

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D401/04



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01812970.6

C07D403/04 A61K 31/4439

A61K 31/506 A61K 31/497

A61K 31/501 A61P 9/06

A61P 11/06 A61P 19/02

A61P 27/02 A61P 35/00

[43] 公开日 2003 年 9 月 17 日

[11] 公开号 CN 1443184A

[22] 申请日 2001.7.12 [21] 申请号 01812970.6

[30] 优先权

[32] 2000. 7. 19 [33] EP [31] 00114950.9

[86] 国际申请 PCT/EP01/08059 2001.7.12

[87] 国际公布 WO02/06271 英 2002.1.24

[85] 进入国家阶段日期 2003.1.17

[71] 申请人 霍夫曼-拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 约翰内斯·埃比 丹尼尔·比尔

亚历山大·丘乔洛夫斯基

亨丽埃塔·德姆洛

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司

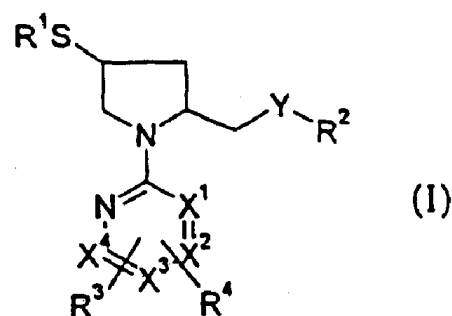
代理人 柳春琦

权利要求书 9 页 说明书 39 页

[54] 发明名称 嘧啶衍生物

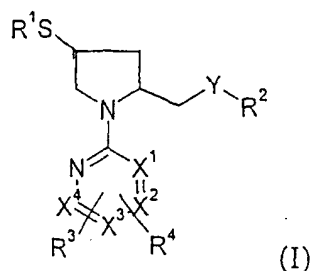
[57] 摘要

本发明涉及化学式(I)的化合物及其二聚体形式和/或其药用酯和/或盐,化学式(I)中 R¹、R²、R³、R⁴、X¹、X²、X³、X⁴和 Y 的定义如说明书和权利要求书。这些化合物用作金属蛋白酶如锌蛋白酶特别是锌水解酶的抑制剂,可有效地治疗与越来越多出现的血管收缩相关联的疾病状态。



ISSN 1008-4274

1. 通式I的化合物及其二聚体形式, 和/或其药用酯, 和/或其药用盐:



其中:

R^1 是氢、烷基羰基或芳基羰基;

R^2 是烷基、链炔基、羟烷基、羧烷基、烷氧羰基、烷基羰基烷基、烷基环烷基、烷基环烷基烷基、烷基磺酰基、芳基、芳基烷基、芳基烷氧基烷基、芳基(烷氧羰基)烷基、芳基氨基羰基、二芳基烷基、芳基(羧烷基)氨基羰基、芳基羰基、芳基磺酰基、环烷基、环烷基羰基、环烷基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基烷基或 YR^2 基团是杂环基;

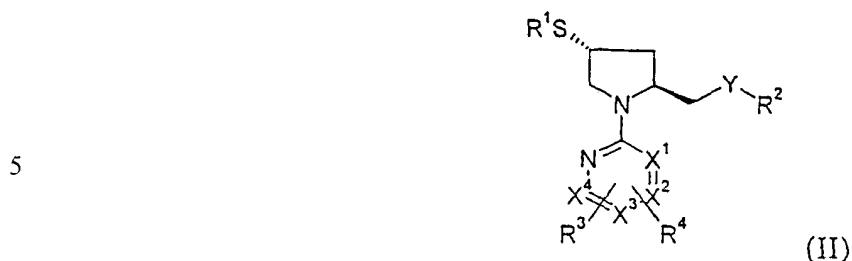
R^3 和 R^4 独立地选自氢、烷基、烷基环烷基、烷基环烷基烷基、烷硫基、环烷基、环烷基烷基、氨基甲酰基、羧基、羧烷基、氰基、氨基、单-和二烷基氨基、烷氧基、烷氧基烷基、烷氧羰基、烷氧羰基烷基、链烯基、链炔基、芳基、芳烷基、芳烷基(烷氧羰基)烷基、芳基羰基烷基、芳基链烯基、芳基(烷氧羰基)烷基、芳基氨基、芳基烷基氨基、芳氧基、卤素、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基、杂环基烷基、三甲基硅烷基乙炔基或三氟甲基;

R^5 是氢、烷基、芳基、芳基烷氧羰基或烷基羰基;

X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 是CH或N, 附带条件是 X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 中最多只有两个基团是N;

Y是-O- 或-NR⁵-。

2. 根据权利要求1的通式II的化合物:



其中R¹、R²、R³、R⁴、X¹、X²、X³、X⁴和Y的定义如权利要求1。

3. 根据权利要求1~2中任意一项的化合物, 其中R¹是氢或烷基羰基。
- 10 4. 根据权利要求1~3中任意一项的化合物, 其中R¹是氢或乙酰基。
5. 根据权利要求1~4中任意一项的化合物, 其中R¹是氢。
6. 根据权利要求1~5中任意一项的化合物, 其中R²是烷基、链炔基、羟烷基、羧烷基、烷氧羰基、烷基羰基烷基、烷基环烷基、烷基环烷基烷基、烷基磺酰基、芳基、芳烷基、芳基烷氧基烷基、芳基(烷氧羰基)烷基、芳基氨基甲酰基、二芳基烷基、芳基(羧烷基)氨基羰基、芳基羰基、芳基磺酰基、环烷基、环烷基羰基、环烷基烷基、杂芳基、杂芳基烷基或杂环基烷基。
- 15 7. 根据权利要求1~6中任意一项的化合物, 其中R²是芳基、芳烷基、芳基烷氧基烷基、芳基氨基羰基、芳基羰基、芳基磺酰基、环烷基、环烷基羰基、环烷基烷基或杂芳基烷基。
- 20 8. 根据权利要求1~7中任意一项的化合物, 其中R²是芳基、芳烷基、芳基氨基甲酰基、芳基羰基、芳基磺酰基或杂芳基烷基。
9. 根据权利要求1~8中任意一项的化合物, 其中R²是芳基烷基。
10. 根据权利要求1~9中任意一项的化合物, 其中R²是任选被2~3个卤素原子取代的苯基烷基。
- 25 11. 根据权利要求1~10中任意一项的化合物, 其中R³和R⁴独立地选自氢、烷基、烷硫基、链烯基、烷氧基、烷氧羰基、氨基、芳基、芳烷基、芳基链烯基、芳烷基氨基、芳氧基、单-和二烷基氨基、氨基甲酰基、羧基、氰基、卤素、杂芳基、杂芳基烷基、三甲基硅烷基乙炔基和三氟甲基。
- 30

12. 根据权利要求1~11中任意一项的化合物，其中 R^3 和 R^4 独立地选自氢、烷基、烷氧基、烷氧羰基、链烯基、噻吩基、氨基、单-和二烷基氨基、羧基、氰基、卤素、三甲基硅烷基乙炔基、苯基烷基氨基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、苯基和苯氧基，其中芳基和杂芳基可任选被烷基、烷氧基、羧基或卤素取代。
13. 根据权利要求1~12中任意一项的化合物，其中 R^3 是氢、烷基、烷氧基、烷氧羰基、链烯基、噻吩基、氨基、单-和二烷基氨基、羧基、氰基、卤素、三甲基硅烷基乙炔基、苯基烷基氨基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、苯基和苯氧基，其中芳基和杂芳基可任选被烷基、烷氧基、羧基或卤素取代；并且其中 R^4 氢。
14. 根据权利要求1~13中任意一项的化合物，其中Y是 $-NR^5-$ 。
15. 根据权利要求14的化合物，其中 R^5 是氢或烷基。
16. 根据权利要求15的化合物，其中 R^5 是氢。
17. 根据权利要求1~13中任意一项的化合物，其中Y是 $-O-$ 。
18. 根据权利要求1~17中任意一项的化合物，其中 X^1 是N，及 X^2 、 X^3 和 X^4 是CH。
19. 根据权利要求1~17中任意一项的化合物，其中 X^2 是N，及 X^1 、 X^3 和 X^4 是CH。
20. 根据权利要求1~17中任意一项的化合物，其中 X^3 是N，及 X^1 、 X^2 和 X^4 是CH。
21. 根据权利要求1~17中任意一项的化合物，其中 X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 是CH。
22. 根据权利要求1~21中任意一项的化合物，其中
- R^1 是氢或烷基羰基；
- R^2 是被2~3个卤素取代的苯基烷基；
- R^3 是氢、烷基、烷氧基、烷氧羰基、链烯基、噻吩基、氨基、单-和二烷基氨基、羧基、氰基、卤素、三甲基硅烷基乙炔基、苯基烷基氨基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、苯基或苯氧基，及其中芳基和杂芳基任选被烷基、烷氧基、羧基或卤素取代；
- R^4 是氢；
- X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 是CH或N，附带条件是 X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 中最多只

有两个基团是N;

Y是-NH-或-O-。

23. 根据权利要求1~22的化合物, 其中R¹是氢或乙酰基, 及R²是二氟代苄基或三氟代苄基。

5 24. 根据权利要求1~23中任意一项的化合物, 它们选自:

- a) (3R,5S)-1-嘧啶-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);
- b) (3R,5S)-1-(4,6-二甲氧基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- 10 c) (3R,5S)-1-(4-氨基-5-氟-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- d) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-烟腈;
- e) (3R,5S)-1-(6-苯基-哒嗪-3-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- 15 f) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-烟酸;
- g) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-6-甲基-嘧啶-4-羧酸甲酯;
- 20 h) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-4-三氟甲基-嘧啶-5-羧酸甲酯;
- i) (3R,5S)-1-吡嗪-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 与三氟-乙酸的化合物;
- j) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-烟酰胺;
- 25 k) (3R,5S)-5-(2,5-二氟-4-甲氧基-苄氧基甲基)-1-(2-甲氧基-嘧啶-4-基)-吡咯烷-3-硫醇;
- l) (3R,5S)-1-(2-氯代-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 与三氟-乙酸的化合物;
- 30 m) (3R,5S)-1-(5-乙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡

- 咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);
- n) (3R,5S)-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);
- o) (3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);
- p) (3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(5-三氟甲基-吡啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);
- q) (3R,5S)-1-吡啶-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);
- r) (2S,4R)-2-[4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-6-甲基-嘧啶-4-羧酸;
- s) (3R,5S)-1-(2-甲氧基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- t) (3R,5S)-1-(2-苯基氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);
- u) (3R,5S)-1-(2-苄基氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 三氟-乙酸盐(1:1);
- v) (3R,5S)-1-(2-甲基氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 三氟-乙酸盐(1:1);
- w) (3R,5S)-1-(2-丁基氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 三氟-乙酸盐(1:1);
- x) (3R,5S)-1-(2-甲硫烷基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- y) (3R,5S)-1-(2-苯氧基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- z) (3R,5S)-1-(5-苯基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- aa) (3R,5S)-1-(5-吡啶-2-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 与三氟-乙酸的化合物;
- bb) (3R,5S)-1-(5-吡啶-4-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲

基)-吡咯烷-3-硫醇;

cc) (3R,5S)-1-(5-噻吩-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

5

dd) (3R,5S)-1-[5-(4-甲氧基-苯基)-嘧啶-2-基]-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

ee) (2S,4R)-4-{2-[4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-嘧啶-5-基}-苯甲酸;

ff) (3R,5S)-1-(5-烯丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

10

gg) (3R,5S)-1-(5-吡啶-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 及

hh) (3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(5-三甲基硅烷基乙炔基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇。

25. 根据权利要求1~24中任意一项的化合物, 它们选自:

15

a) (3R,5S)-1-嘧啶-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);

b) (3R,5S)-1-(6-苯基-哒嗪-3-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

20

c) (3R,5S)-1-吡嗪-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 与三氟-乙酸的化合物;

d) (3R,5S)-1-(5-乙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);

e) (3R,5S)-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);

25

f) (3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(5-三氟甲基-吡啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1);

g) (3R,5S)-1-(5-苯基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

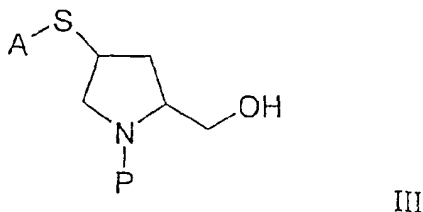
30

h) (3R,5S)-硫代乙酸 S-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-基]酯;

- i) (3R,5S)-1-(5-吡啶-2-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 与三氟-乙酸的化合物;
- j) (3R,5S)-1-(5-吡啶-4-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- 5 k) 1-(5-噻吩-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- l) 1-(5-吡啶-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- m) (2S,4R)-5-[(2,5-二氟代-苄基氨基)-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇; 及
- 10 n) (3R,5S)-硫代乙酸S-[5-[(2,5-二氟代-苄基氨基)-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-基]酯。
26. 药物组合物, 该组合物含有根据权利要求1~25中任意一项的化合物和药用赋形剂。
- 15 27. 如权利要求1~25中任意一项所列的用于治疗的化学式(I)的化合物。
28. 权利要求1~25的化合物作为活性成分在制造药物中的用途, 所述药物包含权利要求1~25中任意一项定义的化合物, 用于预防和治疗由内皮素-转变酶(ECE)活性引起的疾病, 尤其是心肌局部缺血、充血性心力衰竭、心律不齐、高血压、肺部高压、哮喘、脑血管痉挛、蛛网膜下腔出血、惊厥前期、肾脏疾病、动脉硬化症、伯格氏病、高安氏动脉炎、糖尿病并发症、肺癌、前列腺癌、胃肠失调、内毒素休克和败血病, 及用于创伤治疗和控制月经、青光眼、移植物排斥、与抑制细胞生长有关的疾病、眼科和大脑保护性适应症及器官保护的用途。
- 20 29. 根据权利要求1~25中任意一项的化合物的用途, 用于治疗或预防与心肌局部缺血、充血性心力衰竭、心律不齐、高血压、肺部高压、哮喘、脑血管痉挛、蛛网膜下腔出血、惊厥前期、肾脏疾病、动脉硬化症、伯格氏病、高安氏动脉炎、糖尿病并发症、肺癌、前列腺癌、胃肠失调、内毒素休克和败血病关联的疾病, 以及用于创伤治疗和控制月经、青光眼、移植物排斥、与抑制细胞生长关联的疾
- 25 30

病、眼科及大脑保护性适应症和器官保护。

30. 根据权利要求1~25中任意一项的化合物用作治疗的活性物质，特别在与锌水解酶活性关联的疾病的范围，这些疾病如心肌局部缺血、充血性心力衰竭、心律不齐、高血压、肺部高压、哮喘、大脑血管痉挛、蛛网膜下腔出血、惊厥前期、肾脏疾病、动脉硬化症、伯格氏病、高安氏动脉炎、糖尿病并发症、肺癌、前列腺癌、胃肠失调、内毒素休克和败血病，及用于创伤治疗和控制月经、青光眼、移植物排斥、与抑制细胞生长关联的疾病、眼科和大脑保护性适应症及器官保护。
31. 一种治疗和/或预防处理心肌局部缺血、充血性心力衰竭、心律不齐、高血压、肺部高压、哮喘、大脑血管痉挛、蛛网膜下腔出血、惊厥前期、肾脏疾病、动脉硬化症、伯格氏病、高安氏动脉炎、糖尿病并发症、肺癌、前列腺癌、胃肠失调、内毒素休克和败血病，和用于创伤治疗及控制月经、青光眼、移植物排斥、与抑制细胞生长关联的疾病、眼科和大脑保护性适应症及器官保护的方法，该方法包括将一种根据权利要求1~25中任意一项的化合物给人类或动物服用。
32. 一种制备权利要求1~25中任意一项定义的化合物的方法，它包括下列化学式III的化合物



- 其中A是HS-保护基及P是NH-保护基，
- a) 与 R^2 -卤化物的反应以引入 $-OR^2$ 基团，接着脱去P-保护基并引入杂芳族化合物；或
- b) 首先脱去化学式(III)的P-保护基，引入在权利要求1中定义的杂芳族化合物，接着通过 $-OH-$ $-NH_2$ 置换和还原胺化引入 R^2 ；
- 任选地接着将权利要求1定义的 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 基团转化为不同的基团

和/或脱保护基和/或释放出硫醇。

33. 根据权利要求32的方法制备的化合物。

34. 上文定义的发明。

嘧啶衍生物

5

本发明的目标化合物是有用的金属蛋白酶，如锌蛋白酶特别是锌水解酶的抑制剂，这类化合物可有效地预防和治疗一些与越来越多出现的血管收缩相关联的疾病状态。这种疾病的例子有高血压、冠状动脉疾病、心脏功能不足、肾脏和心肌局部缺血、肾脏功能不足、透析、大脑
10 局部缺血、心脏梗塞、偏头痛、蛛网膜下腔出血、雷诺氏综合症和肺部高压。此外这类化合物是用于抑制移植物排斥、器官保护和治疗眼科疾病的有用的抑制细胞生长剂和大脑保护剂。

内皮素是存在三种异构体的肽，这三种异构体是ET-1, ET-2和ET-3，它们各自被截然不同的基因编码。它们最初是1988年由Yanagisawa在
15 猪内皮细胞的条件培养基中发现的(Yanagisawa M; Kurihara H; Kimura S; Tomobe Y; Kobayashi M; Mitsui Y; Yazaki Y; Goto K; Masaki T: 血管内皮细胞产生的一种新的强烈的血管收缩肽[参阅注解], NATURE(1988年3月31日), 332(6163)卷, 411~5页)。这些活性的ET是带有两个分子内二硫桥键的21个氨基酸的肽。它们是由203~212氨基酸的前
20 原蛋白质产生的，此前原蛋白质被具有弗林蛋白酶特征的肽链内切酶处理成生物惰性的前-内皮素(前-ET)。这些前-ET在氨基酸21和22之间水解断裂而被特殊地处理为成熟的ET，氨基酸21和22分别是色氨酸²¹-缬氨酸²²(前-ET-1、前ET-2)和在前-ET-3为色氨酸²¹-异亮氨酸²²。早在1988年就假定是一种特殊的金属蛋白酶造成这种特殊的断裂。在1994年从牛肾
25 上腺纯化并克隆了ECE-1(内皮素转变酶-1), (Xu D、Emoto N、Giaid A、Slaughter C、Kaw S、de Witt D、Yanagisawa M: “ECE-1: 一种促进前-内皮素-1的蛋白水解活性的膜-结合金属蛋白酶”，Cell (1994年)78期 473~485页)。

ECE-1是膜结合的II型锌-肽链内切酶，具有最佳中性pH值及锌结合的不固定HExxHx(>20)E。它属于亚族M13，具有包括活性部位的大的681
30

氨基酸胞外结构域。M13族的其它成员有NEP24.11(中性肽链内切酶)、PEX、一种磷酸盐调节的中性肽链内切酶、及凯尔血型蛋白,此蛋白最近被描述为大-ET3 加工酶。人类血统的M13族成员的特征是高的分子量(>80kDa)、保存许多二硫桥键和复杂的糖基化模式。最近解决了NEP的结构。(Oefner 等: J. Mol. Biol. 2000年, 296卷, 341-349页)。ECE的催化区域结构和有关人类M13蛋白酶明显地比基体金属蛋白酶(MMP)的成员大(>650个氨基酸)。MMP族属于metzincins, 显示典型的HExxHxxGxxH模式, 与MMP族不同, M13 族成员是包括HExxHx(>20)E模式的gluzincins。这两个族在催化区域结构的大小、结构和配体的锌配位模式方面无疑是不同的。两个族的活性部位显示了明显的差异, 这种差异对抑制剂的类型和潜在的选择性有明显的影响。

本发明的一个方面涉及化学式(I)的化合物及其二聚体形式, 和/或其药用酯和/或药用盐:



20 其中:

R^1 是氢、烷基羰基或芳基羰基;

R^2 是烷基、链炔基、羟烷基、羧烷基、烷氧羰基、烷基羰基烷基、烷基环烷基、烷基环烷基烷基、烷基磺酰基、芳基、芳烷基、芳基烷氧基烷基、芳基(烷氧羰基)烷基、芳氨基羰基、二芳基烷基、芳基(羧烷基)氨基羰基、芳基羰基、芳基磺酰基、环烷基、环烷基羰基、环烷基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基烷基, 或基团 YR^2 是杂环基;

R^3 和 R^4 独立地选自氢、烷基、烷基环烷基、烷基环烷基烷基、烷硫基、环烷基、环烷基烷基、氨基甲酰基、羧基、羧烷基、氰基、氨基、单-及二烷基氨基、烷氧基、烷氧基烷基、

烷氧羰基、烷氧羰基烷基、链烯基、链炔基、芳基、芳烷基、芳烷基(烷氧羰基)烷基、芳基羰基烷基、芳基链烯基、芳基(烷氧羰基)烷基、芳氨基、芳烷基氨基、芳氧基、卤素、杂芳基、杂芳烷基、杂环基、杂环基烷基、三甲基硅烷基乙炔基或三氟甲基;

R^5 是氢、烷基、芳基、芳烷氧羰基或烷基羰基;

X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 是CH或N, 附带条件是 X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 中只有最多两个基团是N;

Y是-O-或-NR⁵-。

10 术语“烷基”, 可为单独或结合形式的, 表示含有最多7个、优选最多4个碳原子的直-链或支-链烷基, 如甲基、乙基、正丙基、2-甲基丙基(异-丁基)、1-甲基乙基(异-丙基)、正-丁基、和1,1-二甲基乙基(叔-丁基)。

术语“羧基”是指基团-C(O)OH。

术语“氨基甲酰基”是指基团-C(O)NH₂。

15 术语“羰基”是指基团-C(O)-。

术语“卤素”是指氟、溴、氯和碘基团。

术语“磺酰基”是指基团-S(O₂)-。

术语“链烯基”是指定义如烷基的碳氢链含有至少一个烯属双键的基团(包括例如乙烯基、烯丙基和丁烯基)。

20 术语“链炔基”是指定义如烷基的碳氢链含有至少一个烯属三键的基团(包括例如丙炔基、丁炔(1)-基等)。

术语“烷氧基”, 可为单独或结合形式的, 表示一种烷基醚基, 其中术语“烷基”具有上述给出的含义, 如甲氧基、乙氧基、正-丙氧基、异丙氧基、正-丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基等。

25 术语“烷氧羰基”是指化学式为-C(O)R_C的一种基团, 其中R_C是上文定义的烷氧基。

术语“羟基”指基团-OH, 术语“氰基”是指基团-CN。

术语“羟烷基”表示上文定义的烷基被羟基取代的基团。

30 术语“硫代烷基”和“氰基烷基”是指上文定义的烷基分别被一个-SH基团或一个-CN基团取代的基团。

“羧烷基”表示上文定义的低级烷基被HOOC-基团取代的基团。

术语“烷基羰基”，可为单独或结合形式的，表示由链烷羧酸衍生的酰基，即烷基-C(O)-，如乙酰基、丙酰基、丁酰基、戊酰基、4-甲基戊酰基等。

- 5 术语“环烷基”表示有3~8个、优选3~6个碳原子的饱和的环状烷基，即环丙基、环丁基、环戊基和环己基等。

术语“氨基”指基团-NH₂。

- 术语R²的“芳基”，可为单独或结合形式的，指芳香族碳环基团，即芳香族或部分芳香族的6元或10元环，如苯基、萘基或四氢萘基，优选
10 苯基或萘基，及最优选苯基。此芳基部分可任选被一个或多个基团取代，这些取代基团可独立地选自卤素且优选氟、烷氧羰基如甲基羰基、羧基、氰基、烷基、烷氧基、苯基、苯氧基、三氟甲基、三氟甲氧基、1,3-间二氧杂环戊烯基或1,4-间二氧杂环戊烯基，更优选氟、烷氧羰基、烷基、三氟甲基和三氟甲氧基，及最优选氟。最优选的芳香族基团是2,5-二氟苄基
15 和2,4,5-三氟苄基。

- 术语R³和R⁴的“芳基”，可为单独或结合形式的，指芳香族碳环基团，即芳香族或部分芳香族的6元或10元环，如苯基、萘基或四氢萘基，优选苯基或萘基，及最优选苯基。此芳基部分可任选被一个或多个基团取代，这些取代基团可独立地选自卤素、烷氧羰基如甲基羰基、羧基、
20 氰基、烷基、烷氧基、苯基、苯氧基、三氟甲基、三氟甲氧基、1,3-间二氧杂环戊烯基或1,4-间二氧杂环戊烯基、环己基、羟基、烷基酰氨基如乙酰氨基、硝基、烷基磺酰基如甲磺酰基，更优选氟、氯、溴、烷氧基、羧基、1,4-间二氧杂环戊烯基、烷氧羰基。对于R²和R⁴最优选的芳香族基团是苯基和苯氧基。

- 25 术语R⁵的“芳基”指任选由烷基、烷氧基或卤素取代的苯基。

术语“芳氧基”指上文定义的芳基通过氧连接到母体结构上，即芳基-O-。

- 术语R²的“杂芳基”，可为单独或结合形式的，是指一种芳香族单-或二环基团，它具有5~10个、优选5~6个环原子并含有一个到三个杂
30 原子、优选含有一个杂原子，杂原子如独立地选自氮、氧或硫。此杂芳

基的实例是噻吩基、异噻唑基、噻唑基、吡啶基、吡咯基、咪唑基、四唑基，优选吡啶基、异噻唑基和噻唑基。任选地，杂芳基基团可独立地被苯基、烷基、烷基羰基、烷氧羰基、羟基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、羧基、烷氧羰基烷基、优选烷基单-、二-或三-取代。

- 5 术语 R^3 和 R^4 的“杂芳基”，可为单独或结合形式的，是指一种芳香族单-或二环基团，它具有5~10个、优选5~6个环原子，并含有一个到三个杂原子、优选含有一个杂原子，杂原子如独立地选自氮、氧或硫。此杂芳基的实例是吡啶基、噻吩基、异噻唑基、异喹啉基、喹啉基、和1H-苯并[d][1,3]噻嗪-2,4-二酮及吲哚基、嘧啶、哒嗪和吡嗪，优选吡啶基和噻吩基。任选地，这些杂芳基基团可独立地被烷基、烷基羰基、烷氧羰基、羟基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、羧基、烷氧羰基烷基，优选烷基单-、二-或三-取代。
- 10

- 术语“杂环基”，可为单独或结合形式的，指一种非-芳香族单-或二环基团，它具有5~10个、优选5~6个环原子并含有一个到三个杂原子、
15 优选具有一个杂原子，杂原子如独立地选自氮、氧或硫。此杂环的环可任选地被一种基团取代，这种基团独立地选自卤素、烷基、烷氧基、氧基羰基、烷氧羰基等；和/或此杂环在二级氮原子(即-NH-)上由烷基、芳基烷氧羰基、烷基羰基取代；或在三级氮原子(即=N-)上被氧化。此杂环基团的实例是吗啉基、吡咯烷基、哌啶基等。

- 20 术语“二聚体形式”表示一种化合物，其中两个同样化学式I的化合物的两个 R^1 基团被普通单键替代；或其中 R^1 是谷胱甘肽-S-或半胱氨酸-S-或酯，和/或它们的烷基羰基或芳基羰基衍生物，如乙酰基半胱氨酸-S-或苯甲酰半胱氨酸-S-，优选谷胱甘肽-S-、半胱氨酸-S-、乙酰基半胱氨酸-S-或苯甲酰半胱氨酸-S-。

- 25 术语“药用盐”是指保留游离碱或游离酸的生物有效性和性质的那些盐，这些游离碱或游离酸不是生物或其他方面不合需要的。这些盐由无机酸和有机酸形成，无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等；有机酸如乙酸、丙酸、羟基乙酸、丙酮酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、
30 乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸、N-乙酰基半胱氨酸等。此外这些盐可通

过在游离酸中加入无机碱或有机碱来制备。无机碱衍生的盐包括，但不限于，钠、钾、锂、铵、钙、镁盐等。有机碱衍生的盐包括，但不限于，伯、仲、和叔胺、取代胺包括自然存在的取代胺、环状胺和碱性离子交换树脂的盐，如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、
5 赖氨酸、精氨酸、N-乙基哌啶、哌啶、聚乙烯亚胺树脂等的盐。

“药用酯”表示通式(I)的化合物可在官能团处衍生，所提供的衍生物能够在体内转化回到母体化合物。这种化合物的实例包括生理上可接受的及代谢中易变的酯类衍生物，如甲氧基甲基酯，甲硫基甲基酯和新戊酰氧基甲基酯。此外，与代谢中易变的酯类似，能够在体内产生通
10 式(I)母体化合物的任何生理上可接受的通式(I)化合物的等价物都包括在本发明范围内。

化学式(I)的化合物可用于抑制哺乳动物的金属蛋白酶活性，特别是锌水解酶的活性。更明确地，化学式(I)的化合物是有用的治疗和预防一些失调的药物，这些失调与内皮素-转变酶(ECE)活性引起的疾病相关
15 联。对这种酶的抑制将有利于治疗心肌局部缺血、充血性心力衰竭、心律不齐、高血压、肺部高压、哮喘、脑血管痉挛、蛛网膜下腔出血、惊厥前期、肾脏疾病、动脉硬化症、伯格氏病、高安氏动脉炎、糖尿病并发症、肺癌、前列腺癌、胃肠失调、内毒素休克和败血病，及用于创伤治疗及控制月经、青光眼。此外该化合物是有用的抑制细胞生长剂和
20 大脑保护剂，用于抑制移植物排斥、器官保护及治疗眼科疾病。

更详细地，本发明涉及下列化学式(I)的化合物，及其二聚体形式，和/或它们的药用酯和/或药用盐，优选它们的药用酯和/或药用盐，及最优选它们的药用盐：



30 其中：

R^1 是氢、烷基羰基或芳基羰基；

R^2 是烷基、链炔基、羟烷基、羧烷基、烷氧羰基、烷基羰基烷基、烷基环烷基、烷基环烷基烷基、烷基磺酰基、芳基、芳烷基、芳基烷氧基烷基、芳基(烷氧羰基)烷基、芳基氨基羰基、二芳基烷基、芳基(羧烷基)氨基羰基、芳基羰基、芳基磺酰基、环烷基、环烷基羰基、环烷基烷基、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基烷基或基团 YR^2 是杂环基；

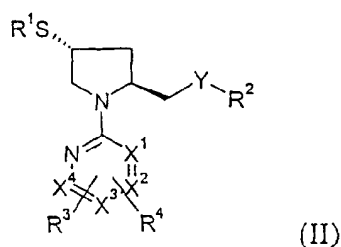
R^3 和 R^4 独立地选自氢、烷基、烷基环烷基、烷基环烷基烷基、烷硫基、环烷基、环烷基烷基、氨基甲酰基、羧基、羧烷基、氰基、氨基、单-和二烷基氨基、烷氧基、烷氧基烷基、烷氧羰基、烷氧羰基烷基、链烯基、链炔基、芳基、芳烷基、芳烷基(烷氧羰基)烷基、芳基羰基烷基、芳基链烯基、芳基(烷氧羰基)烷基、芳基氨基、芳基烷基氨基、芳氧基、卤素、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基、杂环基烷基、三甲基硅烷基乙炔基或三氟甲基；

R^5 是氢、烷基、芳基、芳基烷氧羰基或烷基羰基；

X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 是CH或N，附带条件是 X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 中只有最多两个基团是N；

Y是-O-或-NR⁵-。

本发明尤其是指通式(II)的化合物：



其中 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , X^1 , X^2 , X^3 , X^4 和Y与权利要求1中的定义相同。

在本发明的一个优选实施方案中， R^1 选自氢或烷基羰基，更优选氢或乙酰基，及最优选地 R^1 是氢。

在上述化合物中， R^2 优选烷基、链炔基、羟烷基、羧烷基、烷氧羰基、烷基羰基烷基、烷基环烷基、烷基环烷基烷基、烷基磺酰基、芳基、芳烷基、芳基烷氧基烷基、芳基(烷氧羰基)烷基、芳基氨基甲酰基、二芳基烷基、芳基(羧烷基)氨基羰基、芳基羰基、芳基磺酰基、环烷基、环烷基羰基、环烷基烷基、杂芳基、杂芳基烷基或杂环基烷基，更优选 R^2 是芳基、芳烷基、芳基烷氧基烷基、芳基氨基羰基、芳基羰基、芳基磺酰基、环烷基、环烷基羰基、环烷基烷基或杂芳基烷基，还要更优选 R^2 是芳基、芳烷基、芳基氨基甲酰基、芳基羰基、芳基磺酰基或杂芳基烷基，及最优选 R^2 是芳烷基。在一个本发明特别优选的实施方案中 R^2 是任选被2~3个卤素原子、优选被氟原子取代的苯基烷基。

在上述定义的化合物中，优选 R^3 和 R^4 独立地选自氢、烷基、烷硫基、链烯基、烷氧基、烷氧羰基、氨基、芳基、芳烷基、芳基链烯基、芳烷基氨基、芳氧基、单-和二烷基氨基、氨基甲酰基、羧基、氰基、卤素、杂芳基、杂芳基烷基、三甲基硅烷基乙炔基和三氟甲基，更优选 R^3 和 R^4 独立地选自氢、烷基、烷氧基、烷氧羰基、链烯基、噻吩基、氨基、单-和二烷基氨基、羧基、氰基、卤素、三甲基硅烷基乙炔基、苯基烷基氨基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、苯基和苯氧基，其中芳基和杂芳基基团可任选被烷基、烷氧基、羧基或卤素取代。在本发明最优选的实施方案中， R^3 是氢、烷基、烷氧基、烷氧羰基、链烯基、噻吩基、氨基、单-和二烷基氨基、羧基、氰基、卤素、三甲基硅烷基乙炔基、苯基烷基氨基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、苯基和苯氧基，其中芳基和杂芳基基团可任选被烷基、烷氧基、羧基或卤素取代，及 R^4 是氢。

在本发明进一步的优选实施方案中，Y是 $-NR^5-$ ， R^5 是氢或烷基，及更优选氢。

在本发明另一个优选实施方案中Y是 $-O-$ 。

本发明还涉及上述定义的化合物中 X^1 是N及 X^2 、 X^3 和 X^4 是CH，或其中 X^2 是N及 X^1 、 X^3 和 X^4 是CH，或其中 X^3 是N及 X^1 、 X^2 和 X^4 是CH，或其中 X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 是CH的化合物。

在一个优选实施方案中，本发明包括的化合物定义如上，其中 R^1 是氢或烷基羰基； R^2 是被2~3个卤素取代的苯基烷基； R^3 选自氢、烷基、

烷氧基、烷氧羰基、链烯基、噻吩基、氨基、单-和二烷基氨基、羧基、
 氰基、卤素、三甲基硅烷基乙炔基、苯基烷基氨基、吡啶基、嘧啶基、
 吡嗪基、苯基或苯氧基，及其中芳基和杂芳基基团可任选被烷基、烷氧
 基、羧基或卤素取代；R⁴是氢；X¹、X²、X³和X⁴是CH或N，附带条件是
 5 X¹、X²、X³和X⁴中只有最多两个基团是N；及Y是-NH-或-O-。在一个优
 选的实施方案的上述定义的化合物中，R¹是氢或乙酰基，及R²是二氟代
 苄基或三氟代苄基。

在实施例中举例说明了本发明优选实施方案中的化合物。本发明
 包括的化合物尤其选自：

- 10 a) (3R,5S)-1-嘧啶-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫
醇的三氟-乙酸盐(1:1)；
- b) (3R,5S)-1-(4,6-二甲氧基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲
基)-吡咯烷-3-硫醇；
- c) (3R,5S)-1-(4-氨基-5-氟代-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲
15 基)-吡咯烷-3-硫醇；
- d) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基] -
烟腈；
- e) (3R,5S)-1-(6-苯基-吡嗪-3-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯
烷-3-硫醇；
- 20 f) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-
烟酸；
- g) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-6-
甲基-嘧啶-4-羧酸甲酯；
- h) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-4-
25 三氟甲基-嘧啶-5-羧酸甲酯；
- i) (3R,5S)-1-吡嗪-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基) -吡咯烷-3-硫
醇；与三氟乙酸的化合物；
- j) 2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基] -
烟酰胺；
- 30 k) (3R,5S)-5-(2,5-二氟-4-甲氧基-苄氧基甲基)-1-(2-甲氧基-嘧啶-

- 4-基)-吡咯烷-3-硫醇;
- l) (3R,5S)-1-(2-氯代-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 与三氟乙酸的化合物;
- 5 m) (3R,5S)-1-(5-乙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);
- n) (3R,5S)-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);
- o) (3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);
- 10 p) (3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(5-三氟甲基-吡啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);
- q) (3R,5S)-1-吡啶-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);
- r) (2S,4R)-2-[4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-6-甲基-嘧啶-4-羧酸;
- 15 s) (3R,5S)-1-(2-甲氧基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- t) (3R,5S)-1-(2-苯基氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);
- 20 u) (3R,5S)-1-(2-苄基氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 三氟乙酸盐(1:1);
- v) (3R,5S)-1-(2-甲氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 三氟乙酸盐(1:1);
- w) (3R,5S)-1-(2-丁氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 三氟乙酸盐(1:1);
- 25 x) (3R,5S)-1-(2-甲硫烷基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- y) (3R,5S)-1-(2-苯氧基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- 30 z) (3R,5S)-1-(5-苯基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡

咯烷-3-硫醇;

aa) (3R,5S)-1-(5-吡啶-2-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 及其与三氟-乙酸的化合物;

bb) (3R,5S)-1-(5-吡啶-4-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

cc) (3R,5S)-1-(5-噻吩-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

dd) (3R,5S)-1-[5-(4-甲氧基-苯基)-嘧啶-2-基]-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

ee) (2S,4R)-4-{2-[4-巯基-2-(2,4,5-三氟代-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-嘧啶-5-基}-苯甲酸;

ff) (3R,5S)-1-(5-烯丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

gg) (3R,5S)-1-(5-吡啶-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 及

hh) (3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(5-三甲基硅烷基乙炔基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇。

这些化合物在放射免疫测定(对ECE-抑制的E, 参阅下文)中显示 IC_{50} 值为大约0.5nM~100nM。

尤其优选的化学式(I)定义的化合物选自:

a) (3R,5S)-1-嘧啶-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);

b) (3R,5S)-1-(6-苯基-哒嗪-3-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;

c) (3R,5S)-1-吡嗪-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 及其与三氟乙酸的化合物;

d) (3R,5S)-1-(5-乙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);

e) (3R,5S)-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);

- f) (3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(5-三氟甲基-吡啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1);
- g) (3R,5S)-1-(5-苯基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟代-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- 5 h) (3R,5S)-硫代乙酸S-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-基]酯;
- i) (3R,5S)-1-(5-吡啶-2-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 及其与三氟乙酸的化合物;
- j) (3R,5S)-1-(5-吡啶-4-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- 10 k) 1-(5-噻吩-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- l) 1-(5-吡啶-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇;
- 15 m) (2S,4R)-5-[(2,5-二氟-苄氨基)-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇; 及
- n) (3R,5S)-硫代乙酸S-[5-[(2,5-二氟代-苄基氨基)-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-基]酯。

本发明还涉及药物组合物, 这些组合物含有上文定义的化合物和
20 药用赋形剂。

本发明一个更进一步的实施方案涉及上文定义的化合物作为药剂制造中活性成分的用途, 该药剂包含上文定义的化合物, 用于预防和治疗内皮素-转化酶(ECE)的活性引起的疾病, 尤其是心肌局部缺血、充血性心力衰竭、心律不齐、高血压、肺部高压、哮喘、脑血管痉挛、蛛网膜下腔出血、惊厥前期、肾脏疾病、动脉硬化症、伯格氏病、高安氏动脉炎、糖尿病并发症、肺癌、前列腺癌、胃肠失调、内毒素休克和败血病, 及用于创伤治疗和控制月经、青光眼、移植物排斥、与抑制细胞生长关联的疾病、眼科以及大脑保护性适应症和器官保护。

25

本发明进一步涉及上述化合物治疗或预防一些疾病的用途, 这些
30 疾病与心肌局部缺血、充血性心力衰竭、心律不齐、高血压、肺部高压、

哮喘、脑血管痉挛、蛛网膜下腔出血、惊厥前期、肾脏疾病、动脉硬化症、伯格氏病、高安氏动脉炎、糖尿病并发症、肺癌、前列腺癌、胃肠失调、内毒素休克和败血病有关，及用于创伤治疗和控制月经、青光眼、移植物排斥、与抑制细胞生长关联的疾病、眼科以及大脑保护性适应症和器官保护。

此外本发明包括的上述化合物可用作治疗的活性物质，特别在与锌水解酶活性有关的疾病的范围，这些疾病如心肌局部缺血、充血性心力衰竭、心律不齐、高血压、肺部高压、哮喘、脑血管痉挛、蛛网膜下腔出血、惊厥前期、肾脏疾病、动脉硬化症、伯格氏病、高安氏动脉炎、糖尿病并发症、肺癌、前列腺癌、胃肠失调、内毒素休克和败血病，以及用于创伤治疗和控制月经、青光眼、移植物排斥、与抑制细胞生长关联的疾病、眼科以及大脑保护性适应症和器官保护。

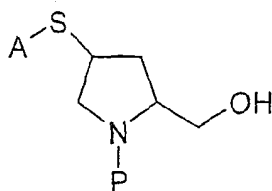
本发明还包括一种方法，用于治疗 and/or 预防处理心肌局部缺血、充血性心力衰竭、心律不齐、高血压、肺部高压、哮喘、脑血管痉挛、蛛网膜下腔出血、惊厥前期、肾脏疾病、动脉硬化症、伯格氏病、高安氏动脉炎、糖尿病并发症、肺癌、前列腺癌、胃肠失调、内毒素休克和败血病，及用于创伤治疗和控制月经、青光眼、移植物排斥、抑制细胞生长关联的疾病、眼科以及大脑保护性适应症和器官保护，此方法包括将上文定义的化合物引入到人类或动物肌体中。

本发明还涉及上文定义的化合物用于抑制锌水解酶活性的用途。

本发明还涉及无论何时通过下述方法制造的上述化合物。

化学式(I)化合物可通过本领域已知的方法或下述的方法来制备。除非另外指明，下述取代基 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 和Y的定义同上。

上文定义的化合物的制备方法可包括化学式III的化合物的反应：



III

其中A是HS-保护基团及P是NH-保护基团并将在下文部分中叙述。

a) 与 R^2 -卤化物反应以引入-OR²基团, 接着脱去P-保护基并引入杂芳族化合物; 或

5 b) 首先脱去化学式(III)的P-保护基, 引入上文定义的杂芳族化合物, 接着进行-OH/-NH₂置换及还原胺化以引入R²;

可任选地接着将上述R¹、R²、R³、R⁴基团转化为不同的基团和/或脱保护基和/或释放出硫醇。

制备化学式(I)的化合物可遵循流程1的反应路线: 起始原料是可利用的商品或通过本领域已知的方法由羟基脯氨酸合成, 该方法在例如M. Bodanszky 和A. Bodanszky的“The Practice of Peptide Synthesis”中有述, 10 该书1984年在柏林由Springer Verlag出版。

合成从通过制备相应的甲磺酸盐(如在室温~80°C用MeSO₃H/Ph₃P/DIAD在甲苯中反应)、通过氯化物(如在3°C到室温用15 Ph₃P/CCl₄在CH₂Cl₂中反应)或通过溴化物(如在4°C~室温用LiBr/DEAD/Ph₃P在THF中反应)引起构型反转开始的。为了保持构型, 此相应的反应可在0°C~室温用MeSO₂Cl/吡啶/DMAP来完成。

流程1的步骤b表示通过如与三苯基甲硫醇或4-甲氧基苄硫醇的反应(用K-Ot.-Bu在DMF中反应, 对于Cl: 0°C; 对于Br: 0°C~室温; 对于20 Mes: 室温~100°C), 引入带保护的含硫部分。

流程1的步骤c的反应通过方法A(在-20°C与LAH在THF中反应)或方法B(在-50°C与Red-Al在甲苯/THF中反应)来完成。

步骤d的反应(对于Y = -O-)可以下列条件来完成:

1. 与NaH/R²Br在DMF中在0°C~室温反应, (O-烷基化)
- 25 2. 与TFA在CH₂Cl₂中在-20°C~室温反应, (脱BOC保护基)
3. 方法A: 与2-氯代-杂芳族化合物/N-乙基二异丙基胺在80°C反应3小时; 方法B(平行-合成): 与2-氯代-杂芳族化合物/N-乙基二异丙基胺在二噁烷或DMF中于80-130°C反应16小时~2天; 方法C (对于反应性较低的化合物): 2-氯代-杂芳族化合物/ N-乙基二异丙基胺/CuI在80°C反应10小时。
- 30

制备酚醚化合物相应的反应可在Mitsunobu条件(DEAD/Ph₃P/PhOH或PhSH在THF中)下进行。

对于Y是NR²或N-杂环的情况,可如下进行甲磺酰化反应,例如:

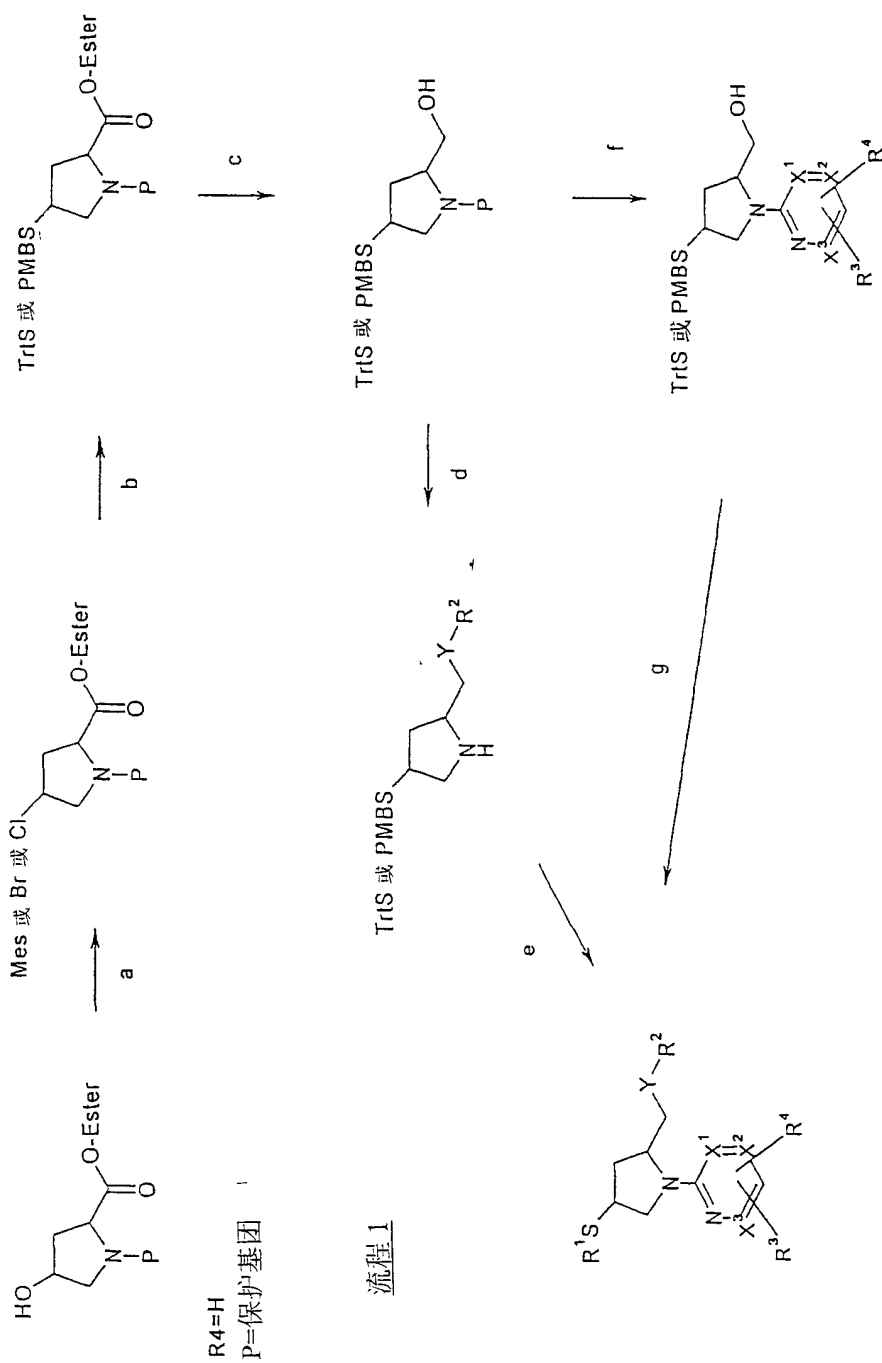
1. 用1.1当量MeSO₂Cl /1.5当量吡啶/1当量DMAP反应, (甲磺酰化);
2. 如YR²是吡咯或咪唑,用1当量NaI、NaH在DMF中于0°C~室温反应;
3. 用iPr₃SiH在TFA/CH₂Cl₂中或CH₃CN中(为三苯甲基-硫醇脱保护基)进行反应。

可在室温与TFA/iPr₃SiH在CH₂Cl₂中或CH₃CN中完成释放硫醇的反应。

制备Y是N的化合物时一种可供选择的路线是: 首先脱去P-保护基(P=BOC时,用TFA在CH₂Cl₂中在-20°C~室温反应),继而与2-氯代-杂芳族化合物/N-乙基二异丙基胺/CuI在80°C反应10小时(步骤f),然后进行下列反应:

1. 与邻苯二甲酰亚胺、 DEAD/PH₃P在THF中于0~80°C反应(在Mitsunobu条件下引入邻苯二甲酰亚胺);
 2. 与水合肼、EtOH在室温反应(邻苯二甲酰亚胺脱保护基),接着与下列相应的化合物反应
 3. 醛、SnCl₂、NaBH₃CN、MeOH(还原胺化)(步骤g);
- 如果需要,通过下列反应引入R⁵:
4. 与R⁵Br/K₂CO₃在乙腈中于室温进行反应,接着与下列化合物反应
 5. iPr₃SiH在TFA/CH₂Cl₂中或CH₃CN中(脱三苯甲基-硫醇保护基)。

- 16 -



流程2概述了制备化学式(I)化合物具体的反应路线:

流程2中A是指以Cl-衍生物作起始原料, 此Cl-衍生物是以流程1(步骤e)所述方法用2,4-二氯代嘧啶合成的。

- 5 1. 如果 XR^3 是OMe, 可与3当量MeOH/NaH在DMF中于室温完成反应(当 $\text{YR}^2 = 2,4,5$ -三氟-苄氧基醚衍生物时会发生4-氟代-置换);
2. 如果 XR^3 是OPh, 可与10当量PhOH/NaH在DMF中于70°C反应8小时;
- 10 3. 如果 XR^3 是OMe, 可与2.2当量MeONa在MeOH中于室温~75°C完成反应(10小时) (当 $\text{YR}^2 = 2,4,5$ -三氟-苄氧基醚衍生物时不发生4-氟代-置换);
4. 如果 XR^3 是SMe, 可与2.2当量MeSNa/NaI在THF中室温~70°C用28小时完成反应;
- 15 5. 如果 XR^3 是 NHR^3 , 可与7.5~30当量 $\text{H}_2\text{NR}^3/\text{iPr}_2\text{EtN}$ 在二噁烷中于90~105°C用48小时完成反应。

可用TFA / iPr_3SiH 在 CH_2Cl_2 或 CH_3CN 中在室温完成释放硫醇的反应(步骤b)。

流程2B的反应路线表示化学式(1)的化合物另外的合成路线:

步骤c)的反应可用下列方法完成:

- 20 1. 与芳基 $\text{B}(\text{OH})_2/\text{Pd}(\text{PhP})_4$ 在二甲氧基乙烷/EtOH和2M的 Na_2CO_3 中于90°C进行Suzuki-偶联反应2小时; 或
2. 与芳基 $\text{B}(\text{QH})_2/\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ 在二噁烷中和2M Na_2CO_3 在80°C反应24~48小时; 或
- 25 3. i. 通过与双(频哪醇)二硼/KOAc/ $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ 在DMF中于80°C反应合成硼酯(如4,4,5,5-四甲基-2-苯基-[1,3,2] 二噁硼烷衍生物), 及
ii. 与芳香溴代物/ $\text{PdCl}_2(\text{dppf})/2\text{M Na}_2\text{CO}_3$ 在80°C反应16小时;
或
- 30 4. Sonogashira-Hagihara 偶联反应: 与乙炔基三甲基硅烷/ $\text{Et}_3\text{N}/\text{PdCl}_2(\text{Ph}_3\text{P})_2/\text{CuI}$ 在DMF中80°C反应。

二指肠溃疡、溃疡cruris、革兰氏阴性脓血症、休克、血管球性肾炎、肾绞痛、青光眼、哮喘，治疗和预防糖尿病并发症和服用环孢子菌素期间的并发症，以及其他与内皮素活性关联的疾病。

5 可通过各种本领域普通技术人员了解的体外和体内试验，来证明化学式(I)的化合物抑制金属蛋白酶活性特别是锌水解酶活性的能力。

A) 细胞培养

如说明(Schweizer等：1997年，Biochem. J., 328卷871-878页)直到融合前在“细胞工厂”培养稳定的人类脐静脉内皮细胞系(ECV304)。在融合时用胰岛素/EDTA溶液洗脱细胞并用低速离心收集细胞。此细胞粒
10 用磷酸盐缓冲的pH7.0的盐水洗涤一次并在-80°C储存备用。

B) 增溶ECV304细胞中的ECE

如果没有另外说明，全部程序在0~4°C下进行。有 1×10^9 细胞的细胞粒悬浮在50毫升缓冲液A(20mM Tris/HCl, pH 7.5, 含有5mM $MgCl_2$ 、100 μ M PMSF、20 μ M E64、20 μ M 亮肽素)中并被超声破碎。所生成的细胞均浆在100,000 g_{av} 下离心60分钟。按照说明丢弃上层清液，及所生成的膜小球在50毫升缓冲液A中匀化并离心。重复两次在缓冲液A中洗涤膜的碎片，最终制备的膜在4°C在50毫升缓冲液B(缓冲液A+0.5%吐温20(v/v)、0.5%CHAPS(w/v)、0.5%毛地黄皂苷(w/v))中匀化并搅拌2小时。然后如说明沉积剩余的膜碎片。所生成的透明上层清液含有溶解的ECE，并以1.0
20 毫升的等分试样在-120°C储存直到使用。

C) ECE试验

本试验测量人类大ET-1产生的ET-1。为测量高数量的样品使用96孔板来完成试验。并使用特别先进的和最佳的涂布技术，在相同的孔中进行酶反应和所产生ET-1的放射免疫测定。

25 D) 涂板

Fluoronunc Maxisorp white(编码437796)96孔板在UV Stratalinker 2400 (Stratagene)中以1焦耳能量照射30分钟。然后此96孔板每孔注入300 μ l 蛋白质A溶液(2 μ g/毫升，在0.1M Na_2CO_3 中，pH9.5)，并在4°C培养48小时。涂过的板在使用前可在4°C最多储存3星期。

30 使用前弃去蛋白质A溶液，且此板在4°C用在0.1M Na_2CO_3 中pH9.5

的0.5%牛血清白蛋白（BSA）封闭2小时。

板用双蒸水洗涤，并已准备好进行ECE试验。

E) 筛选试验

在DMSO中溶解并稀释试验化合物。在孔中放入10 μ l DMSO，接着放入含有200ng大ET-1的125 μ l试验缓冲液(50mM Tris/HCl, pH 7.0, 1 μ M Thiorphan、0.1% NaN₃、0.1%BSA)。通过加入50 μ l溶解的ECE(在试验缓冲液中稀释1:30~1:60倍(v/v))开始酶反应。酶反应在37°C进行30分钟。加入10 μ l pH7.0的150mM ETDA使酶反应停止。

放射免疫测定：

ET-1的放射免疫测定（RIA）基本按照以前的说明(Löffler, B.-M. 和Maire, J.-P., 1994年, Endothelium 1: 273-286页)来完成。在含有EDTA停止酶反应的混合物的板中加入25 μ l试验缓冲液，该试验缓冲液含有20000cpm的(3-(¹²⁵I)酪氨酸)-内皮素-1和25 μ l ET特效的抗血清AS-3(在试验缓冲液中1:1000的稀释液)。这些板在混合下在4°C保温过夜。然后，用洗板器吸去液相，用双蒸水将板洗涤一次。在此洗过的板中加入200 μ l闪烁液(Microscint 40 LSC-Cocktail, Packard, 编码6013641)，在Topcount计数器上对板上每孔计数2分钟。

在板上用合成的ET-1以最终浓度为每孔0~3000pg的ET-1制出标准曲线。全部板都测试了最大ECE活性(在10 μ l DMSO存在下)的对照样品和产生ET-1免疫反应活性本底(在10mM EDTA或100 μ M磷酸二肽存在下)的对照样品。测定重复进行三次。

F) 动力学测试

通过改变测试中使用的底物浓度，可使用所述试验格式来测定所使用ECE制剂及不同ECE抑制剂的动力学特征(即K_m, K_i)。

G) 以细胞为基础的ECE试验

如已说明的(Schweizer等：1997年, Biochem. J., 328卷871-878页)，MDCK细胞稳定地表达人类ECE-1c。在24孔板上培养的细胞在湿润空气/CO₂(19: 1)气氛中融合在Dulbecco改进的Eagles介质(DMEM)中，此介质中补充了10 %(v/v)牛胎儿血清(FBS)、0.8 毫克/毫升geneticin、100i.u./毫升青霉素和100 μ g/毫升链霉素。在ECE试验前，用0.5毫升DMEM-HBSS(1:1)

和pH 7.0的补充了0.1%(w/v)BSA的10mMHEPES代替上述介质。加入溶在DMSO中的抑制剂,使其最终浓度为1%。加入0.42 μ M人的大ET-1使酶反应开始,并在培养器中于37°C使酶反应进行1.5小时。在培养结束时迅速移出培养介质,如上述用放射免疫测定法分析等分试样中产生的ET-1。

5 通过测量磷酸二肽(IC₅₀ 0.8 $\pm$ 0.2 μ M)和CGS 314447(IC₅₀ 20 $\pm$ 4nM)特有的抑制剂常数,来验证ECE筛选试验[De Lombaert, Stephane、Stamford, Lisa B.、Blanchard, Louis、Tan, Jenny、Hoyer, Denton、Diefenbacher, Clive G.、Wei, Dongchu、Wallace, Eli M.、Moskal, Michael A.等:“内皮素-转化酶和中性肽链内切酶24.11的有效非-肽双重抑制剂”,Bioorg. Med. Chem. Lett., (1997年), 7卷(8期), 1059~1064页]。用与文献所述没有明显不同的方法由IC₅₀值测量两种抑制剂,但所用的测量试验规程不同。在此以细胞为基础的试验中磷酸二肽显示的IC₅₀为4 μ M。因为如ECE被包埋在正常血浆膜环境中,此试验还给出了另外有关在更加生理的条件下抑制剂抑制效力的信息。重要的是要说明此筛选试验是在1 μ M N-(2-(巯甲基)-1-氧-3-苯丙基)-甘氨酸(Thiorphan)存在的情况下完成的,用以阻止由于NEP24.11的作用造成的任何潜在的大ET-1的降解。在存在或不存在N-(2-(巯甲基)-1-氧-3-苯丙基)-甘氨酸的情况下测量ET-1产生的初步试验中,在MDCK-ECE-1c转染的细胞中都不存在NEP活性。在后来的试验中不再在培养介质中加N-(2-(巯甲基)-1-氧-3-苯丙基)-甘氨酸。

20 根据上述方法,本发明的化合物在放射免疫测定(对ECE-抑制的E)中显示的IC₅₀值为大约0.5nM~大约100 μ M。优选的化合物显示的值为0.5nM~100nM。

如上所述,含有化学式I的化合物的药物,如同制造这种药物的方法都是本发明的目标,该方法包括将一个或多个化学式I的化合物、及如果需要一个或多个其它有治疗价值的物质带到盖伦氏制剂的给药形式中。

25 药物组合物可以口服给药,例如以药片、带涂层的药片、糖衣丸、硬的或软的凝胶胶囊、溶液、乳液或悬浮液形式。还可实行直肠给药例如使用栓剂;局部或经由皮肤给药,例如使用药膏、乳剂、凝胶或溶液;或非肠道给药例如使用可注射的溶液。

为了制备药片、带涂层药片、糖衣丸或硬凝胶胶囊，本发明化合物可与药物惰性的无机或有机赋形剂混合。药片、糖衣丸或硬凝胶胶囊适宜的赋形剂的实例包括乳糖、玉米淀粉或它们的衍生物；滑石粉或硬脂酸或它们的盐。

- 5 用于软凝胶胶囊适宜的赋形剂包括例如植物油、蜡、脂肪、半-固态或液态多元醇等；然而根据活性成分的本性，可能有软凝胶胶囊根本不需要赋形剂的情况。

制备溶液和糖浆可使用的赋形剂包括例如水、多元醇、蔗糖、转化糖和葡萄糖。

- 10 注射液可使用的赋形剂包括例如水、醇、多元醇、甘油和植物油。
栓剂和局部或经由皮肤的用药可使用的赋形剂包括例如天然或硬化油、蜡、脂肪和半-固态或液态多元醇。

- 药物组合物还可包含防腐剂、抗氧化剂、增溶剂、稳定剂、湿润剂、乳化剂、甜味剂、着色剂、增味剂、改变渗透压的盐、缓冲液、涂层剂
15 或抗氧化剂。它们还可包含其他治疗上有价值的试剂。

其中以化学式I的化合物的有效量给药的剂量依赖于具体活性成分的本性、患者的年龄和需求及用药的方式。一般考虑剂量为每天0.1~100毫克/千克体重，虽然表明如果需要所引用的上限可被超越。

- 下面提供具体的实施例作为帮助实践本发明的指南，而无意限制
20 本发明的范围。

实施例

全部反应在氩气保护下完成。

A) 缩写词：

- 25 EtOAc: 乙酸乙酯；EtOH: 乙醇；THF: 四氢呋喃；Et₂O: 乙醚；
MeOH: 甲醇；CH₂Cl₂: 二氯甲烷；DMF: 二甲基甲酰胺；BOC: 叔-丁氧羰基；LAH: 氢化铝锂；LDA: 二异丙酰胺基锂；DEAD: 偶氮二羧酸二乙酯；DIAD: 偶氮二羧酸二异丙酯；DMAP: 4-二甲氨基吡啶；
iPr₂NEt: N-乙基二异丙胺；Ph₃P: 三苯基膦；Red-Al溶液: 二氢化-双-(2-
30 甲氧基乙氧基)-铝酸钠-溶液；Et₃N: 三乙胺；芳基B(OH)₂ = 芳基-、杂芳

基-、 α -链烯基硼酸； $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ ：(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钯(II)· CH_2Cl_2 (1:1)； $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ ：四(三苯基膦)钯； iPr_3SiH ：三异丙基硅烷； $\text{PdCl}_2(\text{Ph}_3\text{P})_2$ ：二氯化[双(三苯基膦)钯(II)]； Et_3SiH ：三乙基硅烷；TFA：三氟乙酸。

5 B) 选择性脱BOC-保护基的一般方法：

15.1毫摩尔N-BOC-S-三苯甲基化合物在30毫升 CH_2Cl_2 中的溶液用34毫升TFA在 -20°C 处理并在5.5小时过程中升到室温。蒸发反应物并用饱和 NaHCO_3 水溶液/ EtOAc (3 $\times$)处理给出游离的氨基三苯甲基硫烷。

C) 酯水解的一般方法：

- 10 5.38毫摩尔羧酸甲酯溶液溶解在150毫升 EtOH 中，在室温用10.8毫升(10.8毫摩尔)1N的 NaOH 水溶液处理。在3小时后将反应物蒸发并倾入10% KHSO_4 水溶液/ EtOAc (3 $\times$)中。有机相用10% NaCl 水溶液洗涤，并用 Na_2SO_4 干燥给出羧酸。

D) 脱S-保护基的一般方法：

- 15 用三异丙基硅烷脱三苯甲基保护基：2.84毫摩尔三苯甲基-保护的化合物在30毫升 CH_2Cl_2 中的溶液在 0°C 用8毫升TFA和5.82毫升(28毫摩尔)三异丙基硅烷处理。室温30分钟后将溶液完全蒸干，及该化合物从 Et_2O /戊烷中沉淀两次或用硅胶以环己烷、环己烷/ EtOAc 9：1~1:1作淋洗液纯化给出无色油状硫醇三氟-乙酸盐(1:1)。

20 E) 改进的脱S-保护基的一般方法：

在 CH_2Cl_2 (20毫升/毫摩尔)中的1当量三苯甲基化离子析物在 0°C 用10-20当量三异丙基硅烷及10-20当量TFA处理。溶液在 0°C 搅拌直到检查不到离子析物，然后溶液倾入饱和的 NaHCO_3 溶液中并用 CH_2Cl_2 萃取。合并的有机相用盐水洗涤并用 Na_2SO_4 干燥。

25

实施例1：起始原料

合成本发明化合物的起始原料(2S,4R)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁酯2-甲酯是本领域已知的，并发表在例如国际专利申请WO98/20001和欧洲专利申请公开号EP-A-696593中。

30

1.1: (2S,4S)-4-氯-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁酯2-甲酯

374克(1.48摩尔)(2S,4R)-4-羟基-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁酯2-甲酯在1.6升 CH_2Cl_2 中的溶液用680克(2.6摩尔)三苯基磷处理, 冷却到3~5°C并用1.24升(12.8摩尔) CCl_4 处理10分钟, 在此温度2小时后停止冷却, 反应在2小时期间上升到35°C。冷却降到20°C并再搅拌另外45分钟。加入4升正庚烷后, 反应物蒸发到2.9升, 冷却到0°C, 过滤, 剩余物用同样方式处理两次, 第三次剩余物再用2升 CH_2Cl_2 溶解。蒸发溶剂并通过硅胶用9:1的己烷/叔-丁基甲基醚作淋洗液过滤。蒸发溶剂给出347克(89%)的(2S,4S)-4-氯-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔-丁酯2-甲酯, MS: 246 (MH^+)。

10

1.2: (2S,4R)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁酯2-甲酯

将76克(0.68摩尔)叔丁醇钾在1.5升DMF中的溶液冷却(-3°C)并缓慢地用202克(0.73摩尔)溶在0.8升DMF(最高1°C)中的三苯基甲烷硫醇处理(1.5小时)。在0°C 2.5小时后, 加入161克(0.61摩尔)的(2S,4S)-4-氯代-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁酯2-甲酯在0.35升DMF中的溶液。反应物在2°C搅拌过夜、蒸发、溶解在1.5升EtOAc中, 倾入2.7升饱和 NH_4Cl 水溶液中并用EtOAc(2×)萃取。有机相用饱和 NaHCO_3 水溶液洗涤、 Na_2SO_4 干燥并蒸发。用己烷/EtOAc(95: 5~7: 3)硅胶柱色谱给出268克(87%)的(2S,4R)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁酯2-甲酯, MS: 504(MH^+)。

20

1.3: 酯还原

A) (2S,4R)-2-羟甲基-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-羧酸叔丁酯

35克(69毫摩尔)(2S,4R)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1,2-二羧酸1-叔丁酯2-甲酯在380毫升甲苯/60毫升THF中的溶液在-47°C~-50°C用44克(152毫摩尔)二氢化-双(2-甲氧基-乙氧基)铝酸钠在甲苯中的70%溶液(在甲苯中的3.5M Red-Al)处理。在-50°C 3小时和在-30°C 1小时后, 该溶液倾入有40克柠檬酸的水(1升)中, 并用EtOAc萃取(2×)。有机相用 Na_2SO_4 干燥并蒸发。用己烷/EtOAc(7: 3)硅胶柱色谱给出23.0克(69%)的(2S,4R)-2-羟甲基-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-羧酸叔丁酯, MS: 476 (MH^+)。

30

B) (2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷1-羧酸叔丁酯

15.5克(32.59毫摩尔)(2S,4R)-2-羟甲基-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-羧酸叔丁酯和24.7克(109.77毫摩尔)2,4,5-三氟溴化苄在700毫升DMF中的溶液, 在0°C用2.28克(52.14毫摩尔)55%NaH分成4份处理, 并用7小时升到室温。反应物冷却到0°C并用500毫升饱和NH₄Cl水溶液处理、用EtOAc(3×)萃取。有机相用10%NaCl洗涤及用Na₂SO₄干燥并蒸发。用己烷/EtOAc(9:1~8.5:1.5)的快速硅胶柱色谱给出9.37克(46%)的(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-羧酸叔丁酯, MS: 620 (MH⁺)。

C) (2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷

9.37克(15.11毫摩尔)的(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯在30毫升CH₂Cl₂中的溶液在-20°C用34毫升TFA处理, 并用5.5小时升到室温。反应物蒸发并用饱和NaHCO₃水溶液/EtOAc(3×)处理, 给出7.77克(定量)(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷, MS: 520 (M)。

实施例2: N-吡咯烷衍生物(流程2)

2.1 方法A: 将2.08克(4毫摩尔)(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷、0.687克(6毫摩尔)2-氯代嘧啶和1.16毫升(6.8毫摩尔)N-乙基二异丙基胺的混合物在80°C加热3小时。冷却反应物并在H₂O/Et₂O(3×300)中分配。有机相用饱和的NaHCO₃水溶液、10% NaCl水溶液洗涤, 干燥(Na₂SO₄)并蒸发。快速硅胶色谱(CH₂Cl₂/EtOAc 97.5:2.5)给出1.7克(71%)(2S,4R)-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶, MS: 598 (MH⁺)。

类似物:

a) (2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷和2,4-二氯代嘧啶给出 (2S,4R)-2-氯代-4-[2-(2,4,5-三氟代-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶, MS: 632 (MH⁺);

b) (2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷和2,5-二溴代-嘧啶[Brown, Desmond J.; Arantz, B. W.: “嘧啶反应XXII: 相应的氯代-、溴代-和碘代嘧啶在氨解中的相对反应性”, J. Chem. Soc. C (1971年), 第10期, 1889-91页]给出(2S,4R)-5-溴代-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶, MS: 676 (MH⁺, 1个Br)。

c) (2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷和甲基-2-氯代-6-甲基嘧啶给出(2S,4R)-6-甲基-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶-4-羧酸甲酯, MS: 670 (MH⁺)。

d) (2S,4R)-6-甲基-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶-4-羧酸甲酯按照酯类一般水解方法(EtOH/二噁烷)水解给出(2S,4R)-6-甲基-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶-4-羧酸, MS: 656 (MH⁺)。

2.2 脱S-保护基的方法D: 1.7克(2.84毫摩尔) (2S,4R)-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶的30毫升CH₂Cl₂溶液在0°C用8毫升TFA及5.82毫升(28毫摩尔)三异丙基硅烷处理。室温30分钟后将溶液完全蒸干, 并将化合物从Et₂O/戊烷中沉淀两次给出1.06克(80%)无色油状(3R,5S)-1-嘧啶-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟-乙酸酯(1:1), MS: 356(MH⁺)。

类似物:

a) (2S,4R)-2-氯-4-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶给出(3R,5S)-1-(2-氯-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 与三氟-乙酸的化合物, MS: 390(MH⁺);

b) (2S,4R)-5-溴-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶给出(2S,4R)-1-(5-溴-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇, MS: 434 (MH⁺, 1个Br)。(在前面没有列出)

c) (2S,4R)-6-甲基-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶-4-羧酸给出(2S,4R)-2-[4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-6-甲基-嘧啶-4-羧酸, MS: 414(MH⁺)。

2.3 方法B(平行合成): 将0.45毫摩尔(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷在1毫升二噁烷或0.1毫升DMF中的溶液、2.25毫摩尔2-氯代-杂芳族化合物和2.25毫摩尔N-乙基二异丙基胺在80~130°C加热16小时~2天(参阅表1)。反应物用制备型HPLC纯化 (RP-18, MeCN/H₂O, UV 230 nm)。

如说明(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)TFA/三异丙基硅烷脱保护基给出游离硫醇。

2.4 方法C: 将2克(3.85毫摩尔)(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷、1.2克(7.7毫摩尔)2-氯代-5-正丙基嘧啶、1.98 毫升(11.55毫摩尔)N-乙基二异丙基胺和催化量碘化铜(I)的混合物在80°C加热10小时。反应物冷却并在H₂O/Et₂O(3×300)之间分配。有机相用饱和NaHCO₃水溶液、10%NaCl水溶液洗涤, 干燥(NaSO₄)及蒸发。快速硅胶色谱(甲苯/Et₂O 99:1)给出2克(81%) (2S,4R)-5-丙基-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶, MS: 640 (MH⁺)。

如说明(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)TFA/三异丙基硅烷脱保护基给出 (3R,5S)-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟-乙酸酯(1:1), MS: 398 (MH⁺)。

根据类似方法通过(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷和下列表1指出的2.离析物的反应制备下列化合物。

表1					
通过(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷66-7030和2. 离析物的反应。					
名称	2. 离析物	方法	溶剂/时间/温度/°C	MS	
(3R,5S)-1-(4,6-二甲氧基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇	2-氯-2,4-二甲氧基嘧啶	B	DMF催化剂 KI /16小时 / 80	416	M+H+
(3R,5S)-1-(4-氨基-5-氟代-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇	4-氨基-2-氯-5-氟-嘧啶	B	DMF /24小时 /120	389	M+H+
2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-6-甲基-嘧啶-4-羧酸甲酯	2-氯-6-甲基-嘧啶-4-羧酸甲酯	B	无/16小时/80	428	M+H+
2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-4-三氟甲基-嘧啶-5-羧酸甲酯	2-氯-4-(三氟-甲基)嘧啶-5-羧酸甲酯	B	无/16小时/80	482	M+H+
(3R,5S)-1-(5-乙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1)	2-氯-5-乙基-嘧啶	C	无/10小时/80	384	M+H+
(3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(4-三氟甲基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟乙酸盐(1:1)	2-氯-4-(三氟代甲基)嘧啶	B	无/ 16小时/85	424	M+H+
2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-烟腈	2-氯代-烟腈	B	无/ 16小时/80	380	M+H+

2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-烟酸	2-氯代-烟酸	B	二噁烷, DMF /24小时/120	399	M+H+
2-[(2S,4R)-4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-烟酰胺	2-氯代-烟酰胺	B	二噁烷/16小时/80	398	M+H+
(3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(5-三氟甲基-吡啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟-乙酸盐(1:1)	2-氯代-5-(三氟甲基)吡啶	B	无/16小时/80	423	M+H+
(3R,5S)-1-吡啶-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇三氟-乙酸盐(1:1)	2-氯代-吡啶	B	无/2天/130	355	M+H+
(3R,5S)-1-吡啶-2-基-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 与三氟-乙酸的化合物	2-氯-吡啶	C	无/45分钟/160	470	M+H+
(3R,5S)-1-(6-苄基-哒嗪-3-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇	3-氯代-6-苄基-哒嗪	B	DMF / 16小时 / 80	432	M+H+

实施例3: 2-氯代嘧啶上的取代

3.1 在DMF中的反应: 0.24 (0.4毫摩尔)(2S,4R)-2-氯代-4-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶在8毫升DMF中的溶液, 在
5 0°C用0.05毫升(1.2毫摩尔)MeOH和0.054克(1.24毫摩尔)55%的NaH处理。在此温度下保持反应(6小时)并升到室温过夜。用饱和NH₄Cl/Et₂O(3×)水溶液萃取后, 有机相用10% NaCl水溶液洗涤、干燥(Na₂SO₄)并蒸发。快速色谱(CH₂Cl₂/EtOAc 9.5:5)给出0.14克(54%) (2S,4R)-4-[2-(2,5-二氟-4-甲氧基-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-2-甲氧基-嘧啶, MS: 640

(MH⁺)。

TFA/三异丙基硅烷脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)给出(3R,5S)-5-(2,5-二氟-4-甲氧基-苄氧基甲基)-1-(2-甲氧基-嘧啶-4-基)-吡咯烷-3-硫醇, MS: 398 (MH⁺)。

5 类似物:

a) (2S,4R)-2-氯-4-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶和10当量苯酚/NaH在70°C 8小时后给出2-苯氧基-4-[(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶, MS: 690(MH⁺), 该化合物脱保护(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)给出(3R,5S)-1-(2-苯氧基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇, MS: 448(MH⁺)。

3.2 在其它溶剂中反应: 0.24 (0.4 毫摩尔) (2S,4R)-2-氯-4-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶在1毫升MeOH中的溶液在15 0°C用0.16毫升(0.88毫摩尔)甲醇钠(5.5 M在MeOH中)处理, 在此温度保持(2小时), 升温并在75°C加热10小时。在蒸发和用饱和NH₄Cl水溶液/Et₂O(3x)萃取后, 有机相用10%NaCl水溶液洗涤、干燥(Na₂SO₄)并蒸发给出0.19克(77%) 2-甲氧基-4-[(2S,4R)-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶, MS: 628(MH⁺); 此化合物脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)给出(3R,5S)-1-(2-甲氧基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇, MS: 386 (MH⁺)。

类似物:

a) (2S,4R)-2-氯-4-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶和2.2当量甲硫醇钠/2当量碘化钠在THF中(70°C, 28小时)并25 脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)后给出(3R,5S)-1-(2-甲硫烷基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇, MS: 402 (MH⁺);

b) (2S,4R)-2-氯-4-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶和10当量苯胺/3.5当量N-乙基二异丙基胺在二噁烷中30 (105°C, 48小时)并脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)后给出

(3R,5S)-1-(2-苄氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇的三氟-乙酸盐(1:1), MS: 447(MH⁺);

5 c) (2S,4R)-2-氯-4-[2-(2,4,5-三氟代-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶和7.5当量苄胺/3.5当量N-乙基二异丙基胺在二噁烷中(90°C, 48小时)并脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)后给出(3R,5S)-1-(2-苄氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 三氟-乙酸盐(1:1), MS: 461(MH⁺);

10 d) (2S,4R)-2-氯-4-[2-(2,4,5-三氟代-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶和7.5当量丁胺/3.5当量N-乙基二异丙基胺在二噁烷中(90°C, 48小时)并脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)后给出(3R,5S)-1-(2-丁氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 三氟-乙酸盐(1:1), MS: 427(MH⁺);

15 e) (2S,4R)-2-氯-4-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶和30当量甲胺溶液(8.03M在EtOH中)/3.5当量N-乙基二异丙基胺在二噁烷中(90°C, 48小时)并脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)后给出(3R,5S)-1-(2-甲氨基-嘧啶-4-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇; 三氟-乙酸盐(1:1), MS: 385(MH⁺)。

实施例4: Suzuki-型反应

20 一般这类反应根据Stanforth, Stephen P.: “联芳基合成中的催化交叉-偶联反应”, Tetrahedron(1998年), 54卷(3/4期), 263-303页来完成。

4.1 方法A(溶剂用氩气脱气10分钟): 将1.35克(2毫摩尔) (2S,4R)-5-溴-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶在12毫升二甲氧基乙烷中的溶液加入到0.116克(0.1毫摩尔)四(三苯基膦)钯在1.4毫升二甲氧基乙烷的悬浮液中并搅拌15分钟。然后加入在3.4毫升EtOH中的0.29克(2.4毫摩尔)苯基硼酸, 10分钟后加入8.8毫升2M Na₂CO₃水溶液。反应物在90°C加热2小时, 蒸发并用H₂O/Et₂O(3x)萃取。有机相用10% NaCl水溶液洗涤, 干燥(Na₂SO₄)并蒸发。通过快速-硅胶色谱(甲苯)纯化给出0.48克(36%)(2S,4R)-5-苄基-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶, MS: 674(MH⁺)。

30

TFA/三异丙基硅烷脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)给出(3R,5S)-1-(5-苯基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇, MS: 432(MH⁺)。

5 4.2 方法B(溶剂用氩气脱气10分钟)平行合成: 0.13毫摩尔(2S,4R)-5-溴代-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶、0.195毫摩尔硼酸或硼酸酯及0.004毫摩尔PdCl₂(dppf)在2毫升二噁烷中的溶液和0.4毫升2M Na₂CO₃在80°C加热48小时。过滤后混合物用制备型HPLC(RP18, 50 %~95%乙腈)纯化。

10 TFA/三异丙基硅烷脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)给出游离硫醇。

4.3 方法C: (溶剂用氩气脱气10分钟)[Giroux, Andre; Han, Yongxin; Prasit, Petpiboon: “通过原位形成硼酸酯一次合成联芳基”, Tetrahedron Lett. (1997
15 年), 38卷(22期), 3841-3844页]: 0.68克(1毫摩尔)(2S,4R)-5-溴-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶、0.28克(1.1毫摩尔)双(频哪醇)二硼、0.29克(3毫摩尔, 在0.1托100°C干燥2小时)乙酸钾和0.024克(0.03毫摩尔)PdCl₂(dppf)在12毫升DMF中的溶液在80°C搅拌4.5小时。反应物冷却, 用0.195毫升(2毫摩尔)2-溴代吡啶、0.024克(0.03毫摩尔)
20 PdCl₂(dppf)和2.5毫升2M Na₂CO₃水溶液处理并在80°C加热16小时。反应物蒸发(60°C/0.1托)并在水/Et₂O(3x)之间分配。有机相用10% NaCl水溶液洗涤及Na₂SO₄干燥。通过快速-硅胶色谱(甲苯/EtOAc 97.5:2.5)纯化给出0.125克(2S,4R)-5-吡啶-2-基-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶, MS: 675 (MH⁺)。

25 TFA/三异丙基硅烷脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)给出(3R,5S)-1-(5-吡啶-2-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)吡咯烷-3-硫醇; 与三氟代-乙酸的化合物, MS: 433(MH⁺)。

4.4 方法D (溶剂用氩气脱气10分钟): 0.68克(1毫摩尔)(2S,4R)-5-溴-2-[2-
30 (2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶、15毫克(0.022

毫摩尔)二氯化双(三苯基膦)钯(II)和9.5毫克碘化铜(I)在0.4毫升DMF中的溶液在80°C用0.35毫升(2.5毫摩尔)乙炔基三甲基硅烷和1.87毫升Et₃N在1.5毫升DMF中的溶液处理1小时。在1小时期间再加入此相同的溶液,并在4小时后用戊烷(3x)/H₂O(2x)萃取。有机相干燥(Na₂SO₄)、蒸发及通过快速-
5 硅胶色谱(甲苯)纯化给出0.063克(9%)(2S,4R)-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-5-三甲基硅烷乙炔基-嘧啶, MS: 694(MH⁺)。

TFA/三异丙基硅烷脱保护基(参阅脱S-保护基的一般方法, 方法D)给出(3R,5S)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-1-(5-三甲基硅烷乙炔基-嘧啶-2-
10 基)-吡咯烷-3-硫醇, MS: 452(MH⁺)。

根据类似的方法, 通过(2S,4R)-5-溴-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶和下列表2提出的2.离析物的反应制备下列化合物。

表2				
根据方法B通过(2S,4R)-5-溴-2-[2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-基]-嘧啶 68-5011和2.离析物的反应				
名称	2.离析物	MS		颜色
(3R,5S)-1-(5-吡啶-4-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟代-苄氧基甲基)吡咯烷-3-硫醇	4-吡啶基硼酸	433	M+H+	橙色
(3R,5S)-1-(5-噻吩-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇	噻吩-3-硼酸	438	M+H+	
(3R,5S)-1-[5-(4-甲氧基-苯基)-嘧啶-2-基]-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇	4-甲氧基-苯硼酸	462	M+H+	
(2S,4R)-4-{2-[4-巯基-2-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-1-基]-嘧啶-5-基}-苯甲酸	4-羧基-苯硼酸	476	M+H+	
(3R,5S)-1-(5-烯丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟代-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇	2-烯丙基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷	396	M+H+	
(3R,5S)-1-(5-吡啶-3-基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟代-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇	吡啶-3-硼酸 1,3-丙二醇	433	M+H+	

实施例5: S-乙酰基-衍生化

397毫克(1毫摩尔)(3R,5S)-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-硫醇(其三氟-乙酸盐用饱和NaHCO₃水溶液/EtOAc萃取)在6毫升吡啶中的溶液在0°C用0.14毫升(2毫摩尔)乙酰氯处理并在室温搅拌5小时。反应物倾入冰水中并用Et₂O(3x)萃取。有机相用1 N HCl水溶液和10%NaCl水溶液洗涤、干燥(Na₂SO₄)和蒸发。快速硅胶色谱(CH₂Cl₂/Et₂O 100:0~95:5)给出383毫克(87%)(3R,5S)-硫代乙酸S-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-5-(2,4,5-三氟代-苄氧基甲基)-吡咯烷-3-基]酯, MS: 440(MH⁺)。

实施例6: 胺类

a) 在0°C往80毫升CH₂Cl₂中的25.0克(52.56毫摩尔)(2S,4R)-2-羟甲基

-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-1-羧酸叔-丁酯中加入40毫升TFA，溶液在室温搅拌过夜。溶液在真空下浓缩，剩余物再溶解在EtOAc中，用饱和NaHCO₃水溶液、盐水洗涤并用Na₂SO₄干燥。分离出21.98克(定量)浅棕色泡沫状的(2S,4R)-(4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基)-甲醇。

- 5 b) 上述粗产物悬浮在16.46克(105.1毫摩尔, 2当量)2-氯-5-正丙基嘧啶和30毫升 (175毫摩尔, 3.3当量)N-乙基二异丙基胺中，混合物加热到80°C。当全部溶解后，加入350毫克(1.84毫摩尔)碘化铜，反应混合物保持在80°C过夜。冷却到室温后，混合物用EtOAc/H₂O稀释，水溶液用EtOAc萃取。合并的有机层用1M KHSO₄、1M HCl和盐水洗涤并用Na₂SO₄干燥。
- 10 用EtOAc:己烷(1:4~1:1)快速色谱纯化产生19.1克(74%)浅黄色泡沫状的(2S,4R)-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基]-甲醇，MS: 496 (MH⁺)。

- c) 在15毫升THF中的1.0克(2.0毫摩尔) (2S,4R)-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基]-甲醇在室温下用764毫克(2.82毫摩尔)三
- 15 苯基膦和420毫克(2.82毫摩尔)邻苯二甲酰亚胺处理。溶液冷却到0°C，加入615μl(3.83毫摩尔)偶氮二羧酸二乙酯在3毫升THF中的溶液。溶液室温搅拌过夜，加入H₂O，无机层用EtOAc萃取。合并的层用1M NaOH、饱和NaHCO₃溶液和盐水洗涤，并在Na₂SO₄上干燥。用1:2的EtOAc:己烷作淋洗液的柱色谱纯化，得到1.20克(95%) (2S,4R)-2-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-
- 20 三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基甲基]-异吲哚-1,3-二酮白色固体，MS: 625 (MH⁺)。

- d) 将在95毫升乙醇中的960毫克(1.52毫摩尔) (2S,4R)-2-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基甲基]-异吲哚-1,3-二酮用2.4毫升
- 25 (49.4毫摩尔)水合肼回流处理。冷却到室温后，过滤溶液并浓缩，粗产物用CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH 90:10:0.25快速色谱来纯化，生成659 毫克(88%)白色泡沫状的(2S,4R)-C-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基]-甲胺，MS: 495 (MH⁺)。

- e) 往3毫升甲醇中的643毫克(1.3毫摩尔)(2S,4R)-C-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基]-甲胺中加入158μl(1.43毫摩尔)2,5-二
- 30 氟苯甲醛和5毫升甲醇，使化合物部分地再溶解。接着加入108毫克(0.78

毫摩尔)氯化锌和109毫克(1.56毫摩尔)NaBH₃CN在3毫升甲醇中的溶液。得到的溶液搅拌过夜、浓缩并溶解在EtOAc/饱和NaHCO₃溶液中。无机层用EtOAc萃取,合并的有机层用NaHCO₃和盐水洗涤、Na₂SO₄干燥及蒸发。柱色谱纯化产生750毫克(93%)浅黄色胶状的(2S,4R)-(2,5-二氟-苄基)-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基甲基]-胺, MS: 621(MH⁺)。

f) 将在2毫升吡啶中的160毫克(0.258毫摩尔)(2S,4R)-(2,5-二氟-苄基)-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基甲基]-胺在0°C用37μl(0.52毫摩尔)乙酰氯处理。溶液室温搅拌1.5小时,倾到冰水中并用EtOAc萃取。合并的有机层用1N HCl和盐水洗涤、Na₂SO₄干燥及蒸发。用EtOAc:己烷为1:2~1:1的柱色谱产生170毫克(定量)白色泡沫状的(2S,4R)-N-(2,5-二氟-苄基)-N-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基甲基]-乙酰胺。

g) 用类似于一般程序E的方法,由(2S,4R)-N-(2,5-二氟-苄基)-N-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基甲基]-乙酰胺制备无色胶状的(2S,4R)-N-(2,5-二氟代-苄基)-N-[4-巯基-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-2-基甲基]-乙酰胺, MS: 421 (MH⁺)。

h) 用类似于一般程序E的方法,由(2S,4R)-(2,5-二氟-苄基)-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基甲基]-胺制备无色胶状的(2S,4R)-5-[(2,5-二氟代-苄基氨基)-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇, MS: 379 (MH⁺)。

i) 将在1毫升吡啶中的50毫克(0.13毫摩尔)(2S,4R)-5-[(2,5-二氟-苄基氨基)-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-硫醇在0°C用28μl(0.39毫摩尔)乙酰氯处理。溶液室温搅拌1.5小时,倾入冰水并用EtOAc萃取。合并的有机层用1N HCl和盐水洗涤、Na₂SO₄干燥并蒸发。用EtOAc:己烷为1:1~2:1的柱色谱得到54毫克(88%)近于灰白色的胶状(3R,5S)-硫代乙酸S-[5-[[乙酰基-(2,5-二氟-苄基)-氨基]-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-基]酯, MS: 463 (MH⁺)。

j) 将在6.5毫升CH₂Cl₂中的220毫克(0.35毫摩尔)(2S,4R)-(2,5-二氟-苄基)-[1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基甲基]-胺在0°C用74μl(0.43毫摩尔)N-乙基二异丙基胺;63μl(0.43毫摩尔)氯代甲酸苄酯和26.6

毫克(0.043毫摩尔)聚合物结合的DMAP处理5分钟，并在室温处理1小时。
加入212毫克(0.212毫摩尔)聚合物结合的三胺，且溶液被摇动过夜。过滤
并浓缩产生的331毫克(定量)白色泡沫状的(2S,4R)-(2,5-二氟-苄基)-[1-(5-
丙基-嘧啶-2-基)-4-三苯甲硫烷基-吡咯烷-2-基甲基]-氨基甲酸苄酯，它根
5 据程序E处理得到无色泡沫状的(2S,4R)-(2,5-二氟-苄基)-[4-巯基-1-(5-丙基
-嘧啶-2-基)-吡咯烷-2-基甲基]-氨基甲酸苄酯，MS: 513(MH⁺)。

k) 类似于实施例6g由(2S,4R)-(2,5-二氟-苄基)-[4-巯基-1-(5-丙基-嘧
啶-2-基)-吡咯烷-2-基甲基]-氨基甲酸苄酯制备(3R,5S)-硫代乙酸 S-[5-[[苄
氧基羰基-(2,5-二氟-苄基)-氨基]-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷-3-基]
10 酯。

1) 在0°C往5毫升EE中的137毫克(2.5毫摩尔)(3R,5S)-硫代乙酸 S-
[5-[[苄氧基羰基-(2,5-二氟-苄基)-氨基]-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-2-基)-吡咯烷
-3-基]酯中加入320μl 33 % HBr的乙酸溶液。溶液在室温搅拌12小时，倾
入NaHCO₃中，无机相用EtOAc萃取。合并的有机层用盐水洗涤、Na₂SO₄
15 干燥并蒸发。用EtOAc作淋洗液进行柱色谱纯化，得到65毫克(63%)无色
油状的(3R,5S)-硫代乙酸 S-[5-[(2,5-二氟-苄基氨基)-甲基]-1-(5-丙基-嘧啶-
2-基)-吡咯烷-3-基]酯，MS: 421(MH⁺)。(没有列出)

实施例A

20 可用常规方式制造含有下列成分的药片：

成分	每片
化学式I的化合物	10.0~100.0毫克
乳糖	125.0毫克
玉米淀粉	75.0毫克
滑石粉	4.0毫克
硬脂酸镁	1.0毫克

实施例B

可用常规方式制造含有下列成分的胶囊：

成分	每个胶囊
化学式I的化合物	25.0毫克
乳糖	150.0毫克
玉米淀粉	20.0毫克
滑石粉	5.0毫克

实施例C

注射液可具有下列组分：

化学式I的化合物	3.0毫克
明胶	150.0毫克
苯酚	4.7毫克
注射液用水	加到1.0毫升

5

实施例D

将500毫克化学式I的化合物悬浮在3.5毫升Myglyol 812和0.08克苄醇中。此悬浮液被充入带有剂量阀的容器中。在压力下通过此阀将5.0克氟利昂12充入该容器。通过振动使氟利昂溶解在Myglyol-苄醇混合物中。

10 此喷雾容器含有可单独使用的大约100次单次剂量。