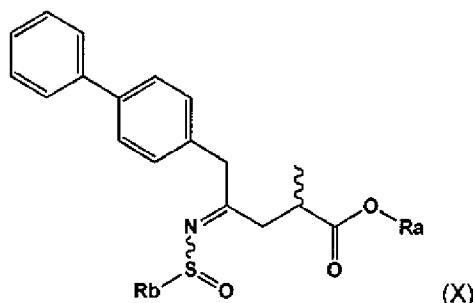
與式(IX)之胺基亞磺醯基化合物或其鹽進行反應，



其中Rb係選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或

三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、 C_1 - C_7 -烷基、鹵基- C_1 - C_7 -烷基及 C_1 - C_7 -烷氧基、鹵基- C_1 - C_7 -烷氧基及 C_1 - C_7 -烷氧基- C_1 - C_7 -烷基，

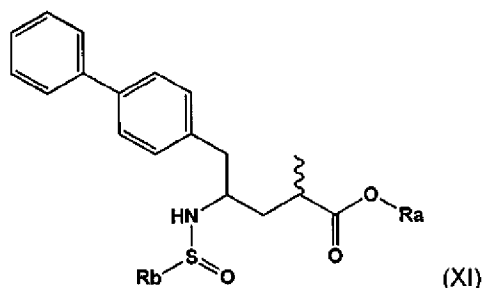
以得到式(X)之亞磺醯亞胺化合物或其鹽



其中Rb係選自 C_1 - C_6 -烷基、 C_6 - C_{10} -芳基、 C_6 - C_{10} -芳基- C_1 - C_6 -烷基、 C_3 - C_8 -環烷基、 C_3 - C_8 -環烷基- C_1 - C_6 -烷基、雜環基或雜環基- C_1 - C_6 -烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、 $S(=O)$ -或 $S(=O)_2$ -之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、 C_1 - C_7 -烷基、鹵基- C_1 - C_7 -烷基及 C_1 - C_7 -烷氧基、鹵基- C_1 - C_7 -烷氧基及 C_1 - C_7 -烷氧基- C_1 - C_7 -烷基，且

Ra係選自羧基保護基團及 C_1 - C_6 -烷基，

b)在還原劑存在下還原所獲得之式(X)化合物或其鹽，以得到式(XI)之亞磺醯胺化合物或其鹽



其中Rb係選自 C_1 - C_6 -烷基、 C_6 - C_{10} -芳基、 C_6 - C_{10} -芳基- C_1 - C_6 -烷基、 C_3 - C_8 -環烷基、 C_3 - C_8 -環烷基- C_1 - C_6 -烷基、雜環基或雜環基- C_1 - C_6 -烷

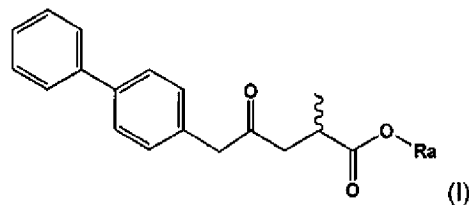
基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基，且

Ra係選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，

c)藉由在酸存在下水解磺醯胺基團，使所獲得之式(XI)亞磺醯胺化合物或其鹽反應，以得到式(VIII)化合物或其鹽，其中Ra係選自羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，且Re係氫，及

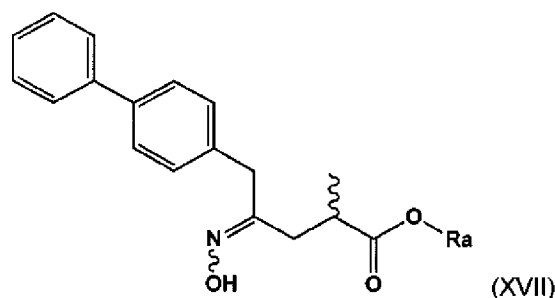
d)若所獲得之式(VIII)化合物或其鹽存在任一羧基保護基團，加以去除，以得到式(VIII)化合物或其鹽，其中Ra係選自氫及C₁-C₆-烷基，且Re係氫，或

(iv)a)使式(I)化合物或其鹽；



其中Ra係氫，

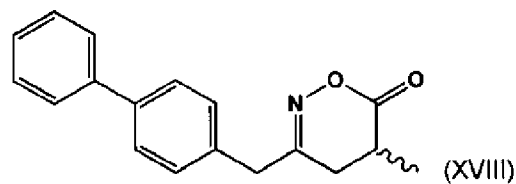
與經基胺或其鹽進行反應，以得到式(XVII)化合物或其鹽，



其中Ra係氫，

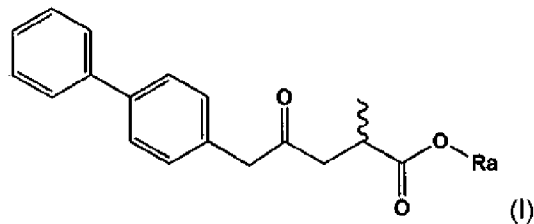
b)隨後環化所獲得之式(XVII)化合物，以得到相應的式(XVIII)化合

物



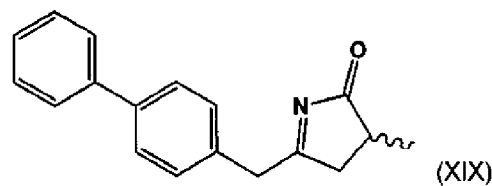
c)在還原劑存在下還原所獲得之式(XVIII)化合物，以獲得式(VIII)化合物，其中Ra及Re均為氫，或

(v)a)使式(I)化合物或其鹽；

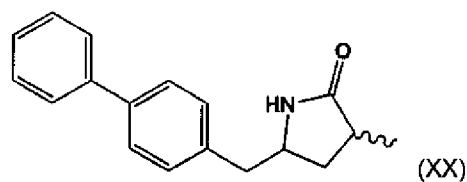


其中Ra係氫，

與氨或銨鹽進行反應，以得到式(XIX)化合物

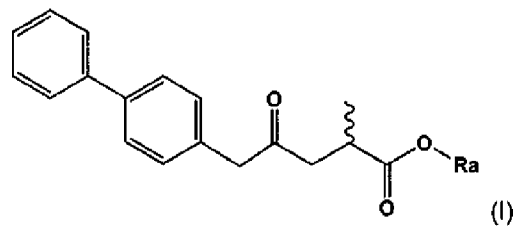


b)利用還原劑還原該獲得之式(XIX)之化合物，以得到式(XX)之內醯胺化合物，及



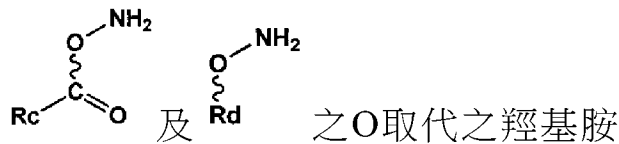
c)使所獲得之式(XX)化合物在開環條件下、視情況在C₁-C₇-醇存在下進行反應，以得到式(VIII)化合物，其中Ra係選自氫及C₁-C₆-烷基，且Re係氫，或

(vi)a)使式(I)化合物或其鹽；



其中Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，

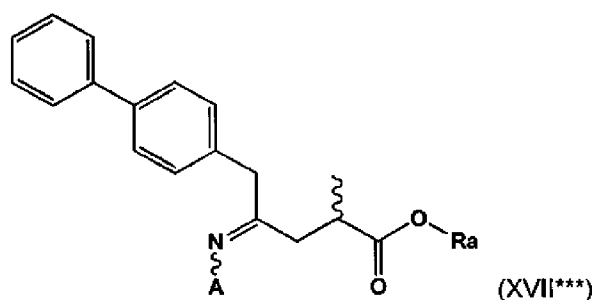
與選自



或在每一情形下其鹽進行反應，

其中Rc及Rd獨立地選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S(=O)₂-之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基，

以得到式(XVII***)化合物，



其中Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，且

A係-O-C(=O)-Rc或-O-Rd，

其中Rc及Rd獨立地選自C₁-C₆-烷基、C₆-C₁₀-芳基、C₆-C₁₀-芳基-C₁-

C₆-烷基、C₃-C₈-環烷基、C₃-C₈-環烷基-C₁-C₆-烷基、雜環基或雜環基-C₁-C₆-烷基，其中該雜環基係具有5至14個環原子且具有一或多個獨立地選自氮、氧、硫、S(=O)-或S-(=O)₂之雜原子之單環或多環、不飽和、部分飽和、飽和或芳香族環系統，且其中每一芳基或雜環基可視情況經一個、二個或三個獨立地選自以下之取代基取代：鹵基、C₁-C₇-烷基、鹵基-C₁-C₇-烷基及C₁-C₇-烷氧基、鹵基-C₁-C₇-烷氧基及C₁-C₇-烷氧基-C₁-C₇-烷基，

b)還原所獲得之式(XVII***)化合物或其鹽，以得到式(VIII)化合物或其鹽，其中Ra係選自氫、羧基保護基團及C₁-C₆-烷基，且Re係氫，及

c)若所獲得之式(VIII)化合物或其鹽存在任一羧基保護基團，加以去除，

且其中在所有反應變化形式(i)至(vi)之後皆視情況

視情況使所獲得之式(VIII)化合物或其鹽(其中Ra係選自氫或C₁-C₆-烷基，且Re係氫)與引入胺基保護基團之試劑進行反應，以得到式(VIII)化合物(其中Ra係選自氫及C₁-C₆-烷基，且Re係氮保護基團)，及/或

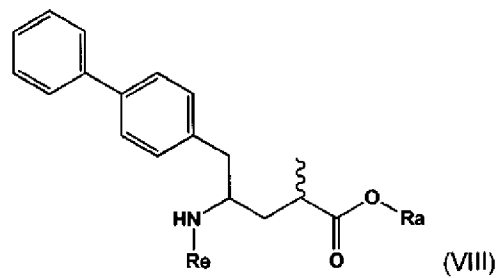
視情況隨後使式(VIII)化合物(其中Ra係氫且Re係選自氫及氮保護基團)與偶合劑在C₁-C₆-烷醇存在下進行反應，以得到式(VIII)化合物(其中Ra係C₁-C₆-烷基，且Re係氮保護基團)。

【第13項】

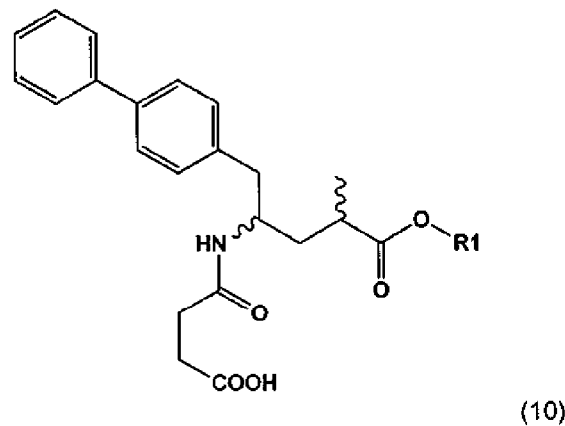
如請求項12之方法，其中式(I)化合物係藉由如請求項7至10中任一項之方法獲得。

【第14項】

如請求項12或13之方法，其中所獲得之式(VIII)化合物或其鹽



其中Ra係選自氫及乙基，且Re係選自氫及氮保護基團，
係藉由以下轉化為式(10)化合物



其中R1係氫或C₁-C₆-烷基：

若存在任一氮保護基團Re，視情況去除，

視情況使所獲得之式(VIII)化合物(其中Ra及Re係氫)與偶合劑在C₁-C₆-烷醇存在下進行反應，以得到式(VIII)化合物(其中Ra係選自C₁-C₆-烷基，且Re係氫)，且

使式(VIII)化合物(其中Ra係選自氫及C₁-C₆-烷基，且Re係氫)與琥珀酸酐進行反應。

【第15項】

一種如請求項1至6中任一項之化合物之用途，其用於製造N-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4S)-對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2R)-甲基丁酸或其鹽或N-(3-羧基-1-側氧基丙基)-(4S)-對苯基苯基甲基)-4-胺基-(2R)-甲基丁酸乙基酯或其鹽或[3-((1S,3R)-1-聯苯-4-基甲基-3-乙氧基羰基-1-丁基胺甲醯基)

丙酸-(*S*)-3'-甲基-2'-(戊醯基{2''-(四唑-5-基)聯苯-4'-基甲基}胺基)丁酸]
三鈉半五水合物。