

A1

**DEMANDE  
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

**N° 81 12100**

---

(54) Tripeptides inhibiteurs de l'enzyme de transformation de l'angiotensine.

(51) Classification internationale (Int. Cl. <sup>3</sup>). C 07 C 103/52; A 61 K 37/02.

(22) Date de dépôt..... 19 juin 1981.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : *EUA, 24 juillet 1980, n° 171.772.*

(41) Date de la mise à la disposition du  
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 4 du 29-1-1982.

---

(71) Déposant : E. R. SQUIBB & SONS, société constituée sous les lois de l'Etat de Delaware,  
résidant aux EUA.

(72) Invention de : Michael E. Condon et Miguel A. Ondetti.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet William J. Rezac,  
49, av. Franklin-D.-Roosevelt, 75008 Paris.

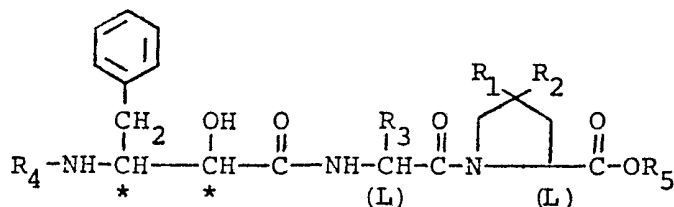
1

Tripeptides inhibiteurs de l'enzyme de transformation  
de l'angiotensine

De nouveaux tripeptides, ayant pour formule :

I

5



10

sont des composés utiles. Dans la formule I et dans l'ensemble du mémoire descriptif, les symboles ont la définition suivante :

$R_1$  est un atome d'hydrogène et  $R_2$  est un groupement hydroxyle, un radical alkyle, aryle, arylalkyle, alcoxy, alkylthio, aryloxy, arylthio, un atome d'halogène, ou une fonction azide, ou bien  $R_1$  et  $R_2$  sont identiques et sont chacun un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un radical alcoxy ou alkylthio, ou encore  $R_1$  et  $R_2$  forment ensemble un groupement oxo,  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-$ , ou  $-\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}-$ ,  $n$  étant égal à 1 ou 2 ;

$R_3$  est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ou trifluorométhyle ;

$R_4$  est un atome d'hydrogène ou un groupement protecteur acyle, tel que le radical arylalcoxycarbonyle ou alcoxycarbonyle ; et

$R_5$  est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle.

Les composés de formule I dans laquelle  $R_4$  et  $R_5$  sont des atomes d'hydrogène inhibent l'action de l'enzyme de transformation de l'angiotensine et sont utilisables pour abaisser la pression sanguine. Les composés de formule I dans laquelle  $R_4$  ou  $R_5$  n'est pas un atome d'hydrogène sont des intermédiaires utiles.

Le terme "aryle", tel qu'il est utilisé dans l'ensemble du mémoire descriptif, soit en tant que tel soit en tant que partie d'un groupement plus important, désigne un radical phényle éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène, radicaux alkyle, alcoxy, alkylthio,

groupements hydroxy, nitro ou amine, radicaux alcanoyle, dialkylamine, phényle ou trifluorométhyle. Les radicaux phényle et phényle monosubstitué constituent les radicaux aryle préférés ; le radical phényle constitue le meilleur  
5 choix.

Le terme "alkyle", tel qu'il est utilisé dans l'ensemble du mémoire descriptif, soit en tant que tel soit en tant que partie d'un groupement plus important, désigne un groupement ayant de 1 à 8 atomes de carbone. On préfère les  
10 radicaux alkyle ayant de 1 à 3 atomes de carbone.

Le terme "alcoxy", tel qu'il est utilisé dans l'ensemble du mémoire descriptif, soit en tant que tel soit en tant que partie d'un groupement plus important, désigne un radical ayant de 1 à 8 atomes de carbone. On préfère les  
15 radicaux alcoxy ayant de 1 à 3 atomes de carbone.

Le terme "halogène", tel qu'il est utilisé dans l'ensemble du mémoire descriptif, soit en tant que tel soit en tant que partie d'un groupement plus important, désigne un atome de fluor, de chlore, de brome ou d'iode. Les atomes  
20 d'halogène préférés sont le fluor et le chlore.

Le terme "alcanoyle", tel qu'il est utilisé dans l'ensemble du mémoire descriptif, soit en tant que tel soit en tant que partie d'un groupement plus important, désigne un radical ayant de 2 à 9 atomes de carbone.

25 Les atomes de carbone qui sont marqués d'un astérisque dans la formule I sont asymétriques et peuvent exister dans la configuration S ou R. Les quatre stéréoisomères possibles (S,S ; S,R ; R,S ; R,R) sont compris dans le champ d'application de l'invention. Pour l'atome de carbone  
30 qui porte le groupement hydroxyle, on préfère la configuration S.

Les peptides de formule I, ainsi que leurs sels, sont utilisables comme agents anti-hypertenseurs. Ils inhibent la transformation d'un décapeptide, l'angiotensine I, en  
35 angiotensine II, et sont donc utilisables pour réduire ou soulager l'hypertension due à l'angiotensine. L'action d'une enzyme, la rénine, sur l'angiotensinogène, pseudoglobuline du plasma sanguin, produit l'angiotensine I. L'angiotensine I

est transformée par l'enzyme de transformation de l'angiotensine (ETA) en angiotensine II. Cette dernière est un produit presseur actif qui a été rendu responsable de diverses formes d'hypertension chez diverses espèces de mammifères, les rats et les chiens par exemple. Les peptides selon l'invention interviennent dans la séquence angiotensinogène → (rénine) → angiotensine I → (ETA) → angiotensine II en inhibant l'enzyme de transformation de l'angiotensine et en réduisant ou supprimant la formation du produit presseur, l'angiotensine II. Ainsi, en administrant une composition qui contient un ou plusieurs des peptides selon l'invention, on atténue l'hypertension due à l'angiotensine chez une espèce de mammifère (y compris les humains) qui en souffre. Une dose unique, ou de préférence deux à quatre doses quotidiennes fractionnées, administrées à raison d'environ 0,1 à 100 mg par kilogramme de poids corporel et par jour, de préférence à raison d'environ 1 à 15 mg par kilogramme de poids corporel et par jour, convient pour réduire la pression sanguine. La substance est de préférence administrée par voie orale, mais on peut également utiliser des voies parentérales telles que les voies sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse ou intrapéritonéale.

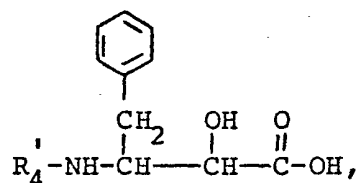
Les peptides selon l'invention peuvent également être mis sous forme d'associations avec un diurétique pour le traitement de l'hypertension. Une association comprenant un peptide selon l'invention et un diurétique peut être administrée à une dose efficace qui comprend une posologie quotidienne totale d'environ 30 à 600 mg, de préférence d'environ 30 à 330 mg, d'un composé selon l'invention, et d'environ 15 à 300 mg, de préférence d'environ 15 à 200 mg, du diurétique, à une espèce de mammifère souffrant d'hypertension. Sont exemplaires des diurétiques envisagés en association avec un peptide selon l'invention les thiazides, par exemple le chlorothiazide, l'hydrochlorothiazide, le fluméthiazide, l'hydrofluméthiazide, le bendrofluméthiazide, le metchlorthiazide, le trichlorméthiazide, le polythiazide ou le benzthiazide, ainsi que l'acide étacrynique, le ticrynafène, la chlortalidone, le furosémide, la muzolimine, le bumétanide, le triamtérène, l'amiloride et

la spironolactone, ainsi que les sels de ces mêmes composés.

On peut formuler les peptides de formule I, en vue de leur utilisation pour la diminution de la pression sanguine, sous forme de compositions telles que comprimés, capsules ou 5 élixirs en vue de l'administration orale, ou bien sous forme de solutions ou de suspensions stériles en vue de l'administration parentérale. On formule d'environ 10 à 500 mg d'un peptide ou d'un mélange de peptides de formule I avec un véhicule, un porteur, un excipient, un liant, un 10 conservateur, un stabilisateur, un agent de flaveur, etc., physiologiquement acceptables, sous une forme posologique unitaire telle que l'exige la pratique pharmaceutique acceptée. La quantité de principe actif contenue dans ces compositions ou préparations est telle que l'on obtient une 15 posologie convenable dans l'intervalle sus-indiqué.

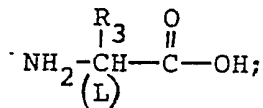
On peut réaliser la préparation des peptides selon l'invention en utilisant comme produits de départ : un composé ayant pour formule :

20 II



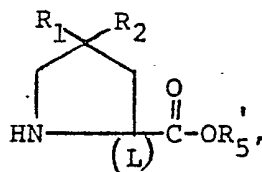
25 dans laquelle  $\text{R}_4$  est un groupement protecteur acyle tel qu'un radical arylalcoxycarbonyle ou alcoxycarbonyle ; un amino-acide ayant pour formule :

30 III



et un dérivé d'imino-acide ayant pour formule :

35 IV



dans laquelle  $R_5'$  est un radical alkyle.

On peut réaliser la synthèse des tripeptides selon l'invention en condensant d'abord les amino-acides de formules III et IV, et en condensant ensuite le dipeptide 5 résultant avec un amino-acide de formule II. Ou bien, on peut condenser d'abord les amino-acides de formules II et III, et condenser le dipeptide résultant avec un amino-acide de formule IV.

On peut réaliser les réactions de condensation 10 décrites ci-dessus en utilisant des modes opératoires connus de formation de liaisons amide, qui sont utilisés de manière classique dans les synthèses de peptides. On peut mener la réaction en présence d'un agent de condensation tel que le dicyclohexylcarbodiimide, ou bien on peut activer 15 l'acide en formant son anhydride mixte, un anhydride symétrique, un halogénure d'acide (de préférence le chlorure d'acide) ou un ester d'acide, ou encore en utilisant le réactif K de Woodward, la N-éthoxycarbonyl-2-éthoxy-1,2-dihydroquinoléine ou un agent similaire. On peut trouver une 20 revue de ces procédés dans Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Vol. XV, section II, page 1 et seq. (1974).

Les réactions décrites ci-dessus donnent les intermédiaires dans lesquels  $R_4$  et  $R_5$  ne sont pas des atomes d'hydrogène. On peut réaliser l'élimination du groupement 25 protecteur de l'azote d'un intermédiaire de formule I ( $R_4$  est un groupement protecteur acyle) en utilisant une hydrogénation catalytique ou une hydrolyse acide. On peut réaliser l'élimination du groupement ester alkylique du groupement proline par traitement normal avec une base telle que la 30 soude, ou bien, si  $R_5$  est un radical t-butyle, par réaction avec l'acide trifluoracétique et l'anisole.

Les produits de formule I (dans laquelle  $R_5$  est un atome d'hydrogène) forment des sels basiques avec diverses bases minérales et organiques, qui entrent également dans le 35 champ d'application de l'invention. Ces sels comprennent les sels d'ammonium, les sels de métaux alcalins comme les sels de sodium et de potassium, les sels de métaux alcalino-terreux comme les sels de calcium et de magnésium, les sels formés

avec des bases organiques, par exemple le sel de dicyclohexylamine, le sel de benzathine, le sel de N-méthyl-D-glucamine, le sel d'hydrabamine, et les sels formés avec les amino-acides comme l'arginine, la lysine et les amino-acides  
 5 similaires. On préfère les sels non toxiques et physiologiquement acceptables, mais d'autres sels sont également utilisables, par exemple pour isoler ou purifier le produit. On peut former les sels en utilisant des techniques classiques.

10 On préfère les tripeptides de formule I dans laquelle  $R_3$  est le radical méthyle.

Les exemples suivants sont des formes de réalisation spécifiques de l'invention.

#### EXEMPLE 1

15 (S,S)-1-[N-(3-Amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-L-proline

A) Ester t-butylique de la (S,S)-1-[N-[3-benzyloxycarbonyl)-amino]-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl]-L-alanyl]-L-proline

On refroidit dans un bain de glace un mélange  
 20 d'acide (2S,3S)-3-[(benzyloxycarbonyl)amino-2-hydroxy-4-phénylbutanoïque (658 mg, 2 mmoles), d'ester t-butylique de L-Ala-L-Pro (580 mg ; 2,4 mmoles), d'hydrate d'hydroxybenzotriazole (368 mg ; 2,4 mmoles) et de triéthylamine (0,28 ml ; 2 mmoles) dans 20 ml de tétrahydrofuranne. Tout en agitant le  
 25 mélange, on ajoute goutte à goutte, en 15 minutes, une solution de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (412 mg, 2 mmoles) dans 20 ml de dichlorométhane. On agite le mélange pendant environ 16 heures à la température ambiante. On filtre le mélange sur de la terre de diatomées et on reprend le filtrat à siccité sous  
 30 vide. On dissout le résidu dans de l'acétate d'éthyle, on lave deux fois avec une solution de sulfate de potassium à 10 %, une fois avec de l'eau, on sèche et on chasse le solvant sous vide, ce qui laisse 1,1 g d'ester t-butylique de (S,S)-1-[N-[3-(benzyloxycarbonyl)amino]-2-hydroxy-1-oxo-4-phényl-  
 35 butyl]-L-alanyl]-L-proline. On recristallise un petit échantillon de ce produit dans de l'acétate d'éthyle pour obtenir un échantillon analytique, point de fusion 156-165°C,  $[\alpha]_D = -89,4^\circ$  (c = 0,8 dans le méthanol).

Anal. calc. pour  $C_{30}H_{40}O_7N_3$  : C, 64,96 ; H, 7,27 ; N, 7,58

Trouvé : C, 65,02 ; H, 7,32 ; N, 7,87.

B) (S,S)-1-[N-[3-[(Benzyloxycarbonyl)amino]-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl]-L-alanyl]-L-proline

5 On traite l'ester t-butylique de la (S,S)-1-[N-[3-[(benzyloxycarbonyl)amino]-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl]-L-alanyl]-L-proline (1,1 g ; 2 mmoles) par 5 ml d'anisole et 20 ml d'acide trifluoracétique. On agite la solution à la température ambiante pendant 3 heures et on la reprend à  
10 siccité sous vide. On ajoute de l'éther au résidu et on extrait deux fois avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. On lave deux fois avec de l'éther les extraits au bicarbonate de sodium réunis, puis on acidifie avec de l'acide chlorhydrique. Trois extractions à l'acétate d'éthyle donnent  
15 1,2 g d'une substance visqueuse, qui est de la (S,S)-1-[N-[3-t-butyloxycarbonyl)amino]-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl]-L-alanyl]-L-proline brute.

C) (S,S)-1-[N-(3-Amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-L-proline

20 On dissout la (S,S)-1-[N-[3-[(benzyloxycarbonyl)-amino]-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl]-L-alanyl]-L-proline (environ 2 mmoles) brute dans 50 ml de méthanol et 25 ml d'eau. Après avoir purgé le système avec de l'argon, on ajoute 0,5 g de palladium à 10 % sur charbon. Tout en agitant, on fait  
25 passer un lent courant d'hydrogène au-dessus de la surface, pendant 18 heures. On sépare le catalyseur par filtration sur de la terre de diatomées, et on lave le tampon filtrant avec du méthanol. On reprend le filtrat à siccité sous vide et on ajoute quatre fois du méthanol, que l'on chasse sous vide, ce  
30 qui laisse 0,65 g d'un verre. On réunit cette substance à celle qui provient d'un autre essai. On dissout la majeure partie de cette substance dans 5 ml d'eau et on la fait passer dans une colonne garnie de 12 ml de résine AG50WX2 ( $H^+$ ). On élue cette colonne avec de l'eau jusqu'à ce que l'éluat ne  
35 soit plus fortement acide, puis on élue avec un tampon à pH 6,5. On rassemble les fractions positives à la "Ninhydrine". Il apparaît qu'un peu de produit a précipité dans la colonne, si bien que, lorsque les fractions ne donnent qu'un



essai très faible à la Ninhydrine, on élue le produit  
restant avec de l'ammoniaque 2 N. On élabore séparément les  
deux récoltes en les reprenant à siccité sous vide et en  
leur ajoutant de l'eau, puis en les reprenant à nouveau à  
5 siccité. L'électrophorèse donne les mêmes résultats pour les  
deux substances : - 5,3 cm (tampon à pH 1,9, 2000 V, 30 mn,  
détection à la Ninhydrine et à l'iode). On réunit les deux  
récoltes, on les triture avec de l'eau, on recueille le  
solide par filtration, on le lave encore avec de l'eau et  
10 avec du méthanol. Un séchage sous vide sur anhydride  
phosphorique à 75°C donne l'échantillon analytique (412 mg),  
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = - 120° (c = 0,64 dans l'acide acétique).

Anal. calc. pour  $C_{18}H_{25}O_5N_3$  : C, 59,49 ; H, 6,93 ; N, 11,56  
Trouvé : C, 59,47 ; H, 7,19 ; N, 11,68.

15

EXEMPLES 2 à 19

En suivant le mode opératoire de l'Exemple 1, mais  
en remplaçant l'ester t-butylique de L-Ala-L-Pro par l'ester  
de dipeptide indiqué dans la colonne I ci-dessous, on obtient  
le peptide indiqué dans la colonne II ci-dessous.

Colonne I

2. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-hydroxy-L-proline
3. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-méthyl-L-proline
4. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-méthoxy-L-proline
5. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-(méthylthio)-L-proline
6. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-phényl-L-proline
7. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-(phénylthio)-L-proline
8. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-benzyl-L-proline
9. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-(4-fluorophénoxy)-L-proline
10. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-(méthoxyphénylthio)-L-proline

Colonne II

- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-hydroxy-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-méthyl-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-méthoxy-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-(méthylthio)-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-phényl-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-(phénylthio)-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-benzyl-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-(fluorophénoxy)-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-(méthoxyphénylthio)-L-proline

Colonne I

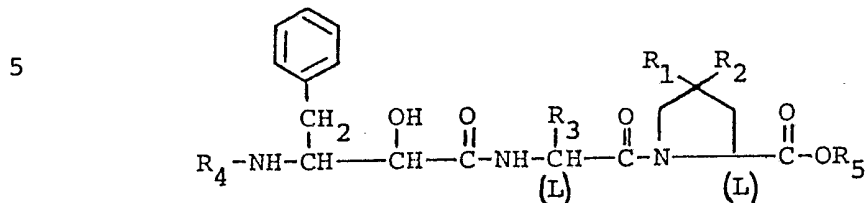
11. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-fluoro-L-proline
12. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4-azido-L-proline
13. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4,4-difluoro-L-proline
14. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4,4-diméthoxy-L-proline
15. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4,4-diméthylthio-L-proline
16. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4,4-éthylènedioxy-L-proline
17. Ester t-butylique de N-(L-alanyl)-4,4-éthylènedithio-L-proline
18. Ester t-butylique de N-(2-amino-2-trifluorométhyl-1-oxoéthyl)-L-proline
19. Ester t-butylique de N-(2-amino-1-oxoéthyl)-L-proline

Colonne II

- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-fluoro-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4-azido-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4,4-difluoro-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4,4-diméthoxy-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4,4-diméthylthio-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4,4-éthylènedioxy-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-4,4-éthylènedithio-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-2-amino-2-trifluorométhyl-1-oxoéthyl]-L-proline
- (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-2-amino-1-oxoéthyl]-L-proline

## REVENDICATIONS

1. Tripeptide ayant pour formule :



10 éventuellement sous forme de sel, formule dans laquelle  $R_1$  est un atome d'hydrogène et  $R_2$  est un groupement hydroxyle, un radical alkyle, aryle, arylalkyle, alcoxy, alkylthio, arylthio, un atome d'halogène, ou une fonction azide, ou bien  $R_1$  et  $R_2$  sont identiques et sont chacun un atome d'hydrogène ou  
 15 d'halogène ou un radical alcoxy ou alkylthio, ou encore  $R_1$  et  $R_2$  forment ensemble un groupement oxo,  $-O-(CH_2)_n-O-$ , ou  $-S-(CH_2)_n-S-$ ,  $n$  étant égal à 1 ou 2 ;

$R_3$  est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ou trifluorométhyle ;

20  $R_4$  est un atome d'hydrogène ou un groupement protecteur acyle ; et

$R_5$  est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle.

2. Tripeptide selon la revendication 1, dans lequel  $R_4$  et  $R_5$  sont chacun un atome d'hydrogène.

25 3. Tripeptide selon la revendication 2, dans lequel  $R_3$  est un radical méthyle.

4. Tripeptide selon la revendication 2, dans lequel  $R_1$  et  $R_2$  sont chacun un atome d'hydrogène.

5. Tripeptide selon la revendication 1, qui est  
 30 l'ester  $\underline{t}$ -butylique de la (S,S)-1-[N-[3-(benzyloxycarbonyl)-amino]-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl]-L-alanyl]-L-proline.

6. Tripeptide selon la revendication 1, qui est la (S,S)-1-[N-[3-[(benzyloxycarbonyl)amino]-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl]-L-alanyl]-L-proline.

35 7. Tripeptide selon la revendication 1, qui est la (S,S)-1-[N-(3-amino-2-hydroxy-1-oxo-4-phénylbutyl)-L-alanyl]-L-proline.

8. Composition à action thérapeutique, ayant en

particulier une action anti-hypertensive, caractérisée en ce que son principe actif est au moins un tripeptide selon la revendication 1.

9. Composition à action anti-hypertensive selon la 5 revendication 8, caractérisée en ce qu'elle est sous forme d'association avec un diurétique.