



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105073762 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 18

(21) 申请号 201480008610. 4

代理人 沈晓书 黄革生

(22) 申请日 2014. 02. 12

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

61/764, 679 2013. 02. 14 US

C07F 9/38(2006. 01)

A61K 31/66(2006. 01)

A61P 25/00(2006. 01)

A61P 9/00(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 08. 13

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/015980 2014. 02. 12

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/126979 EN 2014. 08. 21

(71) 申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 D·W·巴恩斯 S·L·科恩

D·F·里格尔

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

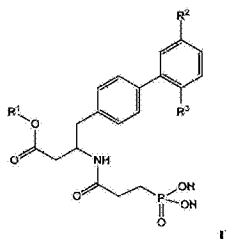
权利要求书4页 说明书48页 附图2页

(54) 发明名称

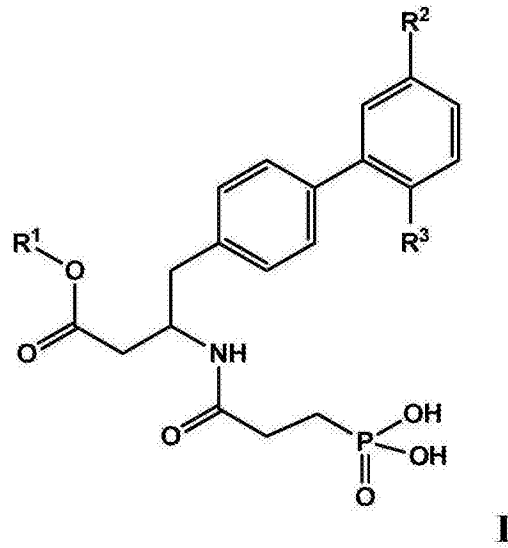
作为NEP(中性内肽酶)抑制剂的取代的联苯丁酰磷酸衍生物

(57) 摘要

本发明提供了式 I 化合物或其可药用盐,其中 R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和 R<sup>3</sup>是说明书所定义的。本发明还涉及用于制备本发明化合物的方法,以及其治疗用途。本发明进一步提供了本发明化合物的药物组合物,以及药理活性剂和本发明化合物的组合。



1. 式 (I) 化合物：



其中：

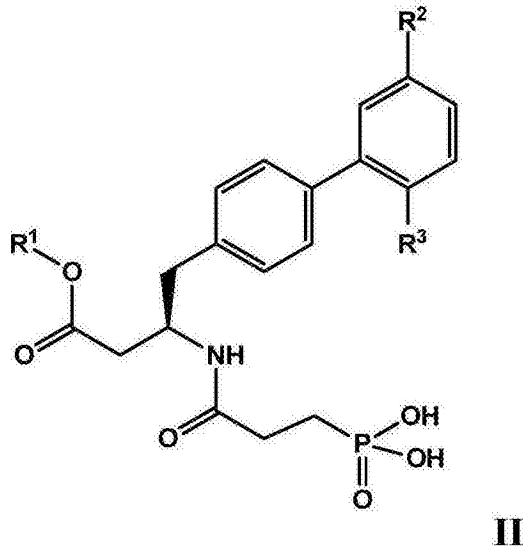
R<sup>1</sup>是 H；-C<sub>1-7</sub>烷基或 C<sub>6-10</sub>芳基；其中烷基任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：-O-C(=O)-O-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(=O)-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(=O)-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(=O)-O-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(=O)-O-C<sub>1-7</sub>烷基、-O-C(=O)-C<sub>1-7</sub>烷基、杂芳基、杂环基、-C(=O)-杂环基、-C(=O)NH<sub>2</sub>、-C(=O)NH-C<sub>1-7</sub>烷基和 -C(=O)N(C<sub>1-7</sub>烷基)<sub>2</sub>；

R<sup>2</sup>是 Cl、CH<sub>3</sub>或 F；

R<sup>3</sup>是 H、F、Cl、CH<sub>3</sub>或 OCH<sub>3</sub>，或

其可药用盐。

2. 根据权利要求 1 的化合物，其具有式 II：



其中：

R<sup>1</sup>是 H；-C<sub>1-7</sub>烷基或 C<sub>6-10</sub>芳基；其中烷基任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：-O-C(=O)-O-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(=O)-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(=O)-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(=O)-O-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(=O)-O-C<sub>1-7</sub>烷基、-O-C(=O)-C<sub>1-7</sub>烷基、杂芳基、杂环基、-C(=O)-杂环基、-C(=O)NH<sub>2</sub>、-C(=O)NH-C<sub>1-7</sub>烷基和 -C(=O)N(C<sub>1-7</sub>烷基)<sub>2</sub>；

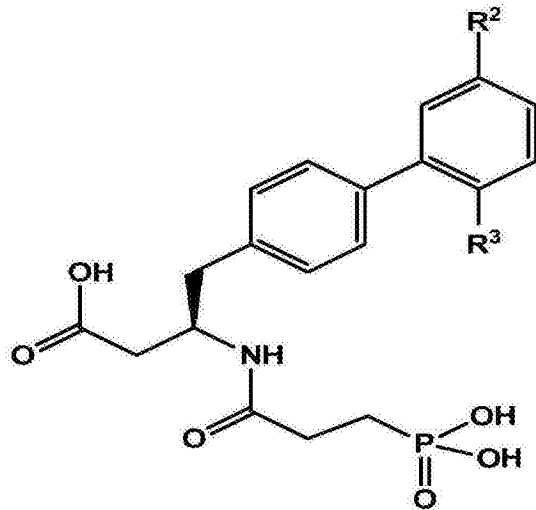
$R^2$ 是 Cl、 $CH_3$ 或 F；

$R^3$ 是 H、F、Cl、 $CH_3$ 或  $OCH_3$ ，或

其可药用盐。

3. 根据权利要求 1 或 2 的化合物，其中  $R^2$ 是 Cl，并且  $R^3$ 是 F；或其可药用盐。

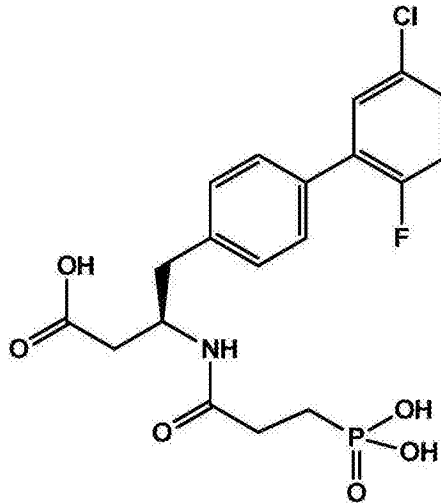
4. 根据权利要求 1、2 或 3 的化合物，其具有式 III：



III;

或其可药用盐。

5. 根据权利要求 1 至 4 任一项的化合物，其具有式 IV：

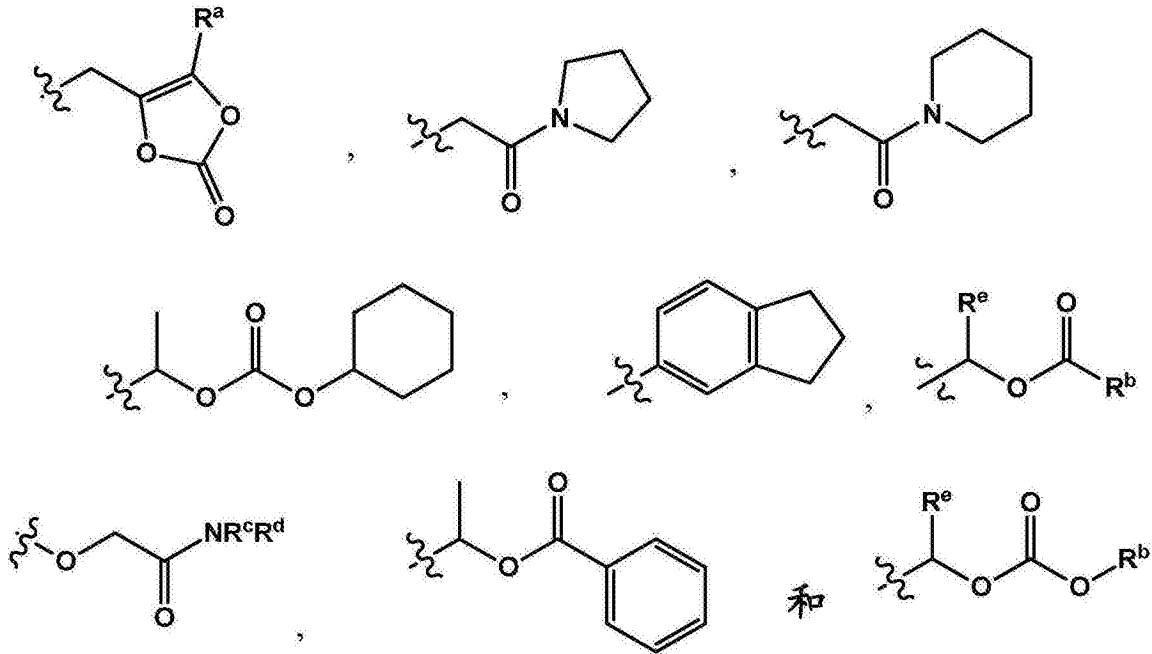


IV;

或其可药用盐。

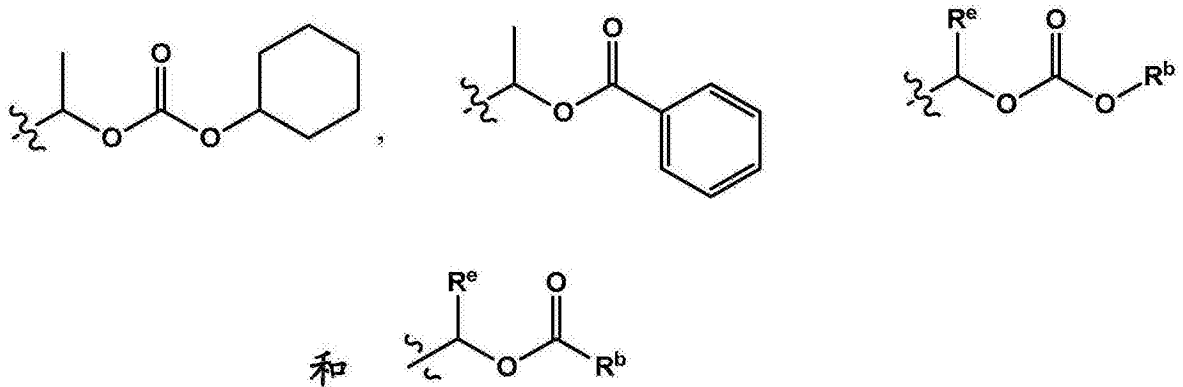
6. 根据权利要求 1、2 或 3 的化合物，其中  $R^1$ 是  $-C_{1-7}$ 烷基或  $C_{6-10}$ 芳基；其中烷基任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代： $-O-C(O)-O-C_{3-7}$ 环烷基、 $-O-C(O)-C_{3-7}$ 环烷基、 $-O-C(O)-C_{6-10}$ 芳基、 $-O-C(O)-O-C_{6-10}$ 芳基、 $-O-C(O)-O-C_{1-7}$ 烷基、 $-O-C(O)-C_{1-7}$ 烷基、杂芳基、杂环基、 $-C(O)-$ 杂环基、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NH-C_{1-7}$ 烷基和  $-C(O)N(C_{1-7}烷基)_2$ ；或其可药用盐。

7. 根据权利要求 1、2 或 3 的化合物，其中  $R^1$ 是  $-C_{1-4}$ 烷基，或  $R^1$ 选自下列基团：



其中  $R^a$ 、 $R^c$ 、 $R^d$  和  $R^e$  独立地选自 H 和  $C_{1-4}$  烷基, 并且  $R^b$  是  $C_{1-4}$  烷基; 或其可药用盐。

8. 根据权利要求 1、2 或 3 的化合物, 其中  $R^1$  是 Me、Et 或选自下式的基团:



其中  $R^e$  是 H 或  $C_{1-4}$  烷基, 并且  $R^b$  是  $C_{1-4}$  烷基; 或其可药用盐。

9. 根据权利要求 1、2 或 3 的化合物, 其中  $R^1$  是 Me、Et 或选自下式的基团:



或其可药用盐。

10. 药物组合物, 该药物组合物包含根据权利要求 1 至 9 任一项的化合物或其可药用盐, 以及一种或多种可药用载体。

11. 组合产品, 其包含: 根据权利要求 1 至 9 任一项的化合物或其可药用盐以及一种或多种选自下列的治疗活性剂: HMG-Co-A 还原酶抑制剂、血管紧张素受体阻断剂、血管紧张素转化酶抑制剂、钙通道阻断剂、内皮素拮抗剂、肾素抑制剂、利尿剂、ApoA-I 模拟物、抗糖尿病剂、减肥剂、醛固酮受体阻断剂、内皮素受体阻断剂、醛固酮合成酶抑制剂、CETP 抑制剂或磷酸二酯酶 5 型 (PDE5) 抑制剂。

12. 在需要的个体中抑制中性内肽酶活性的方法,该方法包括:给个体施用治疗有效量的根据权利要求 1 至 9 任一项的化合物或其可药用盐。

13. 在需要的个体中治疗与中性内肽酶活性相关的障碍或疾病的方法,该方法包括:给个体施用治疗有效量的根据权利要求 1 至 9 任一项的化合物或其可药用盐。

14. 根据权利要求 13 的方法,其中障碍或疾病选自高血压、顽固性高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全、肾衰竭、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、肾病综合征、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、肾血管性高血压、糖尿病性视网膜病变和终末期肾病 (ESRD)、内皮功能障碍、舒张期功能障碍、肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律失常、心房纤维性颤动 (AF)、心脏纤维化、心房扑动、有害的血管重塑、斑块稳定、心肌梗死 (MI)、肾纤维化、多囊肾病 (PKD)、肾衰竭、周期性水肿、Menière 病、醛固酮增多症、高钙尿症、腹水、青光眼、月经障碍、早产难产、先兆子痫、子宫内膜异位症和生殖障碍、哮喘、阻塞性睡眠呼吸暂停、炎症、白血病、疼痛、癫痫、情感障碍、抑郁、精神病性病症、痴呆、老年意识混乱、肥胖、胃肠障碍、创伤愈合、脓毒性休克、胃酸分泌功能障碍、高肾素血症、囊性纤维化、再狭窄、2 型糖尿病、代谢综合征、糖尿病并发症、动脉粥样硬化以及男性和女性的性功能障碍。

15. 根据权利要求 13 或 14 的方法,其中障碍或疾病选自高血压、肺性高血压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、充血性心力衰竭或肺动脉高压。

16. 根据权利要求 1 至 9 任一项的化合物或其可药用盐,其用作药物。

17. 根据权利要求 1 至 9 任一项的化合物或其可药用盐在需要此类治疗的个体中治疗与中性内肽酶活性相关的障碍或疾病中的用途。

18. 权利要求 17 的用途,其中障碍或疾病选自高血压、顽固性高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全、肾衰竭、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、肾病综合征、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、肾血管性高血压、糖尿病性视网膜病变和终末期肾病 (ESRD)、内皮功能障碍、舒张期功能障碍、肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律失常、心房纤维性颤动 (AF)、心脏纤维化、心房扑动、有害的血管重塑、斑块稳定、心肌梗死 (MI)、肾纤维化、多囊肾病 (PKD)、肾衰竭、周期性水肿、Menière 病、醛固酮增多症、高钙尿症、腹水、青光眼、月经障碍、早产难产、先兆子痫、子宫内膜异位症和生殖障碍、哮喘、阻塞性睡眠呼吸暂停、炎症、白血病、疼痛、癫痫、情感障碍、抑郁、精神病性病症、痴呆、老年意识混乱、肥胖、胃肠障碍、创伤愈合、脓毒性休克、胃酸分泌功能障碍、高肾素血症、囊性纤维化、再狭窄、2 型糖尿病、代谢综合征、糖尿病并发症、动脉粥样硬化以及男性和女性的性功能障碍。

19. 权利要求 17 或 18 的用途,其中障碍或疾病选自高血压、肺性高血压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、充血性心力衰竭或肺动脉高压。

## 作为 NEP (中性内肽酶) 抑制剂的取代的联苯丁酰膦酸衍生物

### 发明领域

[0001] 本发明提供了中性内肽酶 (EC 3.4.24.11) (NEP) 抑制剂化合物,其用于抑制外周 NEP 的用途以及使用其治疗疾病的方法。

### [0002] 背景

[0003] 内源性心房钠尿肽 (ANP),也称为心房钠因子 (ANF),具有在哺乳动物中利尿、促尿钠排泄和血管舒张功能。天然的 ANF 肽被代谢灭活,特别是通过已经认识到对应于酶中性内肽酶 EC3.4.24.11 的降解酶,还负责例如脑啡肽的代谢失活。

[0004] 中性内肽酶 (又称 NEP,内肽酶 24.11, EC 3.4.24.11;中性溶媒,脑啡肽酶;atriopeptidase;成纤维细胞金属弹性蛋白酶,肾刷状缘中性肽酶,膜金属肽酶 A, MME g. p. (homo sapiens),常见的急性淋巴细胞白血病抗原 (CALLA) 或 CD 抗原 (CD10)) 是在许多器官和组织,包括脑、肾、肺、胃肠道、心脏和外周脉管中发现的含锌金属蛋白酶。NEP 裂解多种疏水残基的氨基侧链上的肽底物 [参见 Pharmacol Rev, 第 45 卷,第 87 页 (1993)]。用于这种酶的底物包括但不限于心房钠尿肽、脑钠尿肽 (BNP)、蛋氨酸脑啡肽和亮氨酸脑啡肽、缓激肽、神经激肽 A、内皮素-1、血管紧张素、肾上腺髓质素、胰高血糖素样肽、胰高血糖素、胰岛素 B 链、 $\beta$  淀粉样蛋白和 P 物质。其中的一些肽具有潜在的舒血管和神经激素功能,利尿和促尿钠排泄活性或调节行为作用。ANP 是潜在的血管舒张和促尿钠排泄剂 [参见 J Hypertens, 第 19 卷,第 1923 页 (2001)]。对正常个体输注 ANP 会产生可重复的、显著的尿钠增多和利尿,包括钠排泄分数、尿流速率和肾小球滤过率的增加 [参见 J Clin Pharmacol, 第 27 卷,第 927 页 (1987)]。然而,ANP 具有短的循环半衰期,并且肾皮质膜内的 NEP 已显示是负责降解该肽的主要酶 [参见 Peptides, 第 9 卷,第 173 页 (1988)]。因此,中性内肽酶抑制剂应会增加 ANP 的血浆水平,从而有望诱导促尿钠排泄和利尿作用。

[0005] 此外,NEP 酶在血压稳态和心血管健康中发挥重要作用。

[0006] 中性溶媒和其它蛋白酶例如胰岛素降解酶 (IDE)、内皮素转化酶 (ECE) 和 NEP-2 是中枢神经系统 (CNS) 中淀粉样- $\beta$  肽 (A $\beta$ ) 的重要降解酶 (Bart De Strooper 等人,2010, Physiol. Rev. 90:465-494;Nobuhisa Iwata 等人,2001, Science, 第 292 卷,1550-1552, Julie A. Carson 等人,2002, Journal of Neurochemistry. 2002,81,1-8)。CNS A 清除率的降低已被建议与神经变性例如阿尔茨海默氏病的发展相关 (Kwasi G. Mawuenyega 等人,2010, Science, 第 330 卷,1774)。因此,进入关键 CNS 区域的 NEP 抑制剂化合物可以抑制 CNS NEP 并且增加 CNS A $\beta$  肽的水平。

[0007] 虽然药理学上 NEP 对人类 CNS A $\beta$  水平抑制的影响和认知是未知的,并且没有抑制 NEP 将与认知损伤相关的临床适应证,但是 NEP 抑制剂显示出有益的外周抑制作用,具有最小化的 CNS 抑制作用可能是有利的,并且有可能提供更高的安全水平。

### [0008] 发明概述

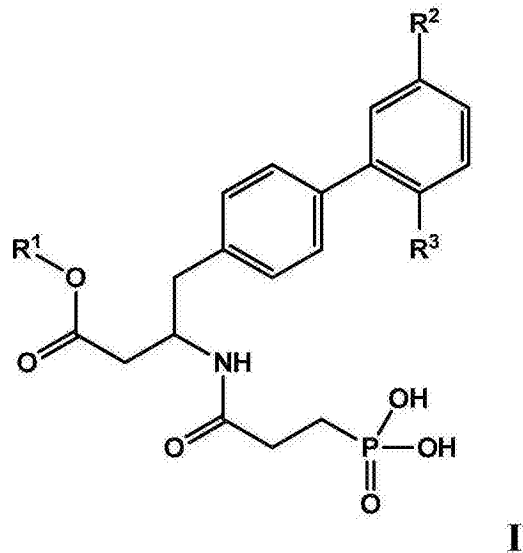
[0009] 本发明的目的是提供具有有益的外周抑制作用和最小化抑制 CNS 作用的新的 NEP 抑制剂化合物。本发明的 NEP 抑制剂具有受限的 CNS 通过,因此,在外周治疗剂量或暴露

范围内不会引起或很少地增加 CNS 内的 A $\beta$  肽浓度。此外,本发明的 NEP 抑制剂化合物与 W02010/136493 的化合物相比不会引起或很少地增加 CNS 内的 A $\beta$  肽浓度。

[0010] 本发明涉及如本文所述的化合物、药物组合物及其使用方法。本发明化合物的实例包括根据式 I 至 IV 中任一种的化合物,或者其可药用盐以及实施例化合物。

[0011] 因此,在实施方案 1 中,本发明提供了式 (I) 化合物:

[0012]



[0013] 其中:

[0014] R<sup>1</sup>是 H; -C<sub>1-7</sub>烷基或 C<sub>6-10</sub>芳基;其中烷基任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代: -O-C(=O)-O-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(=O)-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(=O)-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(=O)-O-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(=O)-O-C<sub>1-7</sub>烷基、-O-C(=O)-C<sub>1-7</sub>烷基、杂芳基、杂环基、-C(=O)-杂环基、-C(=O)NH<sub>2</sub>、-C(=O)NH-C<sub>1-7</sub>烷基和 -C(=O)N(C<sub>1-7</sub>烷基)<sub>2</sub>;

[0015] R<sup>2</sup>是 Cl、CH<sub>3</sub>或 F;

[0016] R<sup>3</sup>是 H、F、Cl、CH<sub>3</sub>或 OCH<sub>3</sub>, 或

[0017] 其可药用盐。

[0018] 本发明化合物通过抑制中性内肽酶,能增强生物活性肽的生物学作用。因此,特别是,该化合物可用于治疗多种障碍,包括高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全(糖尿病性或非糖尿病性)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、肾病综合征、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、肾血管性高血压、糖尿病性视网膜病变和终末期肾病(ESRD)、内皮功能障碍、舒张期功能障碍、肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律失常、心房纤维性颤动(AF)、心脏纤维化、心房扑动、有害的血管重塑、斑块稳定、心肌梗死(MI)、肾纤维化、多囊肾病(PKD)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、周期性水肿、Menière病、醛固酮增多症(原发性和继发性)、高钙尿症和腹水。此外,由于它们能增强 ANP 作用,这些化合物可用于治疗青光眼。作为其抑制中性内肽酶 EC3.4.24.11 能力的进一步结果,本发明化合物在其它治疗领域具有活性,包括例如治疗月经障碍、早产难产(preterm labour)、先兆子痫、子宫内膜异位症和生殖障碍(特别是男性和女性不育、多囊卵巢综合征、植入失败)。另外,本发明化

合物可以治疗哮喘、阻塞性睡眠呼吸暂停、炎症、白血病、疼痛、癫痫、情感障碍例如抑郁和精神病性病征，例如痴呆和老年意识混乱、肥胖和胃肠障碍（特别是腹泻和肠易激惹综合征）、创伤愈合（特别是糖尿病性和静脉溃疡和褥疮）、脓毒性休克、胃酸分泌功能障碍、高肾素血症、囊性纤维化、再狭窄、2 型糖尿病、代谢综合征、糖尿病并发症、动脉粥样硬化以及男性和女性的性功能障碍。

[0019] 在优选的实施方案中，本发明化合物可用于治疗心血管障碍。

[0020] 在另一个实施方案中，本发明涉及在需要此类治疗的个体中治疗对中性内肽酶抑制有响应的障碍或疾病的方法，该方法包括：给个体施用有效量的根据式 I-IV 任一种的化合物或其可药用盐，使得个体中对中性内肽酶抑制有响应的障碍或疾病得到治疗。

[0021] 在另一个实施方案中，本发明涉及药物组合物，其包含根据式 I-IV 任一种的化合物或其可药用盐，以及一种或多种可药用载体。

[0022] 在又一个实施方案中，本发明涉及包含根据式 I-IV 任一种的化合物或其可药用盐的组合产品，以及一种或多种治疗活性剂的药物组合产品。

[0023] 在另一个实施方案中，本发明涉及在需要该治疗的个体中抑制中性内肽酶的方法，该方法包括：给个体施用治疗有效量的根据式 I-IV 任一种的化合物或其可药用盐，使得中性内肽酶被抑制。

[0024] 附图简述：

[0025] 图 1. 显示了实施例 1 的 X-射线粉末衍射图谱。

[0026] 图 2. 显示了实施例 1 的差示扫描量热法 (DSC) 和热重分析 (TGA)。

[0027] 发明详述：

[0028] 定义：

[0029] 为了解释本说明书的目的，将应用下列的定义，除非另有规定，并且在适当的时候，以单数使用的术语也包括复数，反之亦然。

[0030] 本文所用的术语“烷基”是指完全饱和的支链或无支链的（或直链或线性）烃部分，其包含 1 至 7 个碳原子。优选地，烷基包含 1 至 4 个碳原子。烷基的代表性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、正庚基。术语“C<sub>1-7</sub>烷基”是指具有 1 至 7 个碳原子的烃。类似地，术语“C<sub>1-4</sub>烷基”是指具有 1 至 4 个碳原子的烃。

[0031] 术语“芳基”是指在环部分具有 6-10 个碳原子的单环或二环芳族烃基。术语“芳基”还指以下基团，其中芳族环被稠合到环烷基环，其中连接基团在芳族环上或在稠合的环烷基环上。芳基的代表性实例是苯基、萘基、六氢吡啶基、茚满基或四氢萘基。术语“C<sub>6-10</sub>芳基”是指在环部分具有 6 至 10 个碳原子的芳族烃基团。术语芳基是指取代和未取代的芳基。取代基的实例是卤素、C<sub>1-7</sub>烷基、卤代-C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>1-7</sub>烷氧基。

[0032] 本文所用的术语“环烷基”是指具有 3-12 个碳原子、优选 3-8 或 3-7 个碳原子的饱和或不饱和但非芳族的单环、二环或三环烃基。对于二环和三环环烷基系统，所有的环都是非芳族的。示例性的单环烃基包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基，环己基和环己烯。示例性的二环烃基包括冰片基、十氢萘基、二环 [2.1.1] 己基、二环 [2.2.1] 庚基、二环 [2.2.1] 庚烯基、二环 [2.2.2] 辛基。示例性的三环烃基包括金刚烷基。术语“C<sub>3-7</sub>环烷基”是指具有 3 至 7 个碳原子的环状烃基。

[0033] 本文所用的术语“烷氧基”是指烷基-O-, 其中烷基如上文所定义。烷氧基的代表性实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、2-丙氧基、丁氧基、叔丁氧基、戊基氧基、己基氧基、环丙基氧基-、环己基氧基-等。优选地, 烷氧基具有约 1-6、更优选约 1-4 个碳。术语“C<sub>1-7</sub>烷氧基”是指具有 1 至 7 个碳原子的烷氧基。

[0034] 术语“杂芳基”包括单环或二环杂芳基, 含有选自碳原子和 1 至 5 个杂原子的 5-10 个环成员, 并且每个杂原子独立地选自 O、N 或 S, 其中 S 和 N 可以被氧化成多种氧化态。对于二环杂芳基系统, 该系统是全芳族的(即所有的环都是芳族的)。术语杂芳基是指取代和未取代的杂芳基。取代基的实例是卤素、C<sub>1-7</sub>烷基、卤代-C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>1-7</sub>烷氧基。

[0035] 本文所用的术语“杂环基”或“杂环”是指任选取代的饱和或不饱和的非芳族(部分不饱和的)环, 其是 4-、5-、6- 或 7- 元单环, 并且含有至少一个选自 O、S 和 N 的杂原子, 其中 N 和 S 还可以任选被氧化为多种氧化态。对于二环和三环杂环基环系, 非芳族环系被定义为非完全或部分不饱和的环系。因此, 二环和三环杂环基环系可以包括杂环基环系, 其中稠环中的一个为芳族的, 但其它的是非芳族的。在一个实施方案中, 杂环基部分代表饱和的单环, 含有 5-7 个环原子并且任选含有另外的选自 O、S 或 N 的杂原子。该杂环基团可以在杂原子或碳原子上连接。该杂环基可以包括稠环或桥环以及螺环。杂环的实例包括二氢呋喃基、二氧戊环基、二噁烷基、二硫杂环己基、哌嗪基、吡咯烷、二氢吡喃基、氧杂硫杂环戊烷基、二硫戊环、氧杂硫杂环己基、硫代吗啉代、环氧乙烷基、氮丙啶基、氧杂环丁烷基、氧杂环庚烷基、氮杂环丁烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、四氢吡喃基、哌啶基、吗啉代、哌嗪基、氮杂萘基、氧杂萘基、氧杂氮杂环庚烷基、氧杂硫杂环己基、硫杂环庚烷基、氮杂环庚烷基、二氧杂环庚烷基和二氮杂环庚烷基。术语杂环基是指取代和未取代的杂环基。杂环基上取代基的实例是卤素、C<sub>1-7</sub>烷基、卤代-C<sub>1-7</sub>烷基, C<sub>1-7</sub>烷氧基或氧代。

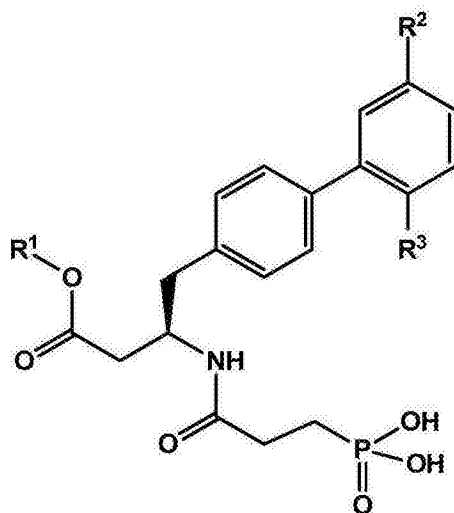
[0036] 术语“杂原子”包括除碳或氢以外的任何元素的原子。优选的杂原子是氮、氧、硫和磷。在另一个实施方案中, 杂原子是氮、氧或硫。

[0037] 本发明化合物:

[0038] 本文描述了本发明的多种实施方案。应当认识到, 每个实施方案中所述的特征可以与其它描述的特征组合, 以提供进一步的实施方案。

[0039] 在实施方案 2 中, 某些式 I 化合物具有 (R) 立体化学, 并且用式 II 化合物表示:

[0040]



II

[0041] 其中：

[0042] R<sup>1</sup>是 H；-C<sub>1-7</sub>烷基或 C<sub>6-10</sub>芳基；其中烷基任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：-O-C(O)-O-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(O)-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(O)-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(O)-O-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(O)-O-C<sub>1-7</sub>烷基、-O-C(O)-C<sub>1-7</sub>烷基、杂芳基、杂环基、-C(O)-杂环基、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NH-C<sub>1-7</sub>烷基和 -C(O)N(C<sub>1-7</sub>烷基)<sub>2</sub>；

[0043] R<sup>2</sup>是 Cl、CH<sub>3</sub>或 F；

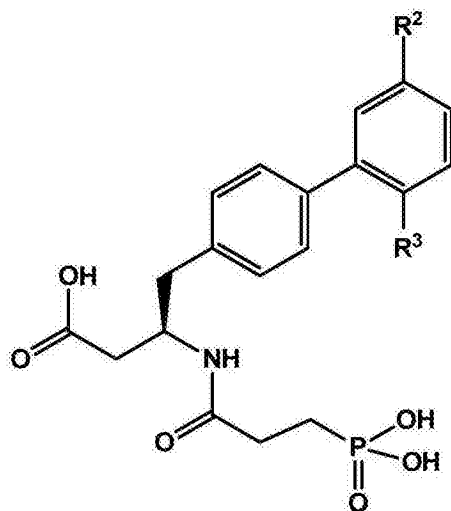
[0044] R<sup>3</sup>是 H、F、Cl、CH<sub>3</sub>或 OCH<sub>3</sub>，或

[0045] 其可药用盐。

[0046] 在实施方案 3 中，本发明涉及根据实施方案 1 或 2 的化合物，其中 R<sup>2</sup>是 Cl 并且 R<sup>3</sup>是 F；或其可药用盐。

[0047] 在实施方案 4 中，本发明涉及实施方案 1、2 或 3 的化合物，具有式 III：

[0048]

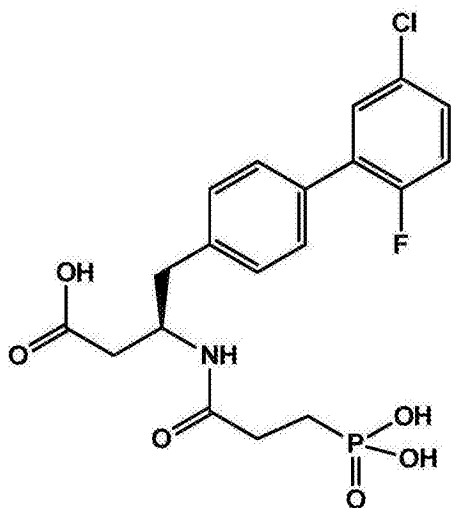


III;

[0049] 或其可药用盐。

[0050] 在实施方案 5 中，本发明涉及根据实施方案 1 至 4 任一个的化合物，具有式 IV：

[0051]



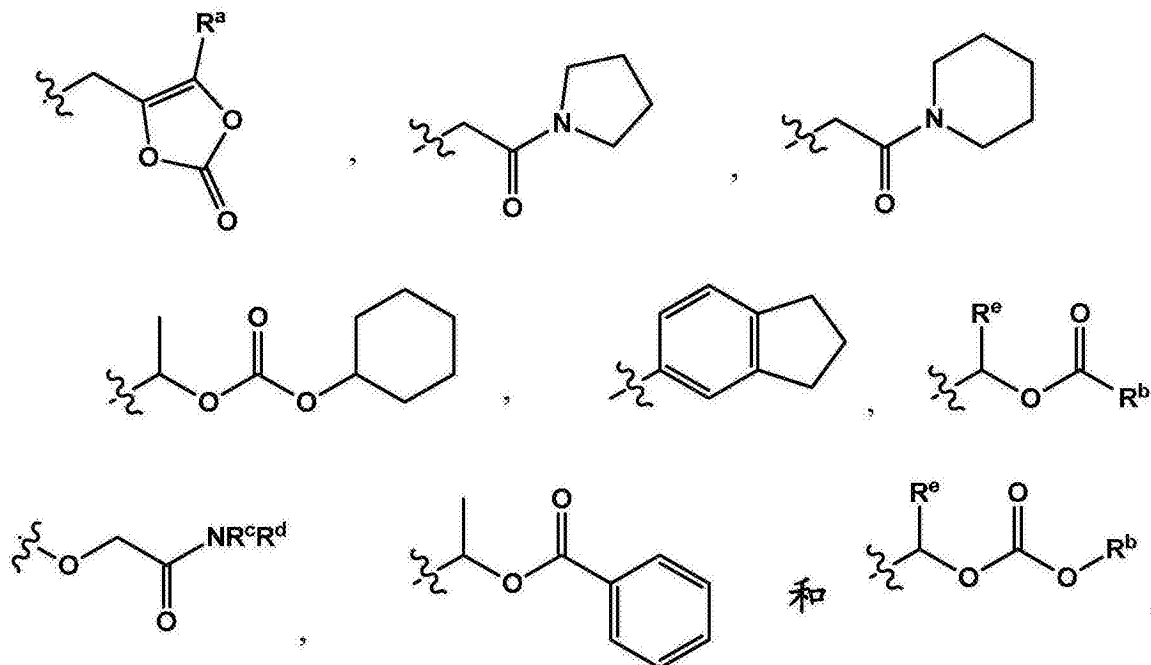
IV;

[0052] 或其可药用盐。

[0053] 在实施方案 6 中,本发明涉及式 III 或 IV 化合物的前药,即根据实施方案 1、2 或 3 的式 I 或 II 化合物,其中 R<sup>1</sup>是 -C<sub>1-7</sub>烷基或 C<sub>6-10</sub>芳基;其中烷基任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代:-O-C(O)-O-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(O)-C<sub>3-7</sub>环烷基、-O-C(O)-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(O)-O-C<sub>6-10</sub>芳基、-O-C(O)-O-C<sub>1-7</sub>烷基、-O-C(O)-C<sub>1-7</sub>烷基、杂芳基、杂环基、-C(O)-杂环基、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NH-C<sub>1-7</sub>烷基和 -C(O)N(C<sub>1-7</sub>烷基)<sub>2</sub>;或其可药用盐。

[0054] 在实施方案 7 中,本发明涉及式 III 或 IV 化合物的前药,即根据实施方案 1、2 或 3 的式 I 或 II 化合物,其中 R<sup>1</sup>是 C<sub>1-4</sub>烷基或选自下式:

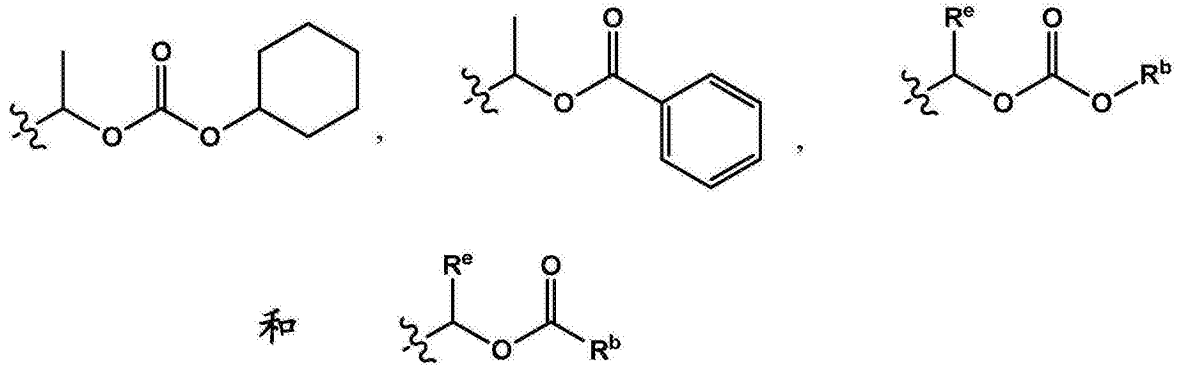
[0055]



[0056] 其中 R<sup>a</sup>、R<sup>c</sup>、R<sup>d</sup>和 R<sup>e</sup>独立地选自 H 或 C<sub>1-4</sub>烷基,并且 R<sup>b</sup>是 C<sub>1-4</sub>烷基;或其可药用盐。

[0057] 在实施方案 8 中,本发明涉及式 III 或 IV 化合物的前药,即根据实施方案 1、2 或 3 的式 I 或 II 化合物,其中 R<sup>1</sup>是 Me、Et 或选自下式:

[0058]



[0059] 其中  $R^a$  是 H 或  $C_{1-4}$  烷基, 并且  $R^b$  是  $C_{1-4}$  烷基; 或其可药用盐。

[0060] 在实施方案 9 中, 本发明涉及式 III 或 IV 化合物的前药, 即根据实施方案 1、2 或 3 的式 I 或 II 化合物, 其中  $R^1$  是 Me、Et 或选自下式:

[0061]



[0062] 或其可药用盐。

[0063] 在另一个实施方案中, 根据本发明的个体化合物是列于下面实施例部分的那些或其可药用盐。

[0064] 在实施方案 10 中, 本发明是实施例 1 的结晶形式 A。

[0065] 在实施方案 11 中, 本发明是实施例 1 的结晶游离酸形式 A, 其特征在于 X-射线粉末衍射图包含 4 个或更多个  $2\theta$  值 ( $CuK\alpha \lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ), 选自  $16.5 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.5 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.8 \pm 0.2^\circ$ 、 $18.7 \pm 0.2^\circ$ 、 $20.2 \pm 0.2^\circ$ 、 $20.7 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.7 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.9 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.6 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.0 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.5 \pm 0.2^\circ$  和  $27.4 \pm 0.2^\circ$ , 在约  $22^\circ\text{C}$  的温度测定, 并且 X-射线的波长  $\lambda$  为  $1.5418 \text{ \AA}$ 。

[0066] 在实施方案 12 中, 本发明是实施例 1 的结晶游离酸形式 A, 其特征在于 X-射线粉末衍射图包含 4 个或更多个  $2\theta$  值 ( $CuK\alpha \lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ), 选自  $16.5 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.5 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.8 \pm 0.2^\circ$ 、 $18.7 \pm 0.2^\circ$ 、 $20.2 \pm 0.2^\circ$ 、 $20.7 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.7 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.9 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.6 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.0 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.5 \pm 0.2^\circ$  和  $27.4 \pm 0.2^\circ$ , 在约  $22^\circ\text{C}$  的温度测定, 并且 X-射线的波长  $\lambda$  为  $1.5418 \text{ \AA}$ 。

[0067] 在实施方案 13, 本发明是实施例 1 的结晶游离酸形式 A, 其 X-射线粉末衍射图与图 1 所示的 X-射线粉末衍射图基本上相同。

[0068] 术语“基本上相同”参照 X-射线衍射峰位置, 表示典型的峰位置和强度的变异性都考虑在内。例如, 本领域的技术人员将理解的是, 峰位置 ( $2\theta$ ) 会显示一些装置间变异性, 典型地高达  $0.2^\circ$ 。偶尔, 变异性可能高于  $0.2^\circ$ , 这取决于装置校准的差异。此外, 本领域技术人员将理解的是, 相对峰强度将显示装置间变异性以及由于结晶度、优选的取向、制备的样品表面和其它本领域技术人员已知的因素的变异性, 并且应该仅作为定性测量。

[0069] 在实施方案 14, 本发明是实施例 1 的结晶游离酸形式 A, 其差示扫描量热 (DSC) 热分析图与图 2 所示的基本上相同。

[0070] 在实施方案 15 中, 本发明是实施例 1 的结晶游离酸形式 A, 其热重分析 (TGA) 图与图 2 所示的基本上相同。

[0071] 应当指出的是, 本发明化合物的某些结构包含不对称的碳原子。因此, 应当理解的是, 由这种不对称产生的异构体 (例如所有对映异构体和非对映异构体) 都包括在本发明的范围之内, 除非另有说明。这些异构体可以通过经典分离技术和通过立体化学控制的合成来获得基本上纯的形式。此外, 在本申请中讨论的结构和其它化合物和部分也包括其所有的互变异构体。

[0072] 本文所用的术语“异构体”指具有相同分子式但是在原子的排列和构型上有差异的不同化合物。另外, 本文所用的术语“旋光异构体”或“立体异构体”指本发明给定化合物可能存在的多种立体异构构型的任一种, 并且包括几何异构体。应当理解的是, 取代基可以连接在碳原子的手性中心。因此, 本发明包括化合物的对映异构体、非对映异构体或外消旋体。“对映异构体”是彼此为非相互重叠的镜像的立体异构体对。对映异构体对的 1:1 混合物是“外消旋”混合物。适当时, 该术语用于指定外消旋混合物。“非对映异构体”和“非对映体”可以互换使用并且是具有至少两个不对称原子但不互为镜像的立体异构体。根据 Cahn-Ingold-Prelog R-S 系统指定绝对立体化学。当化合物是纯对映异构体时, 可以通过 R 或 S 来指定每个手性碳的立体化学。绝对构型未知的被拆分的化合物可以被标明为 (+) 或 (-), 这取决于它们在钠 D 线的波长处使平面偏振光旋转的方向 (右旋或左旋)。一些本文描述的化合物含有一个或多个不对称中心或轴, 从而可能产生对映异构体、非对映异构体和其它就绝对立体化学而言可被定义为 (R)- 或 (S)- 的立体异构形式。本发明旨在包括所有可能的异构体, 包括外消旋混合物、旋光纯形式和中间体混合物。旋光活性 (R)- 和 (S)- 异构体可以使用手性合成子或手性试剂制备, 或使用传统技术拆分。如果该化合物含有双键, 则取代基可以为 E 或 Z 构型。如果化合物含有双取代的环烷基, 则该环烷基取代基可以具有顺式或反式构型。还意欲包括所有互变异构形式。

[0073] 本发明化合物的任何不对称原子 (例如碳等) 可以以外消旋的或对映异构体富集的形式、例如以 (R)-、(S)- 或 (R, S)- 构型存在。在一些实施方案中, 在 (R)- 或 (S)- 构型中不对称原子各自具有至少 50% 对映异构过量、至少 60% 对映异构过量、至少 70% 对映异构过量、至少 80% 对映异构过量、至少 90% 对映异构过量、至少 95% 对映异构过量或至少 99% 对映异构过量。如果可能的话, 在具有不饱和键的原子处的取代基可以以顺式-(Z)- 或反式-(E)- 形式存在。

[0074] 因此, 如本文所用的本发明的化合物可以是可能的异构体、旋转异构体、阻转异构体、互变异构体之一或其混合物的形式, 例如作为基本上纯的几何 (顺式或反式) 异构体、非对映异构体、旋光异构体 (对映体)、外消旋体或其混合物。

[0075] 可以根据组分的物理化学差异、例如通过色谱法和 / 或分级结晶将任意的所得异构体混合物分离为纯的或基本上纯的几何或旋光异构体、非对映异构体、外消旋体。

[0076] 可以通过已知方法将任意的所得终产物或中间体的外消旋体拆分为旋光对映体, 例如通过分离用具有旋光活性的酸或碱得到的其非对映异构的盐并且释放具有旋光活性的酸性或碱性化合物来进行。特别是碱性部分可以由此用于将本发明的化合物拆分为其旋

光对映体,例如通过将用具有旋光活性的酸所形成的盐进行分级结晶而进行拆分,所述的具有旋光活性的酸例如酒石酸、二苯甲酰基酒石酸、二乙酰基酒石酸、二-0,0'-对甲苯酰基酒石酸、扁桃酸、苹果酸或樟脑-10-磺酸。还可以通过手性色谱法、例如使用手性吸附剂进行的高压液相色谱法(HPLC)来拆分外消旋产物。

[0077] 本文所用的术语“可药用盐”指保留本发明的化合物的生物学有效性和性能并且通常不是生物学或其它方面不希望的盐。在很多情况下,本发明的化合物由于存在氨基和/或羧基或与其类似的基团而能够形成酸和/或碱盐。

[0078] 可以与无机酸和有机酸形成可药用的酸加成盐,例如乙酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、溴化物/氢溴酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、樟脑磺酸盐、氯化物/盐酸盐、氯茶碱盐(chlorotheophyllonate)、柠檬酸盐、乙二磺酸盐(ethandisulfonate)、富马酸盐、葡庚酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、马尿酸盐、氢碘酸盐/碘化物、羟乙磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、十二烷基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、萘甲酸盐、萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、十八烷酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、聚半乳糖醛酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和三氟乙酸盐。

[0079] 可以由其衍生盐的无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。

[0080] 可以由其衍生盐的有机酸包括例如乙酸、丙酸、乙醇酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、磺基水杨酸等。可药用碱加成盐可以与无机碱和有机碱形成。

[0081] 可由其衍生盐的无机碱包括例如铵盐以及周期表 I 至 XII 的金属。在一些实施方案中,盐衍生自钠、钾、铵、钙、镁、铁、银、锌和铜,特别适合的盐包括铵、钾、钠、钙和镁盐。

[0082] 可由其衍生盐的有机碱包括例如伯胺、仲胺和叔胺、取代的胺包括天然存在的取代的胺、环胺、碱性离子交换树脂等。一些有机胺包括异丙胺、二苄乙二胺(benzathine)、胆碱盐、二乙醇胺、二乙胺、赖氨酸、葡甲胺、哌嗪和氨丁三醇。

[0083] 本发明的可药用盐可以通过常规化学方法由母体化合物、碱性或酸性部分合成。通常,这类盐可以如下制备:使这些化合物的游离酸形式与化学计算量的适当的碱(例如 Na、Ca、Mg 或 K 的氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等)反应,或者使这些化合物的游离碱形式与化学计算量的适当的酸反应。这类反应通常在水或有机溶剂或两者的混合物中进行。通常,在可行的情况下,使用非水介质例如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈是可取的。另外适合的盐的列表可见于例如“Remington's Pharmaceutical Sciences”,第 20 版, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1985); 和 Stahl 和 Wermuth 的“Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use”(Wiley-VCH, Weinheim, 德国, 2002)。

[0084] 本文给出的任意结构式还旨在表示该化合物的未标记形式以及同位素标记形式。例如,在本文任何结构式中由“H”表示的任何氢旨在表示氢的所有同位素形式(如  $^1\text{H}$ 、 $^2\text{H}$  或  $\text{D}$ 、 $^3\text{H}$ ); 本文任何结构式中由“C”表示的任何碳旨在表示碳的所有同位素形式(例如  $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ ); 任何用“N”表示的氮旨在表示氮的所有同位素形式(例如  $^{14}\text{N}$ 、 $^{15}\text{N}$ )。包括在本发明中的同位素的其它实例包括氧、硫、磷、氟、碘和氯的同位素,例如  $^{18}\text{F}$ 、 $^{31}\text{P}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{36}\text{Cl}$ 、 $^{125}\text{I}$ 。本发明包括本文定义的多种同位素标记的化合物,例如其中存在放射性同位素例如  $^3\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$  和

$^{14}\text{C}$  的那些。在一个实施方案中,本文结构式中的原子以其天然丰度存在。在另一个实施方案中,一个或多个氢原子可以富含  $^2\text{H}$ ;或 / 和一个或多个碳原子可以富含  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  或  $^{14}\text{C}$ ;或 / 和一个或多个氮可以富含  $^{14}\text{N}$ 。这类同位素标记的化合物可用于代谢研究(用  $^{14}\text{C}$ )、反应动力学研究(用例如  $^2\text{H}$  或  $^3\text{H}$ )、检测或成像技术(例如正电子放射断层造影术(PET)或单光子放射计算机断层成像术(SPECT),包括药物或底物组织分布测定)或用于患者的放射性治疗中。特别是, $^{18}\text{F}$  或标记的化合物对于 PET 或 SPECT 研究可以是特别理想的。同位素标记的本发明的化合物及其前药通常可以通过执行下述流程或实施例和制备例中所公开的方法、通过用容易获得的同位素标记试剂代替非同位素标记试剂而制备。

[0085] 而且,用较重同位素、特别是氘(即  $^2\text{H}$  或 D) 富集可以提供一些治疗优势,这是由于更高的代谢稳定性所致,例如体内半衰期增加或剂量需求减少或治疗指数改善。应当理解的是,上下文中的氘被视为式 I 至 IV 化合物的取代基。该较重同位素、特别是氘的浓度可以通过同位素富集因子来定义。本文所用的术语“同位素富集因子”表示指定同位素的同位素丰度与天然丰度之间的比值。如果本发明化合物中的取代基是指定的氘,则该化合物对各指定氘原子而言具有的同位素富集因子为至少 3500(在各指定氘原子上 52.5% 氘掺入)、至少 4000(60% 氘掺入)、至少 4500(67.5% 氘掺入)、至少 5000(75% 氘掺入)、至少 5500(82.5% 氘掺入)、至少 6000(90% 氘掺入)、至少 6333.3(95% 氘掺入)、至少 6466.7(97% 氘掺入)、至少 6600(99% 氘掺入)或至少 6633.3(99.5% 氘掺入)。

[0086] 同位素富集的式 I 至 IV 化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术或者通过与所附实施例和制备例类似的方法、采用适当的同位素富集的试剂代替之前使用的未富集的试剂来制备。

[0087] 本发明的可药用溶剂化物包括其中结晶溶剂可以被同位素取代的那些,例如  $\text{D}_2\text{O}$ 、 $\text{d}_6$ -丙酮、 $\text{d}_6$ -DMSO。

[0088] 含有能够作为氢键供体和 / 或受体的基团的本发明化合物、即式 I 至 IV 化合物能够与适合的共结晶形成剂形成共结晶。这些共结晶可以由式 I 至 IV 化合物通过已知的共结晶形成方法来制备。这类方法包括研磨、加热、共升华、共熔融或在溶液中在结晶条件下使式 (I) 化合物与共结晶形成剂接触并且分离由此形成的共结晶。适合的共结晶形成剂包括 WO 2004/078163 中所述的那些。因此,本发明进一步提供了包含式 I 至 IV 化合物或其可药用盐的共结晶。

[0089] 本文所用的术语“可药用载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣剂、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(例如抗细菌剂、抗真菌剂)、等张剂、吸收延迟剂、盐、防腐剂、药物、药物稳定剂、粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、甜味剂、矫味剂、染料等及其组合,如本领域普通技术人员已知的(例如参见:Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 18 版, Mack Printing Company, 1990, 第 1289-1329 页)。除了在任何常规载体与活性成分不相容的情况下,可关注其治疗性或药物组合物中的用途。

[0090] 术语本发明的化合物的“治疗有效量”指将引起个体的生物学或医学响应、例如降低或抑制酶或蛋白质活性或者改善症状、减轻病症、减慢或延缓疾病进程或者预防疾病等的本发明的化合物的量。在一个非限制性的实施方案中,术语“治疗有效量”指如下定义的本发明的化合物的量:当施用于个体时,可有效地:(1) 至少部分减轻、抑制、阻止和 / 或改善病症、障碍或疾病或其症状,所述的病症、障碍或疾病或其症状 (i) 通过抑制中性内肽酶

改善,或(ii)与中性内肽酶活性相关,或(iii)特征在于中性内肽酶活性异常;或(2)降低或抑制中性内肽酶的活性;或(3)降低或抑制中性内肽酶的表达。在另外的非限制性的实施方案中,术语“治疗有效量”指如下定义的本发明的化合物的量:当施用于细胞或组织或非细胞生物材料或介质时,可有效地至少部分降低或抑制中性内肽酶的活性;或至少部分降低或抑制中性内肽酶的表达。

[0091] 本文所用的术语“个体”指动物。通常,动物是哺乳动物。个体还指例如灵长类动物(例如人)、牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠、小鼠、鱼、鸟等。在一些实施方案中,个体是灵长类动物。在另外的实施方案中,个体是人。

[0092] 本文所用的术语“抑制”指减轻或抑制所指定的病症、症状或者障碍或疾病,或者生物学活性或过程的基线活性显著下降。

[0093] 在一个实施方案中,本文所用的术语任意疾病或障碍的“治疗”指改善疾病或障碍(即减缓或停止或减轻疾病或其临床症状中的至少一种的发展)。在另外的实施方案中,“治疗”指缓解或改善至少一种身体参数、包括不能被患者辨别的那些。在另外的实施方案中,“治疗”指调节身体方面(例如稳定可辨别的症状)或生理方面(例如稳定身体参数)或此两个方面的疾病或障碍。在另外的实施方案中,“治疗”指阻止或延缓疾病或障碍的发作或发展或进程。

[0094] 如本文所用的那样,如果个体将在生物学上、医学上或生活质量上受益于这类治疗,则该个体“需要”该治疗。

[0095] 如本文所用的那样,本发明的上下文(特别是权利要求的上下文)中所用的术语“一个”、“一种”、“该”和类似术语被视为覆盖单数和复数,本文另有指示或上下文清楚地矛盾除外。

[0096] 本文所述的所有方法可以以任意适宜的顺序进行,本文另有指示或上下文清楚地矛盾除外。本文提供的任何和所有实例或示例性语言(例如“例如”)的使用仅意欲更好地说明本发明,而不是对另外要求保护的本发明的范围构成限定。

[0097] 本发明化合物可以以游离形式、作为其盐或作为其前药衍生物获得。

[0098] 当碱性基团和酸性基团都存在于同一分子中时,本发明化合物还可以形成内盐,例如两性分子。

[0099] 本发明还提供了本发明化合物的前药,其在体内转化为本发明化合物。前药是在将前药施用于个体后通过体内生理作用例如水解、代谢等被化学修饰为本发明化合物的有活性或无活性的化合物。涉及制备和使用前药的适宜性和技术是本领域技术人员熟知的。前药可以在概念上被分成非专有的两类:生物前体前药和载体前药。参见The Practice of Medicinal Chemistry,第31-32章(Wermuth编辑,Academic Press,圣地亚哥,加利福尼亚州,2001)。通常,生物前体前药是无活性或者与相应的活性药物化合物相比具有低活性的化合物,其含有一个或多个保护基并且通过代谢或溶剂解被转化为活性形式。活性药物形式和任何被释放的代谢产物均应具有可接受的低毒性。载体前药是含有例如改善摄取和/或定位递送到作用部位的转运部分的药物化合物。期望的是,对于这类载体前药,药物部分与转运部分之间的连接是共价键,前药是无活性的或者比药物化合物的活性低,并且任何所释放的转运部分是可接受地无毒的。对于其中转运部分用于促进摄取的前药而言,通常转运部分的释放应该是迅速的。在其它情况下,希望采用可提供缓慢释放的部分,例如某

些聚合物或其它部分例如环糊精。载体前药可以例如用于改善一种或多种以下性质：增加亲脂性、增加药理作用的持续时间、增加部位特异性、降低毒性和不良反应和 / 或改善药物配制性（例如稳定性、水溶性、抑制不希望的感官或生理化学性质）。例如，可以通过 (a) 羟基与亲脂性羧酸（例如具有至少一个亲脂部分的羧酸）的酯化或者 (b) 羧酸基团与亲脂性醇（例如具有至少一个亲脂部分的醇，例如脂肪族醇）的酯化来增加亲脂性。

[0100] 示例性的前药例如游离羧酸的酯以及硫醇的 S- 酰基衍生物和醇或酚的 O- 酰基衍生物，其中酰基具有如本文定义的含义。适合的前药通常是可在生理条件下通过溶剂解而转化为母体羧酸的可药用的酯衍生物，例如低级烷基酯、环烷基酯、低级链烯基酯、苄基酯、单或二取代的低级烷基酯，例如  $\omega$ -（氨基、单或二 - 低级烷基氨基、羧基、低级烷氧基羰基）- 低级烷基酯、 $\alpha$ -（低级烷酰基氧基、低级烷氧基羰基或二 - 低级烷基氨基羰基）- 低级烷基酯例如新戊酰基氧基甲基酯等，它们是本领域中常规使用的。此外，胺已经被掩蔽为芳基羰基氧基甲基取代的衍生物，其在体内被酯酶裂解，释放出游离药物和甲醛 (Bundgaard, J. Med. Chem. 2503(1989))。而且，含有酸性 NH 基团例如咪唑、二酰亚胺、吡啶等的药物已经被 N- 酰基氧基甲基所掩蔽 (Bundgaard, Design of Prodrugs, Elsevier(1985))。羟基已经被掩蔽为酯和醚。EP 039, 051 (Sloan 和 Little) 公开了曼尼西碱异羟肟酸前药、它们的制备和用途。

[0101] 此外，本发明化合物，包括它们的盐，也可以以它们的水合物的形式获得，或者包括用于它们的结晶的其它溶剂。

[0102] 通用合成方案：

[0103] 本发明化合物可以使用下列流程图、实施例中描述的方法，以及通过使用本领域已知的技术合成。本文描述的所有化合物都包括在本发明中作为化合物。本发明化合物可以根据下列流程图中描述的至少一种方法合成。

[0104] 在本文的范围内，只有这样的基团才称为“保护基”：其可容易地除去，并且不是本发明化合物的特别预期终产物的组成，上下文另有说明除外。由这类保护基保护官能团、保护基本身及其裂解反应例如在标准参考著作中有描述，这些著作例如有：J. F. W. McOmie, “Protective Groups in Organic Chemistry”, Plenum Press, 伦敦和纽约 1973 ; T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts, “Protective Groups in Organic Synthesis”, 第 3 版, Wiley, 纽约 1999。

[0105] 具有至少一个成盐基团的本发明化合物的盐可以以本身已知的方法来制备。例如，具有酸性基团的本发明化合物的盐可以例如通过如下方法而形成：将化合物用金属化合物、例如适合的有机羧酸的碱金属盐例如 2- 乙基己酸的钠盐、用有机碱金属或碱土金属化合物、例如相应的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐例如氢氧化钠或钾、碳酸钠或钾或者碳酸氢钠或钾、用相应的钙化合物或者用氨或适合的有机胺进行处理，优选使用化学计算量或仅略微过量的成盐剂。本发明化合物的酸加成盐以常规方法、例如通过将化合物用酸或适合的阴离子交换试剂进行处理而得到。含有酸性和碱性成盐基团、例如游离羧基和游离氨基的本发明化合物的内盐可以例如通过将盐例如酸加成盐例如用弱碱中和至等电点或者通过用离子交换剂进行处理而形成。

[0106] 盐可以以常规方法转化为游离化合物；金属和铵盐可以例如通过用适合的酸处理而转化，并且酸加成盐例如通过用适合的碱性试剂处理而转化。

[0107] 可根据本发明得到的异构体的混合物可以以本身已知的方式被分离成单独的异构体；非对映异构体可以例如通过多相溶剂混合物之间分配、重结晶和 / 或色谱分离、例如经硅胶或通过例如中压液相色谱法经反相柱进行分离，并且外消旋体可以例如通过与旋光纯的成盐试剂形成盐以及分离可如此得到的非对映异构体的混合物、例如通过分级结晶或通过色谱法经旋光活性的柱材料进行分离。

[0108] 可以按照标准方法、例如使用色谱法、分配法、(重)结晶等将中间体和终产物进行后处理和 / 或纯化。

[0109] 以下内容通常应用于上下文所提到的所有方法。

[0110] 所有以上提到的方法步骤可以在如下条件下进行：在本身已知的反应条件、包括具体提到的那些条件下，在没有或通常有溶剂或稀释剂、例如包括对所用试剂惰性并且使其溶解的溶剂或稀释剂的存在下，在有或无催化剂、缩合剂或中和剂、例如离子交换剂、例如阳离子交换剂例如 H 形式的阳离子交换剂的存在下，这取决于反应和 / 或反应物的性质，于降低温度、常温或升高温度，例如在约 -100℃ 至约 190℃、例如包括约 -80℃ 至约 150℃ 的温度范围内，例如于 -80 至 -60℃、于室温、于 -20 至 40℃ 或在回流温度，在大气压下或在封闭容器中，适合时在压力下，和 / 或在惰性气氛中、例如在氩气或氮气气氛下。

[0111] 在反应的所有阶段，所形成的异构体的混合物可以被分离成单独的异构体、例如非对映异构体或对映异构体，或者被分离成异构体的任意预期混合物、例如外消旋体或非对映异构体混合物，例如类似于“另外方法步骤”中所述的方法。

[0112] 可以从中选择适于任意特定反应的那些溶剂的溶剂包括具体提到的那些，或者例如水；酯，例如低级链烷酸低级烷基酯，例如乙酸乙酯；醚，例如脂肪族醚例如乙醚或者环状醚例如四氢呋喃或二噁烷；液体芳族烃，例如苯或甲苯；醇，例如甲醇、乙醇或者 1- 或 2- 丙醇；腈，例如乙腈；卤代烃，例如二氯甲烷或氯仿；酰胺，例如二甲基甲酰胺或二甲基乙酰胺；碱，例如杂环氮碱，例如吡啶或 N- 甲基吡咯烷-2- 酮；羧酸酐，例如低级链烷酸酐，例如乙酸酐；环状、直链或支链烃，例如环己烷、己烷或异戊烷、甲基环己烷；或者那些溶剂的混合物，例如水性溶液，在方法描述中另有说明除外。这类溶剂混合物还可用于后处理、例如通过色谱法或分配进行的后处理。

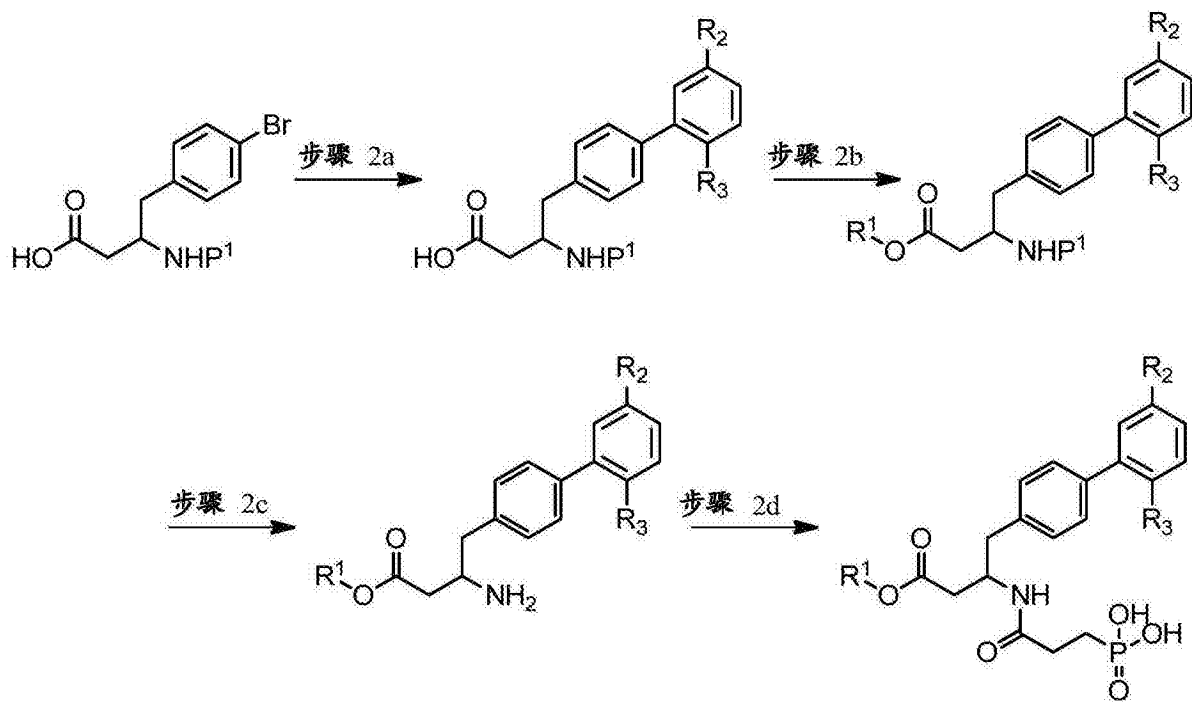
[0113] 化合物、包括它们的盐还可以以水合物的形式而得到，或者它们的晶体可以例如包括用于结晶的溶剂。可以存在不同的结晶形式。

[0114] 本发明还涉及如下的那些方法形式：其中将可在方法的任意阶段作为中间体得到的化合物用作原料并且进行其余的方法步骤，或者，其中原料在反应条件下形成或者以衍生物的形式、例如以保护的形式或以盐的形式进行使用，或者可通过本发明的方法得到的化合物在方法条件下被制备并且在原位被进一步加工。

[0115] 用于合成本发明的化合物的所有原料、结构单元、试剂、酸、碱、脱水剂、溶剂和催化剂是可商购获得的或者可以通过本领域普通技术人员已知的有机合成方法来制备 (Houben-Weyl, 第 4 版, 1952, Methods of Organic Synthesis, Thieme, 第 21 卷)。

[0116] 通常，式 I、II、III 或 IV 化合物可以根据下文所提供的流程图制备。

[0117]



[0118] 其中 R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>如上面的权利要求 1 定义, 并且 P<sup>1</sup>是氨基保护基 (例如叔丁氧基羰基)。

[0119] 在步骤 (2a) 中, 可以使用用于 Suzuki 偶联反应的标准方法, 例如使用钯 (或镍) 类 [例如 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>、PdCl<sub>2</sub>(dppf)、Pd(OAc)<sub>2</sub>/ 膦 (例如 PPh<sub>3</sub>、dppf、PCy<sub>3</sub>、P(tBu)<sub>3</sub>、XPhos)、Pd/C、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>/ 膦 (例如 PPh<sub>3</sub>、dppf、PCy<sub>3</sub>、P(tBu)<sub>3</sub>、XPhos)、Ni(COD)<sub>2</sub>/ 膦 (或 dppe、dppb、PCy<sub>3</sub>)、Ni(dppf)Cl<sub>2</sub>]、碱 (例如 KF、CsF、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、NaOH、KOH、NaO-t-Bu、KO-t-Bu) 和 (R<sup>2</sup>)<sub>n</sub>-PhB(OH)<sub>2</sub> [或 (R<sup>2</sup>)<sub>n</sub>-PhBF<sub>3</sub>K]。

[0120] 在步骤 (2b) 中, 可以使用烷基化羧酸的标准方法, 例如使用 R-LG/ 碱 (其中 LG 是离去基团, 选自但不限于 Cl、Br、I、OMs、OTs 或 OTf) (例如 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、NaHCO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>或 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)、亚硫酸酐 (或草酰酐)/R<sup>1</sup>-OH, DCC (或 EDCI)/DMAP/R<sup>1</sup>-OH, BOP/R<sup>1</sup>OK (或 R<sup>1</sup>ONa), (R<sup>1</sup>O)<sub>2</sub>CHNMe<sub>2</sub>、CDI/DBU/R<sup>1</sup>-OH, 其中 R<sup>1</sup>如上定义。

[0121] 在步骤 (2c) 中, 可以使用用于除去 P<sup>1</sup>保护基的标准方法, 例如使用 TFA 或 HCl 的酸诱导裂解。

[0122] 在步骤 (2d) 中, 可以使用用于酰胺偶联的标准方法连接 3- 磷酸基丙酸, 例如但不限于二异丙基乙基胺。

[0123] 本发明进一步包括本发明的方法的任何变通实施方案, 其中将在其任何阶段可获得的中间体产物用作原料并且进行剩余的步骤, 或者其中原料在反应条件下原位形成, 或者其中反应组分以它们的盐或旋光纯的对映体形式使用。

[0124] 本发明化合物和中间体还可以按照本领域技术人员通常已知的方法相互转化。

[0125] 在另一方面, 本发明提供了包含本发明化合物或其可药用盐和一种或多种可药用载体的药物组合物。药物组合物可以被配制用于特别的施用途径, 例如口服施用、非肠道施用和直肠施用等。此外, 本发明的药物组合物还可以被制备成固体形式 (包括但不限于胶囊剂、片剂、丸剂、颗粒剂、散剂或栓剂) 或液体形式 (包括但不限于溶液剂、混悬剂或乳剂)。药物组合物可以进行常规的药物操作例如灭菌和 / 或可以含有常规的惰性稀释剂、润

滑剂或缓冲剂以及辅助剂例如防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂和缓冲剂等。

[0126] 通常, 药物组合物是片剂或明胶胶囊剂, 其包含活性成分以及:

[0127] a) 稀释剂, 例如乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素和 / 或甘氨酸;

[0128] b) 润滑剂, 例如二氧化硅、滑石粉、硬脂酸、其镁或钙盐和 / 或聚乙二醇; 对于片剂还有

[0129] c) 粘合剂, 例如硅酸镁铝、淀粉糊、明胶、西黄蓍胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和 / 或聚乙烯吡咯烷酮; 如果需要的话, 还有

[0130] d) 崩解剂, 例如淀粉、琼脂、海藻酸或其钠盐或者泡腾混合物; 和 / 或

[0131] e) 吸收剂、着色剂、矫味剂和甜味剂。

[0132] 可以根据本领域已知的方法对片剂进行膜包衣或肠溶包衣。

[0133] 适于口服施用的组合物包括如下形式的有效量的本发明化合物: 片剂、锭剂、水性或油性混悬剂、可分散的粉末或颗粒、乳剂、硬或软胶囊剂或者糖浆剂或酞剂。用于口服使用的组合物根据本领域已知用于制备药物组合物的任何方法来制备, 并且这类组合物可以含有一种或多种选自甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂的试剂以提供药学上美观和可口的制剂。片剂可以含有活性成分以及适于制备片剂的无毒的可药用赋形剂。这些赋形剂例如有: 惰性稀释剂, 例如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠; 制粒剂和崩解剂, 例如玉米淀粉或海藻酸; 粘合剂, 例如淀粉、明胶或阿拉伯胶; 以及润滑剂, 例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉。片剂是未包衣的或者通过已知技术包衣以延缓在胃肠道中的崩解和吸收并且由此提供历经更长时间的持续作用。例如, 可以采用延时材料例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。用于口服使用的制剂可以作为其中活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合的硬明胶胶囊剂存在, 或者作为其中活性成分与水或油介质例如花生油、液体石蜡或橄榄油混合的软明胶胶囊剂存在。

[0134] 一些可注射的组合物是水性等张溶液剂或混悬剂, 并且栓剂可有利地由脂肪乳剂或混悬剂来制备。所述组合物可以被灭菌和 / 或含有辅助剂例如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂、溶解促进剂、调节渗透压的盐和 / 或缓冲剂。此外, 它们还可以含有其它治疗上有价值的物质。所述组合物分别根据常规的混合、制粒或包衣方法制备, 并且含有约 0.1-75% 或含有约 1-50% 的活性成分。

[0135] 适于透皮应用的组合物包括有效量的本发明的化合物和适合的载体。适于透皮递送的载体包括可吸收的药学上可接受的溶剂以帮助穿过宿主的皮肤。例如, 透皮装置是绷带剂的形式, 其包含背衬膜、含有化合物和任选的载体的贮库、任选的速率控制屏障 ( 历经延长了的时间以受控和预定的速率递送化合物至宿主皮肤 ) 和确保该装置在皮肤上的工具。

[0136] 适于局部应用、例如应用于皮肤和眼的组合物包括水性溶液剂、混悬剂、软膏剂、乳膏剂、凝胶剂或可喷雾制剂, 例如用于通过气雾剂等进行递送。这类局部递送系统可特别适于皮肤应用。因此, 它们特别适合用于局部, 包括本领域众所周知的美容化妆制剂。这类制剂可以含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。

[0137] 如本文所用的局部应用还可以涉及吸入或经鼻应用。它们可以方便地以干粉的形式 ( 单独或作为混合物、例如与乳糖的干混合物或混合的组分颗粒、例如与磷脂混合 ) 由干粉吸入器递送或以气雾喷雾形式由加压容器、泵、喷雾器、雾化器或喷雾器在使用或不

使用适合的抛射剂的情况下递送。

[0138] 本发明进一步提供了包含本发明的化合物作为活性成分的无水药物组合物和剂型,因为水可以促进一些化合物的降解。

[0139] 本发明的无水药物组合物和剂型可以使用无水或低含水量的成分以及低含水量或低湿度的条件来制备。可以制备无水药物组合物并且储存以便保持其无水性质。因此,使用已知阻止暴露于水的材料来包装无水组合物,以便它们可以被包括在适合的配方药盒中。适合包装的实例包括但不限于密封箔、塑料、单位剂量容器(例如小瓶)、泡罩包装和窄条包装。

[0140] 本发明还提供了包含一种或多种使作为活性成分的本发明的化合物的降解速率降低的物质的药物组合物和剂型。这类物质在本文中称为“稳定剂”,其包括但不限于抗氧化剂例如抗坏血酸、pH 缓冲剂或盐缓冲剂等。

[0141] 游离形式或可药用盐形式的根据式 I 至 IV 任意一个的化合物或其可药用盐表现出有价值的药理学性质,例如中性内肽酶调节性质,例如在下面部分提供的体外和体内试验显示的,并且因此表明可用于治疗。

[0142] 本发明化合物或其可药用盐可用于治疗选自下列的适应证:高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全(糖尿病性或非糖尿病性)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、肾病综合征、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、肾血管性高血压、糖尿病性视网膜病变和终末期肾病(ESRD)、内皮功能障碍、舒张期功能障碍、肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律失常、心房纤维性颤动(AF)、心脏纤维化、心房扑动、有害的血管重塑、斑块稳定、心肌梗死(MI)、肾纤维化、多囊肾病(PKD)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、周期性水肿、Menière 病、醛固酮增多症(原发性和继发性)、高钙尿症、腹水、青光眼、月经障碍、早产难产(preterm labour)、先兆子痫、子宫内膜异位症和生殖障碍(特别是男性和女性不育、多囊卵巢综合征、植入失败)、哮喘、阻塞性睡眠呼吸暂停、炎症、白血病、疼痛、癫痫、情感障碍例如抑郁和精神病性病症,例如痴呆和老年意识混乱、肥胖和胃肠障碍(特别是腹泻和肠易激惹综合征)、创伤愈合(特别是糖尿病性和静脉溃疡和褥疮)、脓毒性休克、胃酸分泌功能障碍、高肾素血症、囊性纤维化、再狭窄、2 型糖尿病、代谢综合征、糖尿病并发症、动脉粥样硬化以及男性和女性的性功能障碍。因此,作为进一步的实施方案,本发明提供了根据式 I 至 IV 任一个的化合物或其可药用盐的用途。在进一步的实施方案,该治疗选择与中性内肽酶活性相关的疾病。在另一个实施方案中,所述疾病选自上述列出的,适合的是高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、2 型糖尿病和糖尿病并发症,并且最适合的是心血管障碍,例如高血压、肾功能不全包括水肿和充血性心力衰竭。

[0143] 因此,作为进一步的实施方案,本发明提供了根据式 I 至 IV 任一个化合物或其可药用盐的治疗用途。在进一步的实施方案中,该治疗选自可通过抑制中性内肽酶活性被治疗的疾病。

[0144] 在另一个实施方案中,本发明提供了治疗与中性内肽酶活性相关的疾病的方法,

该方法包括施用治疗上可接受量的根据式 I 至 IV 任一个的化合物或其可药用盐。在进一步的实施方案中,所述疾病选自上述列出的,适合的是高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、2 型糖尿病和糖尿病并发症,并且最适合的是心血管障碍,例如高血压、肾功能不全包括水肿和充血性心力衰竭。

[0145] 对于约 50-70kg 的个体而言,本发明的药物组合物或组合产品可以是约 1-1000mg 活性成分或者约 1-500mg 或约 1-250mg 或约 1-150mg 或约 0.5-100mg 或约 1-50mg 活性成分的单位剂量。化合物、其药物组合物或组合产品的治疗有效剂量取决于个体的种属、体重、年龄和个体情况、所治疗的障碍或疾病或其严重性。具有普通技术的医师、临床医师或兽医可以容易地确定各活性成分预防、治疗或抑制障碍或疾病进程所需的有效量。

[0146] 以上引用的剂量性质可在体外和体内试验中有利地使用哺乳动物例如小鼠、大鼠、狗、猴或其离体器官、组织和制备物来证明。本发明化合物可以在体外以溶液、例如水性溶液的形式以及在体内经肠内、非肠道、有利地经静脉内、例如作为混悬液或在水性溶液中应用。体外剂量的范围可以在约  $10^3$  摩尔至  $10^9$  摩尔浓度之间。体内治疗有效量的范围可以根据施用途径为约 0.1-500mg/kg 或约 1-100mg/kg。

[0147] 本发明化合物的活性可以通过下列的体外和体内方法,和/或通过在下列现有技术中详细记载的体外和体内方法进行评价。参见 Doering K, Meder G, Hinnenberger M, Woelcke J, Mayr LM, Hassiepen U, (2009) "A fluorescence lifetime-based assay for protease inhibit or profiling on human kallikrein 7", *Biomol Screen*, Jan; 14(1):1-9。

[0148] 特别地,重组人中性内肽酶的体外抑制可以测定如下:

[0149] 将重组人中性内肽酶(在昆虫细胞中表达,并且使用标准方法纯化,最终浓度为 7pM)与多种浓度的试验化合物在室温、含 150mM NaCl 和 0.05% (w/v) CHAPS 的 pH 7.4 的 10mM 磷酸钠缓冲液中预温育 1 小时。酶反应通过加入合成肽底物 Cys(PT14)-Arg-Arg-Leu-Trp-OH 至终浓度为 0.7  $\mu$ M 来启动。底物水解导致 PT14 的荧光寿命 (FLT) 增加,通过上文引用的 Doering 等人 (2009) 描述的 FLT 读数器来测定。在室温温育 1 小时 ( $t = 60$  分钟) 后,测定化合物对酶活性的作用。 $IC_{50}$  值(相应于显示不存在抑制剂时测定的 FLT 值的 50% 减少的抑制剂浓度),由抑制百分比对抑制剂浓度作图使用线性回归分析软件来计算。

[0150] 使用试验分析(如上所述)本发明化合物显示的抑制效力对应表 1,提供如下。

[0151] 表 1 化合物的抑制活性

[0152]

化合物:实施例 #	人 NEP $IC_{50}$ (nM)
实施例 2	0.11

[0153] NEP 抑制剂的相对 CNS 和外周治疗活性在两种非临床的动物模型中进行评价。化合物或它们的载体通过口服施用于有意识的大鼠,并且测定脑脊髓液中 A $\beta$  (1-40) 肽浓度 (CSF; "A $\beta$  模型") 的增加,或者 NEP 底物血浆水平的增加,心房钠尿肽 (ANP; "ANP 增强模

型”)。因此,在给定的血浆 ANP 增加下,NEP 抑制剂不引起或引起 CSF A $\beta$  很小的增加将比引发 A $\beta$  很大的增加更有利。

[0154] 我们评估了使用如下描述的 ANP 增强模型时,NEP 抑制剂的效力和外周作用。

[0155] ANP 增强模型

[0156] 钠尿肽通过两种主要途径从机体清除:1) 结合到钠尿肽清除受体上,然后通过内吞作用和溶酶体水解;和 2) 通过膜结合的锌金属蛋白酶 NEP 水解,其已被确定在多种组织中,例如肾、肺、肠、脑和嗜中性粒细胞 (Maack T(2006)The broad homeostatic role of natriuretic peptides. *Arq Bras Endocrinol Metab*;50:198-207;Okolicany J,McEnroe GA,Koh GY 等人 (1992)Clearance receptor and neutral endopeptidase-mediated metabolism of atrial natriuretic factor. *Am J Physiol*;263:F546-53)。在正常动物中,清除受体主导着钠尿肽的降解 (Maack 2006,参考上文)。与此相反,在清除受体被高循环水平的钠尿肽饱和的情况下(例如充血性心力衰竭),NEP 在灭活钠尿肽中的作用变得显著 (Maack 2006,参考上文,Okolicany 等人,1992,参考上文)。

[0157] 后者观察被用来评价 NEP 抑制剂的外周作用。通过输注外源性的 ANP 来饱和清除受体,NEP 的 ANP- 代谢作用在正常有意识的大鼠中被暴露 (Gu, Jessie 等人 (2010), “Pharmacokinetics and pharmacodynamics of LCZ696, a novel dual-acting angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi)”, *Journal of Clinical Pharmacology*, 50 (4), 401-414;Okolicany 等人,1992 参考上文,Trapani AJ,Beil ME,Bruseo CW 等人 (2004)CGS 35601and its orally active prodrug CGS 37808 as triple inhibitors of endothelin-converting enzyme-1,neutral endopeptidase 24.11,and angiotensin-converting enzyme. *J Cardiovasc Pharmacol*; 44(Suppl1):S211-5)。因此,血浆 ANP 的增强被用作口服施用化合物的外周 NEP 抑制程度和持续时间的指数。

[0158] 成年雄性 Wistar Han (WH) 大鼠 (体重:483 $\pm$ 58g,平均值 $\pm$ SD;年龄:9-10.5 月) 购自 Charles River 实验室。将它们饲养在 12 小时光 / 黑暗周期 (光:早晨 6 点至下午 6 点),温度和相对湿度分别被设置为 72 $^{\circ}$  F 和 55%。除了在试验前和试验间部分禁食外,对大鼠随意提供正常的食物 (Harlan Teklad 8604) 和水。在这种情况下,试验前的晚上 (~ 下午 5 点) 仅保留两次大鼠的食物。在试验的早晨,取走任何剩余的食物。但是,在大多数情况下,两次的饲料丸在晚上都被消耗。在试验结束后恢复食物。

[0159] 将大鼠经手术插管以允许收集动脉血样并且静脉内 (i. v.) 施用 ANP。对大鼠麻醉,并且用异氟烷 (100%氧气中含 2%) 保持在麻醉的手术平面。向每只眼应用眼用润滑剂,以防止角膜刺激。施用美洛昔康 (0.2mg/kg 皮下注射) 用于镇痛。如有必要对疼痛进行管理,在手术后第一天第二次施用美洛昔康注射。此外,预操作地施用一剂量青霉素 G (50,000U/kg 肌肉注射),以防止感染。

[0160] 在无菌手术条件下,分离股动脉和静脉并且插入导管。导管由 ~ 55-cm 长的 Tygon (PVC) 微孔管 (0.020”,0.060”O. D.) 键合环己酮到 4.5-cm 长的聚氨酯 (0.012”I. D., 0.025”O. D., Micro-Renathane 型 MRE-025, Braintree Scientific, Inc., Braintree, MA) 管上组成。将导管皮下插管并且外置于中胸背 / 腹部区域。将导管通过皮下进入锚定绳 / 转环系统出来,其允许动物在专业的具有穿孔固体平台的 Plexiglas 笼中无束缚地运动。

导管用无菌 0.9% 的生理盐水冲洗,并且在手术完成后用在无菌 0.9% 生理盐水中的 200U/mL 肝素锁定。

[0161] 在研究前,允许大鼠恢复至少一周,同时有意识并且不受限制。给大鼠静脉输注 (450ng/kg/分钟) 大鼠 ANP (ANP (1-28), Product#14-5-41, American Peptide Company, Inc., Sunnyvale, CA)。在输注 ANP 1 小时后,通过口服管饲用 1mL/kg 载体 (0.5% 甲基纤维素 +0.1% 吐温 80) 或选择剂量的 NEP 抑制剂来处理大鼠。ANP 输注继续进行额外的 8 小时。在多个时间点 (基线或时间 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6 和 8 小时),从股动脉插管抽取动脉血样 (0.20mL) 到含有 0.004mL EDTA/蛋白酶抑制剂 (PI) 混合物的收集管中。将血样在 4°C 和 20K g 离心分离血浆。将血浆样品分等份并且冷冻 (-70°C),用于之后分析血浆 ANP 和化合物水平。

[0162] 血液收集混合物由广谱丝氨酸和半胱氨酸 PIs 和 EDTA 组成。该组合被确定 (全血中体外 ANP-峰 (spiking) 试验) 用来防止所得血浆在 37°C 温育时损失 ANP。其还抗血液凝固。

[0163] 下列成分被用于制备 EDTA/PI 混合物:

[0164] 1. 不含 EDTA 的完整 PI 混合物片 (Roche Catalog#11 873 580 001)

[0165] 2. 来自 Vacutainer 采血管的 K3EDTA (Product#366450 ;Lavender 常规封闭; ~ 抽取体积 :7mL ;液体添加 :K3EDTA 15% 溶液,0.081mL,12.15mg)

[0166] 混合物制备如下:

[0167] 1. 将 2 片全尺寸的 PI 片溶解于 0.94mL 微孔水中 (最终体积为 1.0mL = 100× 浓度溶液)。片剂经涡旋将在 ~ 1 分钟溶解。

[0168] 2. 向上述 PI 溶液中添加 1.0mL EDTA。涡旋至混合充分。溶液应澄清。

[0169] 3. 将混合物分成等份并且在 -70°C 冷冻 (当冷冻时至少 12 周稳定)。

[0170] 在试验当天,将一管 EDTA/PI 混合物解冻,并且在试验期间在冰上保存使用。同样,将含该混合物的采血管在冰上保存直至采血的时间,以尽量减少 PI 的分解。

[0171] 用商购的酶免疫测定试剂盒测定血浆 ANP 浓度 (心房钠因子 (1-28) (人) EIA 试剂盒, S-1131 ;Peninsula 实验室, Inc., San Carlos, CA)。将冷冻的血浆样品在冰上解冻,并且将 10 μL 血浆 1:10 稀释在补充有试剂盒的 1× 试验缓冲液中。然后,测定 10 μL 稀释后的样品。按照制造商的说明用于测定方案 (每孔的总体积用 1× 试验缓冲液扩大到 50 μL)。用来外推样品 ANP 浓度的标准曲线的线性范围在 8 至 500pg/孔之间。用于标准曲线的 IC<sub>50</sub> 是 24.5 ± 3.6pg/孔 (平均值 ± SD)。

[0172] 在不同的大鼠模型 (“Aβ 模型”) 中评价 NEP 抑制剂的中枢神经系统 (CNS) 作用。在该研究中,我们已经测定了作为 CNS Aβ 浓度敏感指示剂的脑脊髓液 (CSF) Aβ 水平 (Kwasi G. Mawuenyega, 2010, Science, 第 330 卷, 1774)。

[0173] Aβ 模型:

[0174] 试验在购自 Charles River 实验室未经训练的成年雄性 WH 大鼠 (体重: 495 ± 53g, 平均值 ± SD ;年龄 :8.5-12 个月) 上进行,该大鼠被如上所述的安置并且饲喂。大鼠通过口服管饲 1mL/kg 的载体 (0.5% 甲基纤维素 +0.1% 吐温 80) 或选择剂量的 NEP 抑制剂在上午 7:30 至 10:00 之间处理。5 小时后,将大鼠用异氟烷麻醉,进行剖腹术,并且在 EDTA 上获得腹主动脉血样。血样在 4°C 和 20Kg 下离心以分离血浆。将血浆样品分成等分

并且冷冻 (-70°C), 用于之后的血浆化合物水平分析。对大鼠放血后, 缩回覆盖在小脑延髓池上的皮肤和肌肉。通过暴露的硬脑脊膜直接穿刺至小脑延髓池收集 CSF 样品。使用低结合 pipette 头 (VWR 目录号 #37001-164) 尽可能快地将 CSF 转移至预冷 (在冰上) 的低结合管 (Protein LoBind 管, 1.5mL, 订单号 022431081, Eppendorf) 中, 以使 A $\beta$  聚集和粘附到设备上最小化。冷冻 CSF 样品 (-70°C), 用于之后的 A $\beta$  水平分析。

[0175] 使用 MesoScale Discovery (MSD, Gaithersburg, MD) 96-孔多阵列人 / 啮齿动物 (4G8) A $\beta$  40 超灵敏试剂盒 (K110FTE-2) 对 CSF 中的 A $\beta$  40 定量。

[0176] 除了标准曲线和样品制备外, 根据制造商的说明进行试验。将 10  $\mu$ L 等份的每个 CSF 样品与 190  $\mu$ L 1% BSA/1 $\times$ Tris 溶液 (来自试剂盒的“Blocker A”) 混合, 用于 1:20 的 CSF 稀释。将合成的 A $\beta$  1-40 肽 (来自试剂盒) 系列稀释在 1% BSA/1 $\times$ Tris 溶液, 以获得用于 8 点标准曲线的 10,000-10pg/mL 标准品。

[0177] 在吸取 150  $\mu$ L/孔 1% BSA/1 $\times$ Tris 溶液后, 将来自试剂盒的 MSD MULTI-SPOT A $\beta$  40 肽板温育 1 小时。将板用 400  $\mu$ L 1 $\times$ Tris 洗涤缓冲液 (来自试剂盒) 应用 BioTek EL406 自动洗板机 (Winooski, VT) 洗涤 3 次。对于 CSF 样品和标准品, 将 25  $\mu$ L 1 $\times$ SULFO-TAG 4G8 检测抗体 /1 $\times$ “Blocker G”/1% BSA/1 $\times$ Tris 溶液 (“检测抗体溶液”, 来自试剂盒) 吸入板中。以 25  $\mu$ L/孔将 CSF 样品和标准品吸入到板中, 然后立即添加检测抗体溶液。将板温育 2 小时, 并且用 400  $\mu$ L 1 $\times$ Tris 洗涤缓冲液应用 EL406 自动洗板机洗涤 3 次。将“读数缓冲液 T” (来自试剂盒) 以 1 $\times$ 150  $\mu$ L/孔吸取到板中。在 MSD SECTOR Imager 6000 读数器上立即读取 MSD 板。

[0178] 将标准品一式三份测定。CSF 样品一式两份测定。使用 MSD DISCOVERY WORKBENCH 数据分析工具 3.0 软件进行曲线拟合、反计算、%回收率并且插入样品浓度。使用具有 1/ $y^2$  加权函数的 4-参数逻辑曲线拟合选项对标准品产生的信号绘图并且拟合。由拟合曲线插入样品的 pg/mL 浓度。定量的测定下限 (LLOQ) 是 10pg/mL, 并且定量的上限 (ULOQ) 是 10,000pg/mL。LLOQ 和 ULOQ 的定义是回收率  $\pm$ 20% 并且 CV<20%。基于 4329.8g/mol 的分子量, 将样品的 pg/mL 浓度转换成 pmol/mL。

#### [0179] 血浆化合物浓度

[0180] 使用 LC-MS/MS 方法检测血浆中的 NEP 抑制剂 (本发明实施例 1 的前药及其活性药物: 本发明的实施例 2, 实施例 1-2 (W02010/136493) 及其活性药物: 实施例 11-1 (W02010/136493), 实施例 1-17 (W02010/136493) 及其活性药物: 实施例 11-39 (W02010/136493)。将用本发明实施例 1、实施例 1-2 (W02010/136493) 或实施例 1-17 (W02010/136493) 处理的等份 (25  $\mu$ L) 大鼠血浆使用 150  $\mu$ L 含 100ng/mL 内标 (格列本脲) 的乙腈进行蛋白质沉淀。将样品简单涡旋混合, 并且在 40000rpm 离心至多 10 分钟。然后, 将上清液 (125  $\mu$ L) 转移到 1-mL 96-孔板中, 然后加入 50  $\mu$ L 水。通过使用 HPLC 分离偶联质谱检测来进行分析。

[0181] 将带有 SIL-20AC 自动进样器的 Shimadzu LC-20AC 二元 HPLC 泵 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) 用于所有的 LC 分离。分析物的色谱分离在来自 MAC-MOD Analytical, Inc. (Chadds Ford, PA) 的 ACE<sup>®</sup> C18 柱 (MacMod, Chadds Ford, PA) (3  $\mu$ m, 2.1 $\times$ 30mm) 上进行, 联合快速梯度条件和流动相 A (含 0.1% 甲酸的水) 和 B (含 0.1% 甲酸的乙腈)。将配备 Turbo IonSpray 界面 (Sciex API4000; Applied Biosystems,

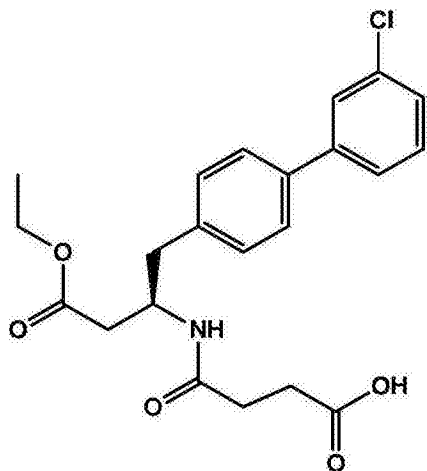
Framingham, MA) 的三重四级杆 (MS/MS) 质谱仪用于检测。该仪器在正 (Pos) 或负 (Neg) 离子多反应监测 (MRM) 模式操作, 采用氮气作为碰撞气体。监测下面两种前药和活性药物的 MRM 转变: 对于本发明的实施例 1 (Neg) 为  $m/z$  613.28  $\rightarrow$  425.12; 对于本发明的实施例 2 (Neg) 为  $m/z$  442.33  $\rightarrow$  133.89; 对于实施例 1-2 (W02010/136493) (Pos) 为  $m/z$  418.42  $\rightarrow$  231.12; 对于实施例 11-1 (W02010/136493) (Pos) 为  $m/z$  390.75  $\rightarrow$  256.14; 对于实施例 1-17 (W02010/136493) (Pos) 为  $m/z$  436.4  $\rightarrow$  248.0; 对于实施例 11.39 (W02010/136493) (Pos) 为  $m/z$  408.10  $\rightarrow$  248.03; 以及对于格列本脲 (ISTD) 为  $m/z$  494.2  $\rightarrow$  169.2 (Pos) 或 492.13  $\rightarrow$  169.84 (Neg)。数据由 Sciex Analyst 1.4.2 软件获得并且处理。

[0182] 使用由 Thermo Fisher Scientific 公司 (Philadelphia, PA) 购买的 Thermo Watson 7.3 软件进行未知浓度的标准回归和反计算。母体化合物的定量基于由至少 5 个点组成的校准曲线。对于本发明的实施例 1 和实施例 2, W02010/136493 的实施例 1-2 和实施例 11-1, 校准标准曲线范围设定为 1ng/mL (LLOQ) 至 10,000ng/mL (ULOQ); 对于 W02010/136493 的实施例 1-17 是 0.1ng/mL (LLOQ) 至 5,000ng/mL (ULOQ), 以及对于 W02010/136493 的实施例 11-39 是至 10,000ng/mL (ULOQ)。所有校正标准和质量控制样品的偏差都在接受标准的  $\pm 30\%$ 。

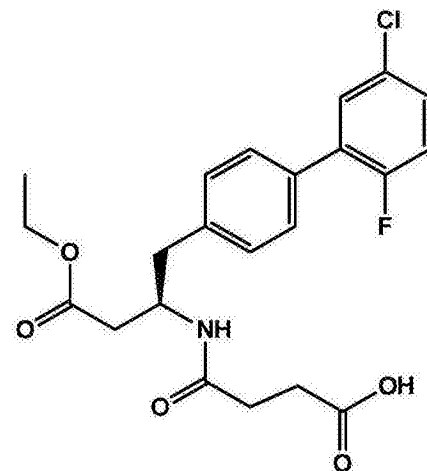
[0183] 对于本文的所有实施例和试验, 前药对活性药物的转化  $>97\%$ 。

[0184] 我们已经测定了本发明 NEP 抑制剂的相对外周和 CNS 抑制作用, 并且将这些抑制作用与 W0 2010/136493 中公开的实施例 1-17 和 1-2 的化合物进行了比较。

[0185]



实施例 1-2



实施例 1-17

[0186] WO 2010/136493

[0187] 结果:

[0188] 基线处的血浆 ANP 浓度是  $10.7 \pm 2.8$  ng/mL (平均值  $\pm$  SD) (后 -ANP, 预处理)。化合物迅速 (0.5-1 小时) 处理 (W02010/136493 的实施例 1-2 : 0.03-3mg/kg 口服; W02010/136493 的实施例 1-17 : 0.01-3mg/kg 口服; 本发明的实施例 1 : 0.3-3mg/kg 口服), 并且剂量依赖性增加的血浆 ANP 浓度达到稳态水平, 其在试验过程中保持升高。给药后 4 至 6 小时之间的平均血浆化合物和 ANP 浓度被用于产生暴露 - 响应关系。

[0189] 在给予载体后, CSF A $\beta$  的浓度是 $\sim 0.6\text{pmol/mL}$ 。化合物以下列剂量施用: WO2010/136493 的实施例 1-2(0.1-30mg/kg 口服), WO2010/136493 的实施例 1-17(1-30mg/kg 口服) 和本发明的实施例 1(3-30mg/kg 口服)。给药后 5 小时的血浆化合物和 CSF A 浓度被用于产生暴露 - 响应关系。

[0190] 线性回归被应用于血浆化合物暴露对血浆 ANP(%基线 ANP) 或 CSF A $\beta$  (% A $\beta$  载体对照) 响应关系。对应于血浆 ANP 的血浆化合物浓度增加接近暴露 - 响应关系顶点(基线的 200 至 240%) 来自每种化合物。然后, 将这些化合物浓度应用于暴露 - A $\beta$  线性回归关系, 以评估对应于每个 ANPs(%基线) 的 A $\beta$  (%载体对照) 值。如表所示, 实施例 1 在所有的血浆 ANP 增加时显示出 A $\beta$  的增加最小。相比之下, 对于 WO 2010/136493 的实施例 1-17 和 1-2 的化合物, 分别观察到 CSF A $\beta$  升高了 4 倍和 5-9 倍的%增加。

[0191] 表 2: 与 WO 2010/136493 实施例 1-2 和 1-17 的化合物比较, 本发明的实施例 1 化合物对应多种血浆 ANP 浓度增加的 CSF A $\beta$  (%载体对照)。

[0192]

化合物	血浆 ANP (%基线)				
	200	210	220	230	240
实施例 1	114	120	126	132	139
实施例 1-17 (WO2010/136493)	156	179	202	225	248
实施例 1-2 (WO2010/136493)	225	242	260	277	295

[0193] 在一个实施方案中, 本发明化合物在暴露诱导 200% ANP 增强时, 引起 CSF A $\beta$  的增加小于 25%, 或小于 20%, 或小于 15%。

[0194] 本发明化合物可以与一种或多种其它治疗剂同时、在其之前或之后施用。本发明化合物可以通过相同或不同施用途径单独施用或者与其它活性剂在同一药物组合物中一起施用。

[0195] 在一个实施方案中, 本发明提供了包含根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐和至少一种其它治疗剂作为组合制剂的产品, 用于在治疗中同时、分别或依次使用。在一个实施方案中, 该治疗是治疗与中性内肽酶活性相关的疾病或病症。

[0196] 作为组合制剂提供的产品包括在同一药物组合物中的根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐和其它治疗剂的组合物, 或者包含分开形式、例如药盒形式的根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐和其它治疗剂的组合物。

[0197] 在一个实施方案中, 本发明提供了药物组合物, 其包含根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐, 和另外的治疗剂。任选地, 药物组合物可以包含如上所述的可药用赋形剂。

[0198] 在一个实施方案中, 本发明提供了药盒, 其包含两种或多种分开的药物组合物, 其中至少一种含有根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐。在一个实施方案中, 药盒包

含单独容纳所述组合物的装置,例如容器、分隔瓶或分隔箔袋。这类药盒的实例是例如通常用于包装片剂、胶囊剂等的泡罩包装。

[0199] 本发明的药盒可以用于施用不同的剂量形式,例如口服和非肠道形式,用于在不同的剂量间隔施用单独的组合物或者相对于一种单独组合物逐渐增加另一种单独组合物。为了增加便利性,本发明的药盒通常含有施用指导。

[0200] 在本发明的组合治疗中,本发明化合物和其它治疗剂可以通过相同或不同的制造商来制备和/或配制。而且,本发明化合物和其它治疗剂可以(i)在将组合产品发放给医师之前(例如当药盒包含本发明的化合物和其它治疗剂时);(ii)通过医生自己(或在医师的指导下)在临施用前;(iii)由患者自己、例如在依次施用本发明化合物和其它治疗剂期间被带入组合治疗中。

[0201] 因此,本发明提供了根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐用于治疗与中性内肽酶活性相关的疾病或病症的用途,其中药物被制备用于与另外的治疗剂一起施用。本发明还提供了另外的治疗剂用于治疗与中性内肽酶活性相关的疾病或病症的用途,其中药物与根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐一起施用。

[0202] 本发明还提供了用在治疗与中性内肽酶活性相关的疾病或病症的方法中的根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐,其中根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐被制备用于与另外的治疗剂一起施用。本发明还提供了用在治疗与中性内肽酶活性相关的疾病或病症的方法中的另外的治疗剂,其中另外的治疗剂被制备用于与根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐一起施用。本发明还提供了用在治疗与中性内肽酶活性相关的疾病或病症的方法中的根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐,其中根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐与另外的治疗剂一起施用。本发明还提供了用在治疗与中性内肽酶活性相关的疾病或病症的方法中的另外的治疗剂,其中另外的治疗剂与根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐一起施用。

[0203] 本发明还提供了根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐用于治疗与中性内肽酶活性相关的疾病或病症的用途,其中患者之前(例如在 24 小时内)已经用另外的治疗剂进行了治疗。本发明还提供了另外的治疗剂用于治疗与中性内肽酶活性相关的疾病或病症的用途,其中患者之前(例如在 24 小时内)已经用根据式 I 至 IV 任一种的化合物或其可药用盐进行了治疗。

[0204] 在一个实施方案中,其它治疗剂选自:HMG-Co-A 还原酶抑制剂、血管紧张素受体阻断剂(ARBs、血管紧张素 II 受体拮抗剂)、血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、钙通道阻断剂(CCB)、内皮素拮抗剂、肾素抑制剂、利尿剂、ApoA-I 模拟物、抗糖尿病剂、减肥剂、醛固酮受体阻断剂、内皮素受体阻断剂、醛固酮合成酶抑制(ASI)、CETP 抑制剂和磷酸二酯酶 5 型(PDE5)抑制剂。

[0205] 术语与第二种活性剂或治疗“组合”包括共同施用本发明化合物(例如根据式 I-IV 任一种的化合物或本文描述的其它化合物)和第二种活性剂或治疗,先施用本发明化合物,然后施用第二种活性剂或治疗,以及先施用第二种活性剂或治疗,然后施用本发明化合物。

[0206] 术语“第二种活性剂”包括本领域已知用于治疗、预防或减少本文所述疾病或障碍的症状的任何活性剂,所述的疾病或障碍例如对中性内肽酶抑制有响应的障碍或疾病,

例如高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全（糖尿病性或非糖尿病性）、肾衰竭（包括水肿和盐潴留）、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、肾病综合征、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾疾病的蛋白尿、肾血管性高血压、糖尿病性视网膜病变和终末期肾疾病（ESRD）、内皮功能障碍、舒张功能障碍、肥厚型心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律失常、心房纤维性颤动（AF）、心脏纤维化、心房扑动、有害的血管重塑、斑块稳定、心肌梗死（MI）、肾纤维化、多囊肾病（PKD）、肾衰竭（包括水肿和盐潴留）、周期性水肿、Menière 病、醛固酮增多症（原发性和继发性）、高钙尿、腹水、青光眼、月经障碍、早产难产、先兆子痫、子宫内膜异位症、生殖障碍（特别是男性和女性不育、多囊卵巢综合征、植入失败）、哮喘、阻塞性睡眠呼吸暂停、炎症、白血病、疼痛、癫痫、情感障碍例如抑郁和精神病性病症例如痴呆和老年意识混乱、肥胖和胃肠障碍（特别是腹泻和肠易激惹综合征）、创伤愈合（特别是糖尿病性和静脉性溃疡以及褥疮）、脓毒性休克、胃酸分泌调节、高肾素血症的治疗、囊性纤维化、再狭窄、2 型糖尿病、代谢综合征、糖尿病并发症、动脉粥样硬化以及男性和女性的性功能障碍。

[0207] 第二种治疗剂的实例包括 HMG-Co-A 还原酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、血管紧张素转化酶（ACE）抑制剂、钙通道阻断剂（CCB）、内皮素拮抗剂、肾素抑制剂、利尿剂、ApoA-I 模拟物、抗糖尿病剂、减肥剂、醛固酮受体阻断剂、内皮素受体阻断剂、醛固酮合成酶抑制剂（ASI）、磷酸二酯酶 5 型（PDE5）抑制剂和 CETP 抑制剂。

[0208] 术语“HMG-Co-A 还原酶抑制剂”（也称为  $\beta$ -羟基- $\beta$ -甲基戊二酰基-辅酶 A 还原酶抑制剂）包括可用于降低脂质水平，包括血胆固醇的活性剂。实例包括阿伐他汀、西立伐他汀、康帕丁、达伐他汀、二氢康帕丁、fluvastatin、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、美伐他汀、普伐他汀、利伐他汀、辛伐他汀和 velostatin，或其可药用盐。

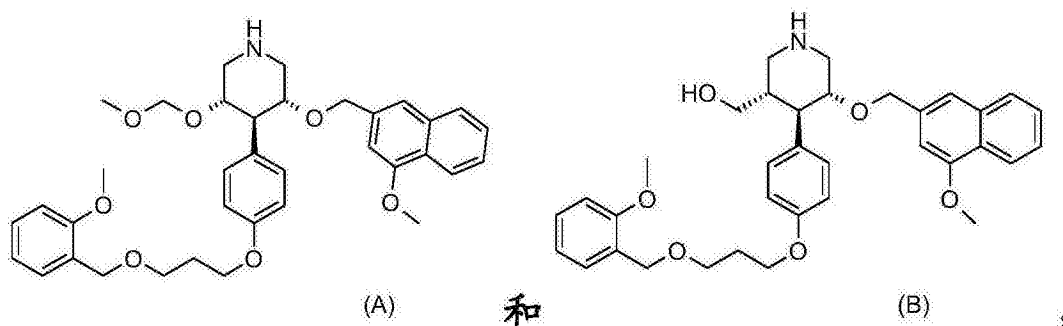
[0209] 术语“ACE 抑制剂”（也称为血管紧张素转化酶抑制剂）包括中断血管紧张素酶 I 向血管紧张素 II 酶降解的分子。此类化合物可用于血压调节和充血性心力衰竭的治疗。实例包括阿拉普利、贝那普利、贝那普利拉、卡托普利、西罗普利、西拉普利、地拉普利、依那普利、enaprilat、福辛普利、咪达普利、赖诺普利、莫维普利、培哌普利、喹那普利、雷米普利、螺普利、替莫普利和群多普利，或其可药用盐。

[0210] 术语“内皮素拮抗剂”包括波生坦（参见 EP526708A）、替唑生坦（WO 96/19459），或其可药用盐。

[0211] 术语“肾素抑制剂”包括地替吉仑（化学名： $[1S-[1R^*, 2R^*, 4R^*(1R^*, 2R^*)]]-1-[ (1, 1-二甲基乙氧基) 羰基]-L-脯氨酸基-L-苯丙氨酸基-N-[2-羟基-5-甲基-1-(2-甲基丙基)-4-[[[2-甲基-1-[(2-吡啶基甲基)氨基]羰基]丁基]氨基]羰基]己基]-N-\alpha$ -甲基-L-组氨酸酰胺）；特拉吉仑（化学名： $[R-(R^*, S^*)]-N-(4-吗啉基羰基)-L-苯丙氨酸基-N-[1-(环己基甲基)-2-羟基-3-(1-甲基乙氧基)-3-氧代丙基]-S-甲基-L-半胱氨酸酰胺$ ）；阿利吉仑（化学名： $(2S, 4S, 5S, 7S)-5-氨基-N-(2-氨基甲酰基-2, 2-二甲基乙基)-4-羟基-7-[[4-甲氧基-3-(3-甲氧基丙氧基)苯基]甲基]-8-甲基-2-(丙-2-基)壬酰胺$ ）和占吉仑（化学名： $[1S-[1R^*[R^*(R^*)], 2S^*, 3R^*]]-N-[1-(环己基甲基)-2, 3-二羟基-5-甲基己基]-\alpha-[[2-[[[4-甲基-1-哌嗪基]磺酰基]甲基]-1-氧代-3-苯基丙基]-氨基]-4-噻唑丙酰胺$ ），或其盐酸盐，或者由 Speedel 开发的 SPP630、SPP635 和

SPP800, 或者式 (A) 和 (B) 的 RO 66-1132 和 RO 66-1168 :

[0212]



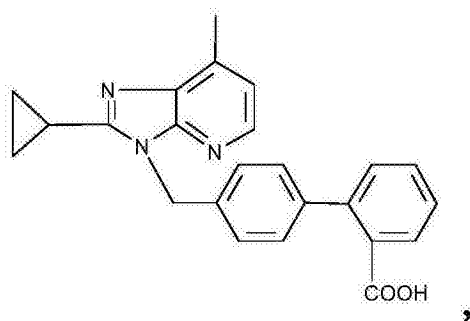
[0213] 或其可药用盐。

[0214] 术语“阿利吉仑”, 如果没有特别定义, 应当理解为既作为游离碱又作为其盐, 特别是其可药用盐, 最优选其半富马酸盐。

[0215] 血管紧张素 II 受体拮抗剂或其可药用盐应理解为, 结合到血管紧张素 II 受体的  $AT_1$ -受体亚型但不会导致在该受体活化的活性成分。作为抑制  $AT_1$  受体的结果, 这些拮抗剂可以是例如用作抗高血压剂或用于治疗充血性心力衰竭。

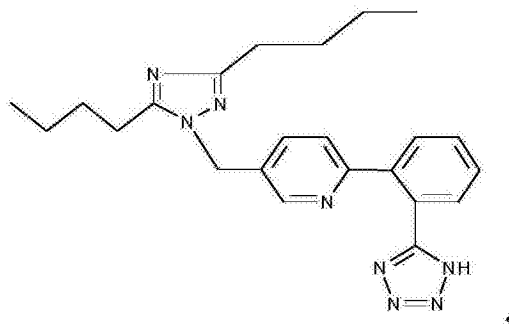
[0216]  $AT_1$  受体拮抗剂的种类包括具有不同结构特征的化合物, 基本上优选的是非肽的。例如, 可提及的化合物选自缬沙坦、氯沙坦、坎地沙坦、依普罗沙坦、厄贝沙坦、沙普立沙坦、他索沙坦、替米沙坦, 具有下式的命名为 E-1477 的化合物

[0217]



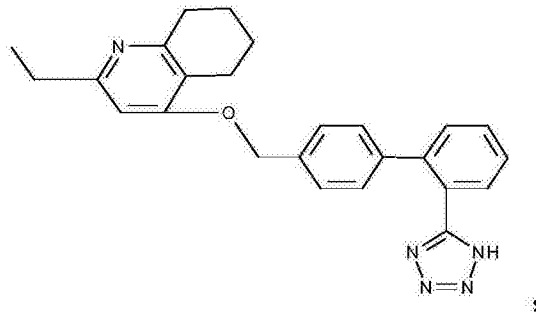
[0218] 具有下式的命名为 SC-52458 的化合物

[0219]



[0220] 具有下式的命名为 ZD-8731 的化合物

[0221]



[0222] 或者,在每种情形中,其可药用盐。

[0223] 优选的  $AT_1$ -受体拮抗剂是那些已上市的活性剂,最优选的是缬沙坦或其可药用盐。

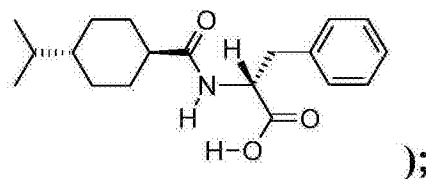
[0224] 术语“钙通道阻断剂 (CCB)”包括二氢吡啶 (DHP) 和非 DHP (例如地尔硫卓型和维拉帕米型 CCB)。实例包括氨氯地平、非洛地平、ryosidine、伊拉地平、拉西地平、尼卡地平、硝苯地平、尼古地平、尼鲁地平、尼莫地平、尼索地平、尼群地平和尼伐地平,并且优选非-DHP 代表选自氟桂利嗪、普尼拉明、地尔硫卓、苯乙二苯丙胺、戈洛帕米、米贝拉地尔、阿尼帕米、噻帕米和维拉帕米,或其可药用盐。CCB 可以被用作抗高血压、抗心绞痛或抗心律失常药物。

[0225] 术语“利尿剂”包括噻嗪衍生物 (例如氯噻嗪、氢氯噻嗪、甲基氯噻嗪和氯噻酮)。

[0226] 术语“ApoA-I 模拟物”包括 D4F 肽 (例如式 D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F)。

[0227] 术语“抗糖尿病剂”包括促进胰岛素从胰腺  $\beta$  细胞分泌的胰岛素分泌增强剂。实例包括双胍衍生物 (例如二甲双胍),磺酰脲 (SU) (例如甲苯磺丁脲、氯磺丙脲、妥拉磺脲、醋酸己脲、4-氯-N-[(1-吡咯烷基氨基)羰基]苯磺酰胺 (吡喃葡萄糖苷)、格列本脲 (格列本脲)、格列齐特、1-丁基-3-间氨基苯磺酰脲、氨磺丁脲、格列波脲、格列吡嗪、格列喹酮、格列派特、格列噻唑、格列丁唑、格列己脲、格列嘧啶、格列平脲、苯磺丁脲和甲苯基环拉酰胺),或其可药用盐。进一步的实例包括下式的苯丙氨酸衍生物 (例如那格列奈 [N-(反式-4-异丙基环己基羰基)-D-苯丙氨酸]) (参见 EP196222 和 EP526171) :

[0228]



[0229] 瑞格列奈 [(S)-2-乙氧基-4-{2-[[3-甲基-1-[2-(1-哌啶基)苯基]丁基]氨基]-2-氧代乙基}苯甲酸] (参见 EP 589874、EP 147850A2,特别是第 61 页实施例 11,和 EP 207331A1) ;(2S)-2-苄基-3-(顺式-六氢-2-异二氢吡啶基羰基)-丙酸钙二水合物 (例如米格列奈 (参见 EP 507534)) ;和格列美脲 (参见 EP31058)。进一步的实例包括 DPP-IV 抑制剂、GLP-1 和 GLP-1 激动剂。

[0230] DPP-IV 负责 GLP-1 失活。更特别地, DPP-IV 产生 GLP-1 受体拮抗剂,并且由此缩短对 GLP-1 的生理学响应。GLP-1 是主要的胰腺胰岛素分泌刺激物,并且它对葡萄糖处置具有直接的有益作用。

[0231] DPP-IV 抑制剂可以是肽或优选非肽的。在每种情况中, DPP-IV 抑制剂一般和特别

地例如在 WO 98/19998、DE 19616486A1、WO 00/34241 和 WO 95/15309 中公开,特别是在每种情况中,在化合物权利要求和工作实施例的终产物中公开,终产物、药物制剂和权利要求的主题在此引入本申请作为这些公开内容的参考。优选的是分别在 WO 98/19998 的实施例 3 和 WO 00/34241 的实施例 1 中具体公开的那些化合物。市售的 DPP-IV 抑制剂的其它实例是沙克列汀、西他列汀、维达列汀和利拉利汀。

[0232] GLP-1 是促胰岛素的蛋白质,它例如由 W.E.Schmidt 等人在 Diabetologia, 28, 1985, 704-707 中和在 US 5, 705, 483 中进行了描述。

[0233] 术语“GLP-1 激动剂”包括 GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>的变体和类似物,它们特别在 US 5, 120, 712、US 5, 118666、US 5, 512, 549、WO 91/11457 中和由 C. Orskov 等人在 J. Biol. Chem. 264(1989)12826 中被公开。进一步的实例包括其中 Arg<sup>36</sup>的羧基末端酰胺官能团在 GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>分子的第 37 位上被 Gly 代替的 GLP-1(7-37)及其变体和类似物,包括 GLN<sup>9</sup>-GLP-1(7-37)、D-GLN<sup>9</sup>-GLP-1(7-37)、乙酰基 LYS<sup>9</sup>-GLP-1(7-37)、LYS<sup>18</sup>-GLP-1(7-37)并且特别是 GLP-1(7-37)OH、VAL<sup>8</sup>-GLP-1(7-37)、GLY<sup>8</sup>-GLP-1(7-37)、THR<sup>8</sup>-GLP-1(7-37)、MET<sup>8</sup>-GLP-1(7-37)和 4-咪唑并丙酰基-GLP-1。还特别优选由 Greig 等人在 Diabetologia 1999, 42, 45-50 中描述的 GLP 激动剂类似物艾塞那肽-4(exendin-4)。

[0234] “抗糖尿病剂”定义中还包括胰岛素敏感性增强剂,其可恢复受损的胰岛素受体功能以降低胰岛素抗性并且因此增强胰岛素敏感性。实例包括降血糖的噻唑烷二酮衍生物(例如格列酮(glitazone)、(S)-((3,4-二氢-2-(苯基-甲基)-2H-1-苯并吡喃-6-基)甲基-噻唑烷-2,4-二酮(恩格列酮)、5-[[4-(3-(5-甲基-2-苯基-4-噻唑基)-1-氧代丙基)-苯基]-甲基]-噻唑烷-2,4-二酮(达格列酮)、5-[[4-(1-甲基-环己基)甲氧基)-苯基]-甲基]-噻唑烷-2,4-二酮(环格列酮)、5-[[4-(2-(1-吡啶基)乙氧基)苯基]-甲基]-噻唑烷-2,4-二酮(DRF2189)、5-[[4-[2-(5-甲基-2-苯基-4-噻唑基)-乙氧基]]苯基]-噻唑烷-2,4-二酮(BM-13.1246)、5-(2-萘基磺酰基)-噻唑烷-2,4-二酮(AY-31637)、双{4-[(2,4-二氧代-5-噻唑烷基)甲基]苯基}甲烷(YM268)、5-[[4-[2-(5-甲基-2-苯基-4-噻唑基)-2-羟基乙氧基]]苯基]-噻唑烷-2,4-二酮(AD-5075)、5-[4-(1-苯基-1-环丙烷羰基氨基)-苄基]-噻唑烷-2,4-二酮(DN-108)、5-[[4-(2-(2,3-二氢吡啶-1-基)乙氧基)苯基]-甲基]-噻唑烷-2,4-二酮、5-[3-(4-氯-苯基)]-2-丙炔基]-5-苯基磺酰基)噻唑烷-2,4-二酮、5-[3-(4-氯苯基)]-2-丙炔基]-5-(4-氟苯基-磺酰基)噻唑烷-2,4-二酮、5-[[4-(2-(甲基-2-吡啶基-氨基)-乙氧基)苯基]-甲基]-噻唑烷-2,4-二酮(罗西格列酮)、5-[[4-(2-(5-乙基-2-吡啶基)乙氧基)苯基]-甲基]-噻唑烷-2,4-二酮(吡格列酮)、5-[[4-((3,4-二氢-6-羟基-2,5,7,8-四甲基-2H-1-苯并吡喃-2-基)甲氧基)-苯基]-甲基]-噻唑烷-2,4-二酮(曲格列酮)、5-[6-(2-氟-苄基氧基)萘-2-基甲基]-噻唑烷-2,4-二酮(MCC555)、5-[[2-(2-萘基)-苯并噻唑-5-基]-甲基]-噻唑烷-2,4-二酮(T-174)和 5-(2,4-二氧代噻唑烷-5-基甲基)-2-甲氧基-N-(4-三氟甲基-苄基)苯甲酰胺(KRP297))。

[0235] 进一步的抗糖尿病剂包括胰岛素信号传导途径调节剂例如蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP 酶)抑制剂、抗糖尿病的非小分子模拟化合物和谷氨酰胺-果糖-6-磷酸酰胺转移酶

(GFAT) 抑制剂;影响失调的肝葡萄糖生成的化合物例如葡萄糖-6-磷酸酶 (G6Pase) 抑制剂、果糖-1,6-二磷酸酶 (F-1,6-Bpase) 抑制剂、糖原磷酸化酶 (GP) 抑制剂、胰高血糖素受体拮抗剂和烯醇丙酮酸磷酸羧激酶 (PEPCK) 抑制剂;丙酮酸脱氢酶激酶 (PDHK) 抑制剂;胃排空抑制剂;胰岛素;GSK-3 抑制剂;类视色素 X 受体 (RXR) 激动剂; $\beta$ -3AR 激动剂;解偶联蛋白质 (UCPs) 激动剂;非格列酮型 PPAR  $\gamma$  激动剂;双重 PPAR  $\alpha$  /PPAR  $\gamma$  激动剂;抗糖尿病的含钒化合物;肠降血糖素激素例如胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 和 GLP-1 激动剂; $\beta$ -细胞咪唑啉受体拮抗剂;米格列醇; $\alpha_2$ -肾上腺素能拮抗剂;及其可药用盐。

[0236] 术语“减肥剂”包括脂酶抑制剂(例如奥利司他)和食欲抑制剂(例如西布曲明和芬特明)。

[0237] 醛固酮合成酶抑制剂或其可药用盐被理解为是具有抑制醛固酮产生的性质的活性成分。醛固酮合成酶 (CYP11B2) 是催化肾上腺皮质中醛固酮产生的最后步骤、即 11-脱氧皮质酮向醛固酮转化的线粒体细胞色素 P450 酶。用所谓的醛固酮合成酶抑制剂抑制醛固酮产生已知是成功治疗低钾血、高血压、充血性心力衰竭、心房纤维性颤动或肾衰竭的变通方式。这种醛固酮合成酶抑制活性可以由本领域技术人员按照标准分析法(例如 US2007/0049616) 来容易地测定。

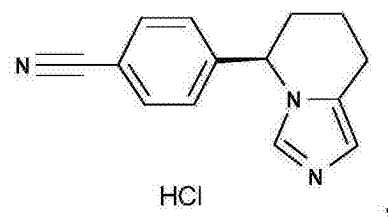
[0238] 醛固酮合成酶抑制剂的类别包括甾体和非甾体醛固酮合成酶抑制剂,后者是最优选的。

[0239] 优选可商购获得的醛固酮合成酶抑制剂或已经被卫生当局批准的那些醛固酮合成酶抑制剂。

[0240] 醛固酮合成酶抑制剂的类别包括具有不同结构特征的化合物。例如可以提及的有选自非甾体芳香酶抑制剂阿那曲唑、法倔唑(包括其(+)-对映异构体)以及甾体芳香酶抑制剂依西美坦的化合物或者如果适当的话其每种情况的可药用盐。

[0241] 最优选的非甾体醛固酮合成酶抑制剂是下式的法倔唑盐酸盐的(+)-对映异构体 (US 专利 4617307 和 4889861)

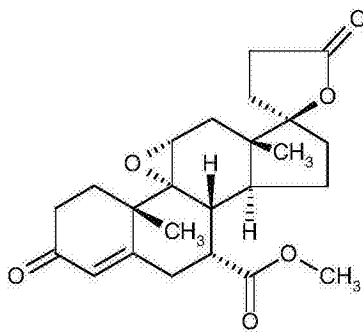
[0242]



[0243] 或者如果适当的话其可药用盐。

[0244] 优选的甾体醛固酮拮抗剂是下式的依普利酮(参考 EP 122232 A)

[0245]



[0246] 或螺内酯；或者如果适当的话其每种情况的可药用盐。

[0247] 可用于所述组合的醛固酮合成酶抑制剂有例如 US2007/0049616 中、特别是化合物权利要求和工作实施例的终产物中一般和具体公开的化合物和类似物，终产物、药物制剂和权利要求的主题在此引入本申请作为该公开的参考。适用于本发明的优选的醛固酮合成酶抑制剂包括但不限于 4-(6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-基)-3-甲基苄腈；5-(2-氯-4-氰基苯基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-甲酸(4-甲氧基苄基)甲基酰胺；4'-氟-6-(6,7,8,9-四氢-5H-咪唑并[1,5-a]氮杂萘-5-基)联苯-3-腈；5-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-甲酸丁酯；4-(6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-基)-2-甲氧基苄腈；5-(2-氯-4-氰基苯基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-甲酸 4-氟苄基酯；5-(4-氰基-2-三氟甲氧基苯基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-甲酸甲酯；5-(4-氰基-2-甲氧基苯基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-甲酸 2-异丙氧基乙基酯；4-(6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-基)-2-甲基苄腈；4-(6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-基)-3-氟苄腈；4-(6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-基)-2-甲氧基苄腈；3-氟-4-(7-亚甲基-6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-c]咪唑-5-基)苄腈；顺式-3-氟-4-[7-(4-氟-苄基)-5,6,7,8-四氢-咪唑并[1,5-a]吡啶-5-基]苄腈；4'-氟-6-(9-甲基-6,7,8,9-四氢-5H-咪唑并[1,5-a]氮杂萘-5-基)联苯-3-腈；4'-氟-6-(9-甲基-6,7,8,9-四氢-5H-咪唑并[1,5-a]氮杂萘-5-基)联苯-3-腈或者在每种情况中其(R)或(S)对映异构体；或者如果适当的话其可药用盐。

[0248] 术语醛固酮合成酶抑制剂还包括在 W02008/076860、W02008/076336、W02008/076862、W02008/027284、W02004/046145、W02004/014914、W02001/076574 中公开的化合物和类似物。

[0249] 此外，醛固酮合成酶抑制剂还包括如下文献中公开的化合物和类似物：美国专利申请 US2007/0225232、US2007/0208035、US2008/0318978、US2008/0076794、US2009/0012068、US20090048241 和 PCT 申请 W02006/005726、W02006/128853、W02006128851、W02006/128852、W02007065942、W02007/116099、W02007/116908、W02008/119744 和欧洲专利申请 EP 1886695。适用于本发明的优选的醛固酮合成酶抑制剂包括但不限于 8-(4-氟苯基)-5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪；4-(5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪-8-基)-2-氟苄腈；4-(5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪-8-基)-2,6-二氟苄腈；4-(5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪

嗪-8-基)-2-甲氧基苄腈;3-(5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪-8-基)苄腈;4-(5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪-8-基)酞腈;4-(8-(4-氰基苯基)-5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪-8-基)苄腈;4-(5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪-8-基)苄腈;4-(5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪-8-基)萘-1-腈;8-[4-(1H-四唑-5-基)苯基]-5,6-二氢-8H-咪唑并[5,1-c][1,4]噁嗪,由 Speedel 开发,或者在每种情况中其(R)或(S)对映异构体;或者如果适当的话其可药用盐。

[0250] 在所述组合中可用的醛固酮合成酶抑制剂是在例如 WO 2009/156462 和 WO 2010/130796 中一般和具体公开的化合物和类似物,特别是化合物权利要求和工作实施例的终产物,终产物、药物制剂和权利要求的主题中的化合物和类似物。

[0251] 适用于本发明组合的优选的醛固酮合成酶抑制剂包括 3-(6-氟-3-甲基-2-吡啶-3-基-1H-吡啶-1-基甲基)-苄腈盐酸盐、1-(4-甲磺酰基-苄基)-3-甲基-2-吡啶-3-基-1H-吡啶、2-(5-苄基氧基-吡啶-3-基)-6-氯-1-甲基-1H-吡啶、5-(3-氰基-1-甲基-1H-吡啶-2-基)-烟酸乙酯、N-[5-(6-氯-3-氰基-1-甲基-1H-吡啶-2-基)-吡啶-3-基甲基]-乙磺酰胺、吡咯烷-1-磺酸 5-(6-氯-3-氰基-1-甲基-1H-吡啶-2-基)-吡啶-3-基酯、N-甲基-N-[5-(1-甲基-1H-吡啶-2-基)-吡啶-3-基甲基]-甲磺酰胺、6-氯-1-甲基-2-[5-[(2-吡咯烷-1-基-乙基氨基)-甲基]-吡啶-3-基]-1H-吡啶-3-腈、6-氯-2-[5-(4-甲磺酰基-哌嗪-1-基甲基)-吡啶-3-基]-1-甲基-1H-吡啶-3-腈、6-氯-1-甲基-2-[5-[(1-甲基-哌啶-4-基甲基)-甲基]-吡啶-3-基]-1H-吡啶-3-腈、吗啉-4-甲酸 [5-(6-氯-3-氰基-1-甲基-1H-吡啶-2-基)-吡啶-3-基甲基]-酰胺、N-[5-(6-氯-1-甲基-1H-吡啶-2-基)-吡啶-3-基甲基]-乙磺酰胺、C, C, C-三氟-N-[5-(1-甲基-1H-吡啶-2-基)-吡啶-3-基甲基]-甲磺酰胺、N-[5-(3-氯-4-氰基-苯基)-吡啶-3-基]-4-三氟甲基-苯磺酰胺、N-[5-(3-氯-4-氰基-苯基)-吡啶-3-基]-1-苯基-甲磺酰胺、N-(5-(3-氯-4-氰基苯基)吡啶-3-基)丁-1-磺酰胺、N-(1-(5-(4-氰基-3-甲氧基苯基)吡啶-3-基)乙基)乙磺酰胺、N-((5-(3-氯-4-氰基苯基)吡啶-3-基)(环丙基)甲基)乙磺酰胺、N-(环丙基(5-(1H-吡啶-5-基)吡啶-3-基)甲基)乙磺酰胺、N-(环丙基(5-萘-1-基-吡啶-3-基)甲基)乙磺酰胺、乙磺酸 [5-(6-氯-1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)-吡啶-3-基甲基]-酰胺和乙磺酸 {[5-(3-氯-4-氰基-苯基)-吡啶-3-基]-环丙基-甲基}-乙基-酰胺。

[0252] 术语“内皮素受体阻断剂”包括波生坦。

[0253] 术语“CETP 抑制剂”指抑制胆甾醇酯转移蛋白(CETP)介导的多种胆甾醇酯和甘油三酯从 HDL 转运至 LDL 和 VLDL 的化合物。这类 CETP 抑制活性容易由本领域技术人员按照标准测定法(例如美国专利 6,140,343)来测定。实例包括美国专利 6,140,343 和美国专利 6,197,786 中公开的化合物(例如 [2R,4S]4-[(3,5-双-三氟甲基-苄基)-甲氧基羰基-氨基]-2-乙基-6-三氟甲基-3,4-二氢-2H-喹啉-1-甲酸乙酯(托彻普(torcetrapib));美国专利 6,723,752 中公开的化合物(例如 (2R)-3-[[3-(4-氯-3-乙基-苯氧基)-苄基]-[[3-(1,1,2,2-四氟-乙氧基)-苄基]-甲基]-氨基]-1,1,1-三氟-2-丙醇);美国专利申请序列号 10/807,838 中公开的化合物;美国专利号 5,512,548

中公开的多肽衍生物；分别在 J. Antibiot., 49 (8) :815-816 (1996) 和 Bioorg. Med. Chem. Lett. ;6:1951-1954 (1996) 中公开的玫瑰酮内酯衍生物和含磷酸的胆甾醇酯类似物。此外, CETP 抑制剂还包括 W02000/017165、W02005/095409 和 W02005/097806 中公开的那些。

[0254] 可用于所述组合中的 CETP 抑制剂是例如 W0 2008/009435、W0 2009/059943 和 W0 2009/071509 中一般和具体公开的化合物和类似物,特别是化合物权利要求和实施例的最终产物,最终产物、药物制剂和权利要求的主题中的化合物和类似物。

[0255] 磷酸二酯酶 5 型 (PDE5) 抑制剂的实例是西地那非、阿伐那非、iodenafil、米罗那非、他达拉非、伐地那非和乌地那非。

[0256] 特别感兴趣的第二种活性剂包括内皮素拮抗剂、肾素抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、磷酸二酯酶 5 型 (PDE5) 抑制剂、钙通道阻断剂、利尿剂、抗糖尿病剂例如 DPPIV 抑制剂和醛固酮合成酶抑制剂。

[0257] 在一个实施方案中,本发明提供了组合产品,特别是药物组合产品,其包含治疗有效量的根据式 I、II、III 或 IV 定义的化合物或其可药用盐,以及一种或多种选自以下的治疗活性剂:HMG-Co-A 还原酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂、钙通道阻断剂 (CCB)、内皮素拮抗剂、肾素抑制剂、利尿剂、ApoA-I 模拟物、抗糖尿病剂、减肥剂、醛固酮受体阻断剂、内皮素受体阻断剂、醛固酮合成酶抑制剂 (ASI)、CETP 抑制剂和磷酸二酯酶 5 型 (PDE5) 抑制剂。

[0258] 在一个实施方案中,本发明提供了抑制个体的中性内肽酶活性的方法,其中该方法包括给个体施用治疗有效量的根据式 I、II、III 或 IV 定义的化合物或其可药用盐。

[0259] 在一个实施方案中,本发明提供了治疗个体的与中性内肽酶活性相关的障碍或疾病的方法,其中该方法包括给个体施用治疗有效量的根据式 I、II、III 或 IV 定义的化合物或其可药用盐。

[0260] 在一个实施方案中,本发明提供了治疗个体的与中性内肽酶活性相关的障碍或疾病的方法,其中障碍或疾病选自高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全(糖尿病性或非糖尿病性)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、肾病综合征、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、肾血管性高血压、糖尿病性视网膜病变和终末期肾病 (ESRD)、内皮功能障碍、舒张期功能障碍、肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律失常、心房纤维性颤动 (AF)、心脏纤维化、心房扑动、有害的血管重塑、斑块稳定、心肌梗死 (MI)、肾纤维化、多囊肾病 (PKD)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、周期性水肿、Menière 病、醛固酮增多症(原发性和继发性)、高钙尿症、腹水、青光眼、月经障碍、早产难产、先兆子痫、子宫内膜异位症和生殖障碍(特别是男性和女性不育、多囊卵巢综合征、植入失败)、哮喘、阻塞性睡眠呼吸暂停、炎症、白血病、疼痛、癫痫、情感障碍例如抑郁和精神病性病症,例如痴呆和老年意识混乱、肥胖和胃肠障碍(特别是腹泻和肠易激惹综合征)、创伤愈合(特别是糖尿病性和静脉溃疡和褥疮)、脓毒性休克、胃酸分泌功能障碍、高肾素血症、囊性纤维化、再狭窄、2 型糖尿病、代谢综合征、糖尿病并发症、动脉粥样硬化以及男性和女性的性功能障碍。在又一个实施方案,本发明提供了治疗个体的与中性内肽酶的活性相关的障碍或疾病的方法,其中障碍或疾病选自高血压、肺性高血压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、充血性心力衰竭和

肺动脉高压。

[0261] 在一个实施方案中,本发明提供了根据式 I、II、III 或 IV 定义的化合物或其可药用盐,其用作药物。

[0262] 在一个实施方案中,本发明提供了根据式 I、II、III 或 IV 定义的化合物或其可药用盐在治疗个体的与中性内肽酶活性相关的障碍或疾病中的用途。

[0263] 在一个实施方案中,本发明提供了根据式 I、II、III 或 IV 定义的化合物或其可药用盐在制备用于治疗个体的特征为中性内肽酶活性的障碍或疾病的药物中的用途,其中所述的障碍或疾病特别选自:高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全(糖尿病性或非糖尿病性)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、肾病综合征、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、肾血管性高血压、糖尿病性视网膜病变和终末期肾病(ESRD)、内皮功能障碍、舒张期功能障碍、肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律失常、心房纤维性颤动(AF)、心脏纤维化、心房扑动、有害的血管重塑、斑块稳定、心肌梗死(MI)、肾纤维化、多囊肾病(PKD)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、周期性水肿、Menière病、醛固酮增多症(原发性和继发性)、高钙尿症、腹水、青光眼、月经障碍、早产难产、先兆子痫、子宫内膜异位症和生殖障碍(特别是男性和女性不育、多囊卵巢综合征、植入失败)、哮喘、阻塞性睡眠呼吸暂停、炎症、白血病、疼痛、癫痫、情感障碍例如抑郁和精神病性病症,例如痴呆和老年意识混乱、肥胖和胃肠障碍(特别是腹泻和肠易激惹综合征)、创伤愈合(特别是糖尿病性和静脉溃疡和褥疮)、脓毒性休克、胃酸分泌功能障碍、高肾素血症、囊性纤维化、再狭窄、2型糖尿病、代谢综合征、糖尿病并发症、动脉粥样硬化以及男性和女性的性功能障碍。在又一个实施方案,本发明提供了根据式 I、II、III 或 IV 定义的化合物在制备用于制备用于个体的特征为中性内肽酶活性的障碍或疾病的药物中的用途,其中所述的障碍或疾病特别选自高血压、肺性高血压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、充血性心力衰竭和肺动脉高压。

[0264] 在一个实施方案中,本发明提供了根据式 I、II、III 或 IV 定义的化合物或其可药用盐在治疗个体的特征为中性内肽酶活性的障碍或疾病中的用途,其中所述的障碍或疾病选自:高血压、肺性高血压、肺动脉高压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、心力衰竭、充血性心力衰竭、左心室肥大、心绞痛、肾功能不全(糖尿病性或非糖尿病性)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、糖尿病性肾病、非糖尿病性肾病、造影剂诱导的肾病、肾病综合征、肾小球肾炎、硬皮病、肾小球硬化、原发性肾病的蛋白尿、肾血管性高血压、糖尿病性视网膜病变和终末期肾病(ESRD)、内皮功能障碍、舒张期功能障碍、肥厚性心肌病、糖尿病性心肌病、室上性和室性心律失常、心房纤维性颤动(AF)、心脏纤维化、心房扑动、有害的血管重塑、斑块稳定、心肌梗死(MI)、肾纤维化、多囊肾病(PKD)、肾衰竭(包括水肿和盐潴留)、周期性水肿、Menière病、醛固酮增多症(原发性和继发性)、高钙尿症、腹水、青光眼、月经障碍、早产难产、先兆子痫、子宫内膜异位症、生殖障碍(特别是男性和女性不育、多囊卵巢综合征、植入失败)、哮喘、阻塞性睡眠呼吸暂停、炎症、白血病、疼痛、癫痫、情感障碍例如抑郁和精神病性病症,例如痴呆和老年意识混乱、肥胖和胃肠障碍(特别是腹泻和肠易激惹综合征)、创伤愈合(特别是糖尿病性和静脉溃疡和褥疮)、脓毒性休克、胃酸分泌功能障碍、高肾素血症、囊性纤维化、再狭窄、2型糖尿病、代谢综合征、糖尿病并发症、动脉粥样

硬化以及男性和女性的性功能障碍,并且更特别的疾病或障碍选自高血压、肺性高血压、单纯收缩期高血压、顽固性高血压、外周血管疾病、充血性心力衰竭和肺动脉高压。

[0265] 本发明的例证:

[0266] 以下实施例用于解释本发明,而不解释为限制本发明。温度以摄氏度给出。若无另外指出,所有蒸发在减压下、优选在约 15mm Hg 至 100mm Hg (= 20-133mbar) 下进行。终产物、中间体和原料的结构通过标准分析方法例如微量分析和光谱特征如 MS、IR、NMR 来确定。所用缩略语是本领域常规的那些。

[0267] 用于合成本发明化合物的所有原料、结构单元、试剂、酸、碱、脱水剂、溶剂和催化剂是商购可获得的,或者可以通过本领域技术人员已知的有机合成方法来制备(Houben-Weyl, 第 4 版, 1952, Methods of Organic Synthesis, Thieme, 第 21 卷)。而且,本发明化合物可以通过本领域技术人员已知的有机合成方法如以下实施例中所示的那样来制备。

[0268] 本发明的例证:

[0269] 缩略语:

[0270]

<b>br:</b> 峰宽	<b>bs:</b> 宽的单峰
<b>ACN:</b> 乙腈	<b>d:</b> 双峰
<b>dd:</b> 双重双峰	<b>m:</b> 多重峰
<b>DMF:</b> 二甲基甲酰胺	<b>HATU:</b> O-(7-偶氮苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐
<b>ES:</b> 电喷雾	<b>HOBt:</b> 1-羟基苯并三唑

[0271]

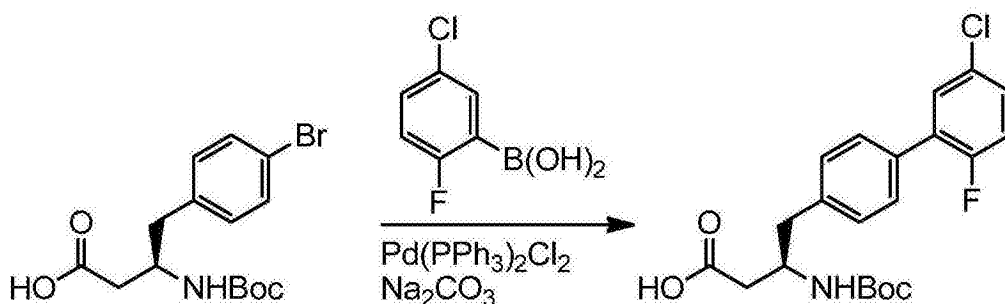
<b>DIPEA: N,N-二异丙基乙基胺</b>	<b>ee: 对映异构体过量</b>
<b>EDTA: 乙二胺四乙酸</b>	<b>EDC: (乙基(二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐)</b>
<b>EIA: 酶免疫分析</b>	<b>ISTD: 内标</b>
<b>HPLC: 高效液相色谱</b> <b>HPLC-RT (保留时间)</b>	<b>LC 和 LCMS: 液相色谱以及液相色谱和质谱</b>
<b>H: 小时</b>	<b>hrs: 数小时</b>
<b>LLOQ: 定量的下限</b>	<b>Mg: 毫克</b>
<b>MS: 质谱</b>	<b>m: 多重峰</b>
<b>min: 分钟</b>	<b>m/z: 质荷比</b>
<b>M 和 mM: 摩尔和毫摩尔</b>	<b>PI: 蛋白酶抑制剂</b>
<b>PVC: 聚氯乙烯</b>	<b>NMR: 核磁共振</b>
<b>RT: 室温</b>	<b>TBME: 甲基叔丁基醚</b>
<b>q: 四重峰</b>	<b>t: 三重峰</b>
<b>s: 单峰</b>	<b>DMSO: 二甲亚砜</b>
<b>TFA: 三氟乙酸</b>	<b>THF: 四氢呋喃</b>
<b>μL、mL 和 L: 微升, 毫升和升</b>	<b>UV: 紫外线</b>
<b>ULOQ: 定量的上限</b>	

[0272] 以下实施例用于解释本发明, 而不解释为限制本发明。温度以摄氏度给出。若无另外指出, 所有蒸发在减压下、优选在约 15mm Hg 至 100mm Hg (= 20-133mbar) 下进行。终产物、中间体和原料的结构通过标准分析方法例如微量分析和光谱特征例如 MS、IR、NMR 来确定。所用缩略语是本领域常规的那些。

[0273] 用于合成本发明化合物的所有原料、结构单元、试剂、酸、碱、脱水剂、溶剂和催化剂是商购可获得的, 或者可以通过本领域技术人员已知的有机合成方法来制备 (Houben-Weyl, 第 4 版, 1952, Methods of Organic Synthesis, Thieme, 第 21 卷)。而且, 本发明化合物还可以通过本领域技术人员已知的有机合成方法如以下实施例中所示的那样来制备。

[0274] 实施例 1 : (3-(((2R)-1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基))-4-(1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙氧基))-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸的合成

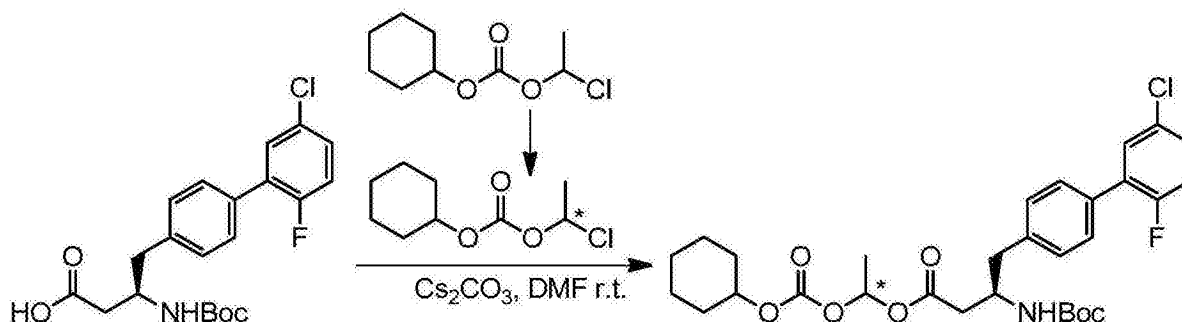
[0275]



[0276] A : (R)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸

[0277] 在 (R)-4-(4-溴苯基)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)丁酸 (HBC2251, 14g, 39mmol) 和 5-氯-2-氟苯基硼酸 (8.5g, 49mmol) 的 300mL H<sub>2</sub>O 溶液中加入 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (12.5g, 118mmol)。将该溶液温至 40℃, 并且加入 9mL 的 THF, 然后加入 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.6g, 0.86mmol)。然后将反应混合物在 60℃ 搅拌约 1 天。将反应混合物冷却至 23℃, 并且真空除去 THF。将产生的水性悬浮液通过硅藻土过滤, 并且将固体用 H<sub>2</sub>O 冲洗。然后, 用约 3:1 的乙酸异丙酯 / 丙酮 (400mL) 萃取合并的滤液和 H<sub>2</sub>O 洗涤液。分离后, 弃去有机层。向水层中加入 TBME (300mL), 然后缓慢加入 6N HCl (32mL)。然后, 分离有机层并且通过硅藻土过滤。固体用 TBME 洗涤。合并的滤液和洗涤液浓缩成类白色固体 (14.96g, 36.7mmol, 产率 94%, LCMS 纯度为约 96% UV)。LCMS (ES) C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>ClFNO<sub>4</sub>; 计算值: 407.1; 实测值: 406.4 [M-H]<sup>+</sup>。

[0278]

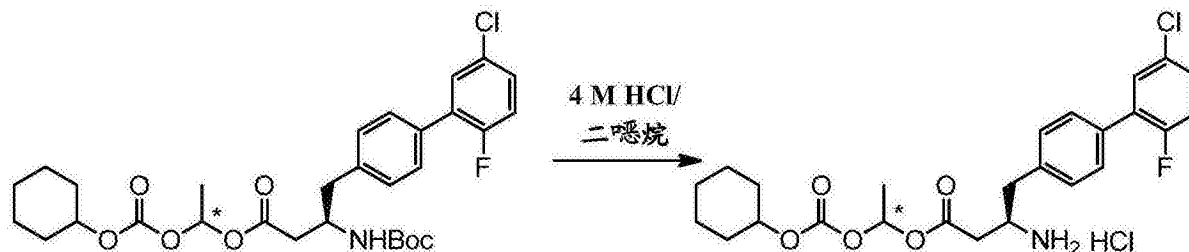


[0279] B : (3R)-1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙基 3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸酯

[0280] 将 1-氯乙基环己基碳酸酯通过 HPLC 在制备 Chiralpak ID 柱上拆分, 使用庚烷 / TBME 98:2 和旋光检测器。由该拆分, 确定在 Chiralpak ID 柱上的峰 2 具有 98% ee, 并且用于随后的步骤。在 0℃ 在 1-氯乙基环己基碳酸酯 (来自 Chiralpak ID 柱庚烷 / TBME 98:2 的第二洗脱异构体) (1.75g, 8.47mmol) 和 (R)-3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸 (1.5g, 3.68mmol) 的 35mL 无水 DMF 中加入碳酸铯 (1.2g, 3.68mmol)。在反应混合物搅拌 5 分钟后, 移走冰浴, 并且将反应混合物在 23℃ 搅拌 4.5 小时。LCMS 表明, 反应完成了约 40%。将反应混合物搅拌约 18 小时, 在该点 LCMS 表明反应完成了约 95%。将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 并且用饱和氯化铵水溶液 (水层的 pH 为约 6-7) 洗涤。分离后, 将水层用乙酸乙酯萃取两次。合并的有机层用水洗涤一次, 用饱和氯化钠水溶液洗涤一次, 经硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 并且用硅胶色谱在 Isco RediSep 120g 硅胶柱 (0-20% 乙酸乙酯 - 庚烷) 上纯化, 得到 (3R)-1-(((环己

基氧基)羰基)氧基)乙基 3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸酯 (2.07g, 产率 97%, 在分析超临界流体 HPLC 中使用 Chiralpak AD-H 在 CO<sub>2</sub> 中的 5-55% MeOH 与 20mM NH<sub>4</sub>OH 测定为 95.8% ee)。LCMS (ES<sup>+</sup>) C<sub>30</sub>H<sub>37</sub>ClFNO<sub>7</sub>; 计算值: 577.2; 实测值: 578.3 [M+H]<sup>+</sup>。

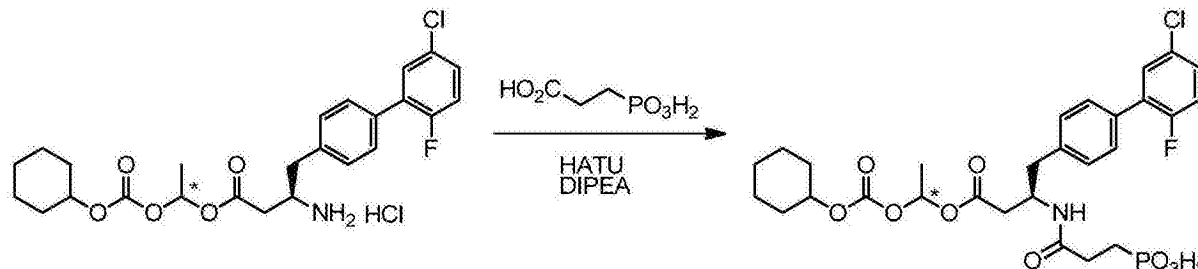
[0281]



[0282] C: (3R)-1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙基 3-氨基-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸酯

[0283] 在 (3R)-1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙基 3-((叔丁氧基羰基)氨基)-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸酯 (2.02g, 3.49mmol) 中加入 9mL 在 1,4-二噁烷中的 4M HCl。反应混合物在 23°C 搅拌约 1 小时。将反应混合物蒸发近干, 得到 (3R)-1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙基 3-氨基-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸酯 (约 1.73g, 104%), 并且直接用于下面的步骤。LCMS (ES<sup>+</sup>) C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>ClFNO<sub>5</sub>。计算值: 477.2; 实测值: 478.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0284]



[0285] D: (3-(((R)-1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-((S)-1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸

[0286] 在 3-磷酸基丙酸 (1.62g, 10.5mmol) 的 15mL 无水 DMF 溶液中加入 HATU (4g, 10.5mmol)。反应混合物冷却至 0°C, 并且缓慢加入二异丙基乙基胺 (9mL, 51.5mmol), 使反应混合物变成明亮的黄色。添加完成后, 移走冰浴, 并且将反应混合物在 23°C 搅拌 ~ 20 分钟。然后, 将 (3R)-1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙基 3-氨基-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸酯 (1.73g, 3.36mmol) 的 15mL 无水 DMF 溶液加入至反应混合物中, 然后将其在 23°C 搅拌约 2.5 天。反应混合物的 LCMS 表明, 通过 UV 的混合物为约 2:1 的产物: 原料。向反应混合物中加入另外的二异丙基乙基胺 (2.4mL, 13.7mmol), 然后加入 3-磷酸基丙酸 (0.54g, 3.5mmol) 和 HATU (1.3g, 3.5mmol)。将反应混合物在 23°C 搅拌约 4 小时。LCMS 表明, 通过 UV 的产物: 原料为约 10:1 的比例。将反应混合物在 23°C 搅拌约 18 小时。LCMS 表明, 通过 UV 的产物: 原料为约 20:1 的比例。将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 并且用 3N HCl (水溶液) 洗涤, 直到用 LCMS 观察不到 HATU- 衍生的极性杂质 (例如 ≥ 4 × 洗涤)。有机层用

水洗涤,然后用饱和氯化钠水溶液洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并且浓缩。将产生的白色固体在甲苯中搅拌约3天,然后过滤并且高真空干燥,得到1.3g(3-(((R)-1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基))-4-((S)-1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸(2.1mmol,产率62%)。用X-射线晶体学测定绝对立体化学。分离产物为结晶形式A。HRMS(ES<sup>+</sup>)C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>ClFNO<sub>9</sub>P:计算值:613.2;实测值:614.2[M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ:10.45(br s,2H),8.05(d, J = 8.3Hz,1H),7.58(dd, J = 6.8,2.7Hz,1H),7.50(dd, J = 8.2,1.5Hz,2H),7.46(ddd, J = 6.6,4.3,2.1Hz,1H),7.37(dd, J = 10.3,8.8Hz,1H),7.30(d, J = 8.2Hz,2H),6.61(q, J = 5.4Hz,1H),4.49-4.59(m,1H),4.21-4.34(m,1H),2.71-2.86(m,2H),2.49-2.52(m,2H),2.10-2.27(m,2H),1.75-1.88(m,2H),1.63(m,4H),1.14-1.51(m,9H)。

[0287] 下面结晶形式A的X-射线粉末衍射(XPRD)、差示扫描量热法(DSC)和热重分析(TGA)由更大批次的(3-(((R)-1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基))-4-((S)-1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸获得,其制备与上述方法相似。

[0288] 形式A

[0289] a)X-射线粉末衍射

[0290] X-射线粉末衍射图在Bruker™ D8GADDS Discover衍射计上记录,CuKα阳极(CuKα辐射(λ = 1.5418 Å))。

[0291] 由此测定的X-射线衍射图在表1中显示,并且最重要线的反射线表示于下表2。

[0292] 表2.

[0293]

角度	强度%
2-θ°	%
3.331	48.3
5.729	47
8.734	23.7
11.423	33.2
14.4	44.8
15.861	28.4
16.545	59.6
17.525	90.7
17.817	81.5

18.732	99.8
19.611	49.1
20.153	74.4
20.68	83.4
21.169	38.1

[0294]

21.696	100
21.94	66.2
23.174	31.5
23.937	48.3
24.117	57.7
24.571	61.1
25.024	62.1
25.47	50.5
27.365	51.3
27.362	40.4
27.985	31.1
28.386	36.4
29.167	39.6
29.606	48.2
30.692	45
31.789	40
32.487	34.2

[0295] b) 元素分析：

[0296] 含水量 (Karl Fischer 滴定) :0.77% m/m\*(质量 / 质量)

[0297] 表 3

[0298]

元素	理论含量 [% m/m]	测定含量 [% m/m]
C	54.77	54.69*
H	5.58	6.231*
N	2.28	2.22*
F	3.09	未报告 *
Cl	5.77	未报告 *
P	5.04	未报告 *
O	23.45	未报告 *

[0299] 试验数据相应于对 (3-(((R)-1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-((S)-1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)磷酸游离酸的预期。

[0300] c) 差示扫描量热法 (DSC):

[0301] 形式 A 的差示扫描量热法 (DSC) 和热重分析 (TGA) 迹线用 TA 仪器 Q2000 (DSC) 和 Q5000 (TGA)、铝盘 (TI20608) 得到;加热速率为 10°C / 分钟,温度范围:25 至 250°C。熔化吸热:  $T_{\text{起始}} = 146.09$ ,  $\Delta H = 66.56 \text{ J/g}$ ;在熔化开始前的小初始重量损失为 0.38%。

[0302] DSC:

[0303] 准确称取 0.5-1.0mg 试验物质至封闭的样品盘。空样品盘用作参照。DSC 热分析图记录如下:该装置的温度调节至约 -40°C,并且以 10°C / 分钟的加热速率加热至 300°C,在 50mL/ 分钟的氮气流。该装置用铟(至少 99.9999%纯)校准温度和焓。使用这种方法测量的样品温度的准确度在约  $\pm 1^\circ\text{C}$  内,并且测量的熔化热可在约  $\pm 5\%$  的相对误差内。

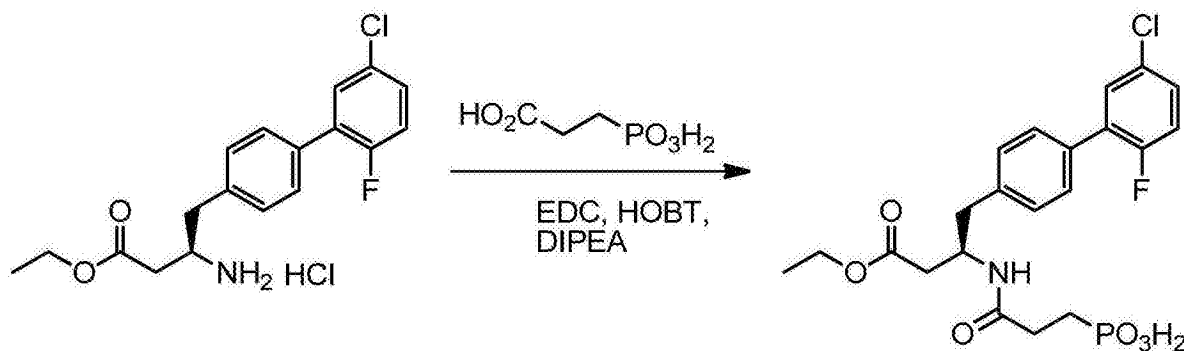
[0304] TGA:

[0305] 准确称取 0.5-1.0mg 试验物质至开放样品盘。TGA 热分析图记录如下:将样品上样至炉中,温度平衡至 30°C,并且以 10°C / 分钟的加热速率加热至 300°C,在 25mL/ 分钟的氮气流下。

[0306] 该装置用镍和铝校准温度,并且用 100mg 标准品校准重量。

[0307] 实施例 2:(R)-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-3-(3-磷酰基丙酰氨基)丁酸的合成

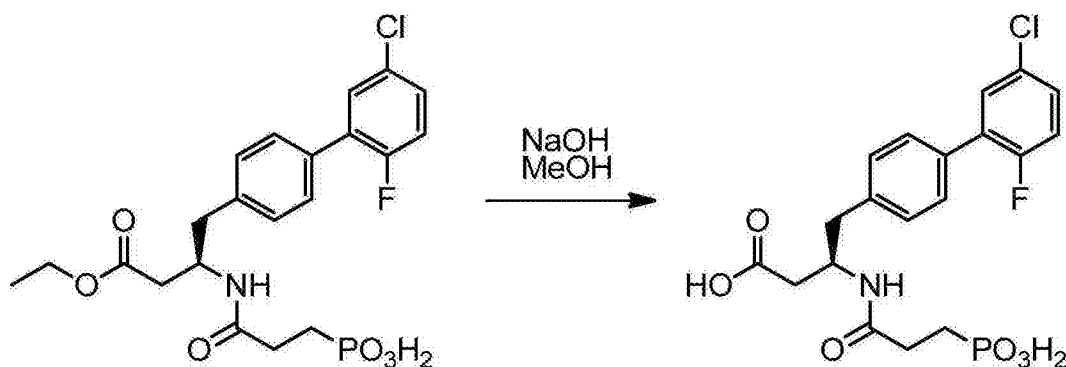
[0308]



[0309] A : (R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-乙氧基-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)磷酸

[0310] 将 (R)-3-氨基-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸乙酯 (114mg, 0.306mmol)、3-膦酰基丙酸 (47.2mg, 0.306mmol)、EDC (58.7mg, 0.306mmol) 和 HOBT (46.9mg, 0.306mmol) 的大多数溶于 DMF (1mL), 并且加入 DIPEA (0.321mL, 1.837mmol)。搅拌反应混合物, 并且在 70°C 加热约 18 小时, 然后过滤, 并且用 HPLC 纯化: 30-80% ACN/H<sub>2</sub>O 0.1% TFA, 40mL/分钟历经 15 分钟, 30×100 Sunfire C18, 产品洗脱约 5.5-8 分钟。将混合级分在 20-55% 的梯度历经 20 分钟再次纯化, 并且产物洗脱 ~ 12.5-13 分钟。将级分蒸发至干, 得到 (R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-乙氧基-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)磷酸 (17mg)。LCMS (ES<sup>+</sup>) C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>ClFNO<sub>6</sub>P: 计算值: 471.1; 实测值: 472.0 [M+H]<sup>+</sup>。

[0311]

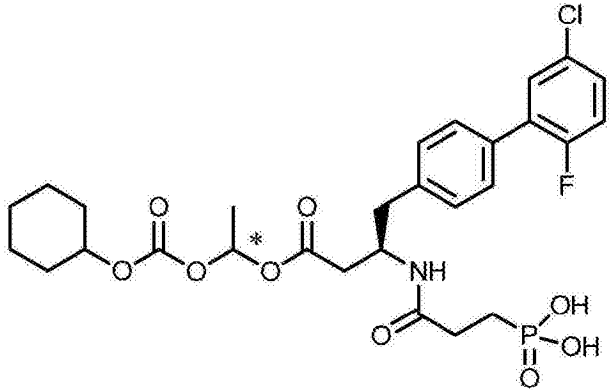
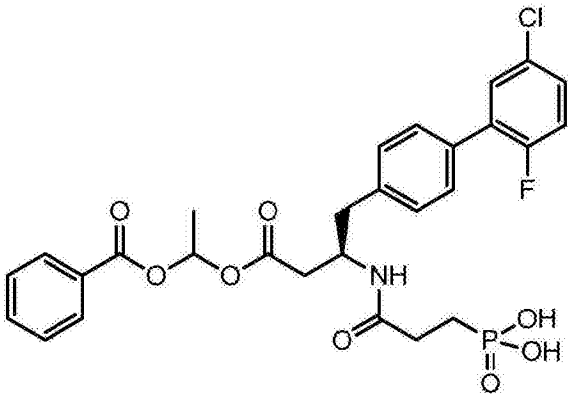


[0312] B : (R)-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-3-(3-膦酰基丙酰氨基)丁酸

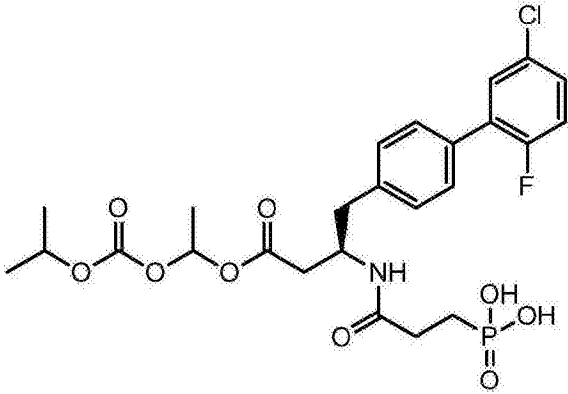
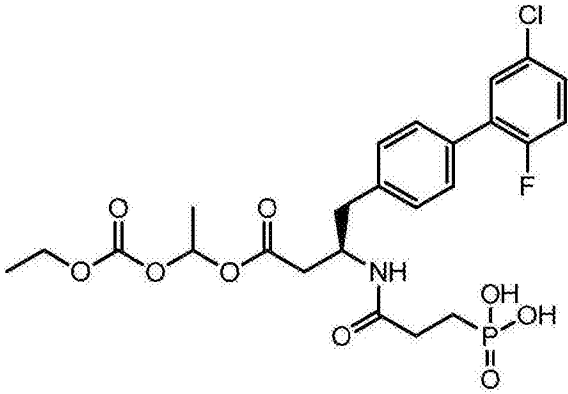
[0313] 将 (R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-乙氧基-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)磷酸 (17mg, 0.036mmol) 与 0.144mL 1 N NaOH、0.288mL 水搅拌, 然后是 0.5mL MeOH。加入另外的 0.2mL 1 N NaOH, 并且将溶液加热至 50°C 达 1 小时。蒸发溶剂, 在 23°C 加入 0.4mL 的 1 N HCl, 并且再次将混合物浓缩至干。加入乙腈, 并且过滤混合物并且通过 HPLC 纯化: 20-55% ACN/H<sub>2</sub>O 0.1% TFA, 历经 8 分钟, 40mL/分钟 30×10 SunfireC18, 在 7-7.5 分钟洗脱产物。(R)-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-3-(3-膦酰基丙酰氨基)丁酸 (3.3mg)。LCMS (ES<sup>+</sup>) C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ClFNO<sub>6</sub>P: 计算值: 443.1; 实测值: 444.1 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR (MeOD) δ: 7.46-7.41 (m, 3H), 7.37-7.35 (m, 2H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.16 (dd, J = 10.2, 8.8Hz, 1H), 4.44 (m, 1H), 3.01 (dd, J = 13.5, 5.5Hz, 1H), 2.83 (dd, J = 21.3, 7.8Hz, 1H), 2.44-2.31 (m, 4H), 1.73-1.62 (m, 2H)。

[0314] 实施例 3.1-3.15 根据实施例 1 中描述的方法制备。实施例 3.1 使用来自 Chiralpak ID 柱庚烷/TBME 98:2 的第一洗脱异构体制备。

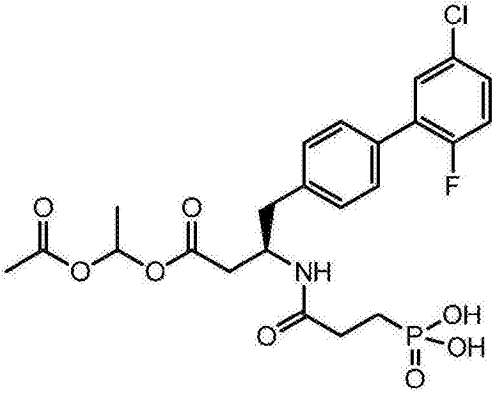
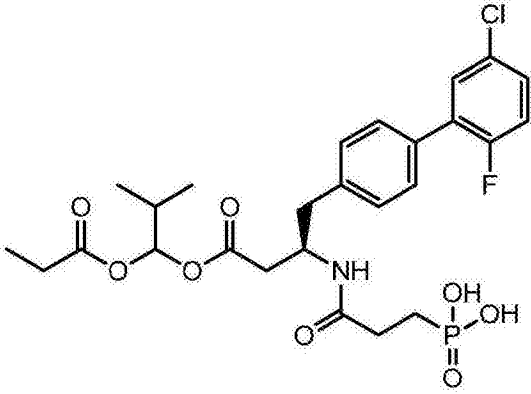
[0315]

实施 例	结构/名称	LCMS: ES+ [M+H] <sup>+</sup> (r.t.)
3.1	 <p>(3-(((2R)-1-(5'- 氯 -2'- 氟 -[1,1'- 联 苯 ]-4-基)-4-(1-(((环己基氧基)羰基)氧基)乙氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)磷酸</p>	614.3 (1.21)
3.2	 <p>(3-(((2R)-4-(1-(苯甲酰基氧基)乙氧基)-1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)磷酸</p>	592.2 (1.24)

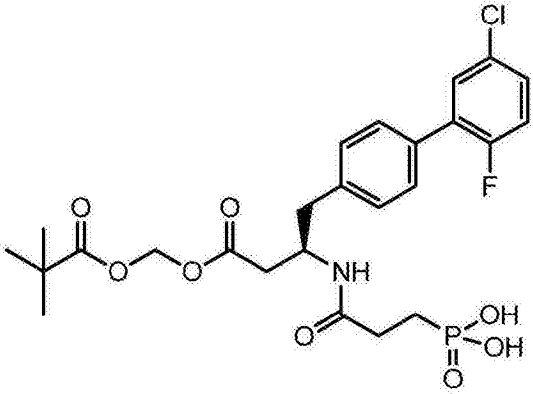
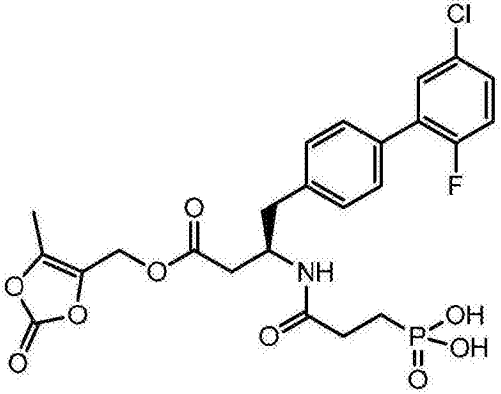
[0316]

3.3	 <p><b>((10R)-10-((5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)甲基)-2,6-二甲基-4,8,12-三氧代-3,5,7-三氧杂-11-氮杂四癸-14-基)膦酸</b></p>	<p><b>574.2</b> <b>(1.21 分钟)</b></p>
3.4	 <p><b>((10R)-10-((5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)甲基)-6-甲基-4,8,12-三氧代-3,5,7-三氧杂-11-氮杂四癸-14-基)膦酸</b></p>	<p><b>560.2</b> <b>(1.17 分钟)</b></p>

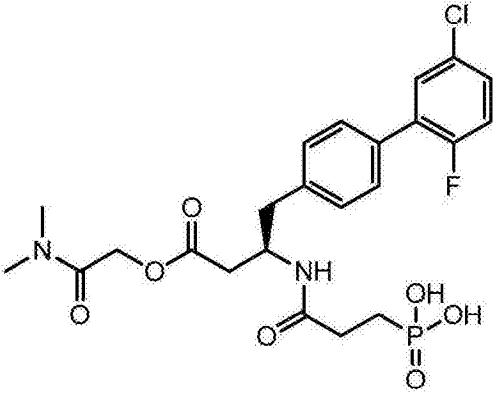
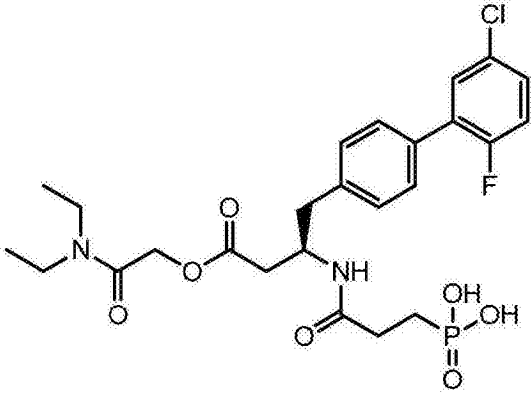
[0317]

3.5	 <p>(3-(((2R)-4-(1-乙酰氧基乙氧基)-1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸</p>	530.0 (1.11 分钟)
3.6	 <p>((10R)-10-((5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)甲基)-2,6-二甲基-4,8,12-三氧代-3,5,7-三氧杂-11-氮杂四癸-14-基)膦酸</p>	572.2 (1.25 分钟)

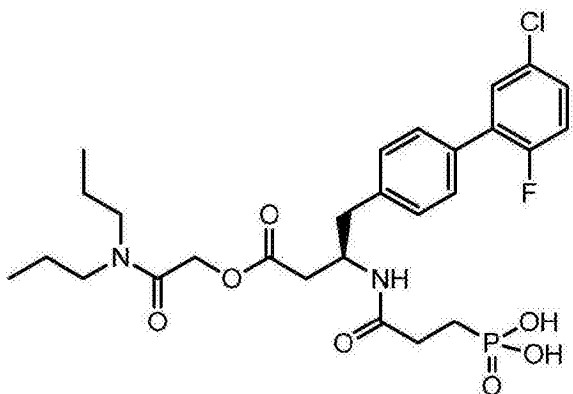
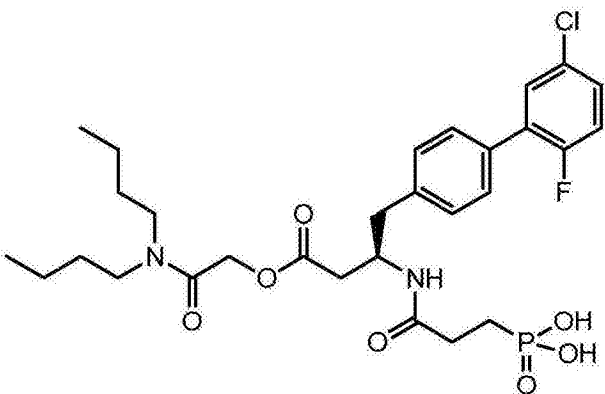
[0318]

3.7	 <p>(R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-氧代-4-((新戊酰基氧基)甲氧基)丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)磷酸</p>	558.2 (1.21 分钟)
3.8	 <p>(R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-((5-甲基-2-氧代-1,3-间二氧杂环戊烯-4-基)甲氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)磷酸</p>	556.1 (1.11 分钟)

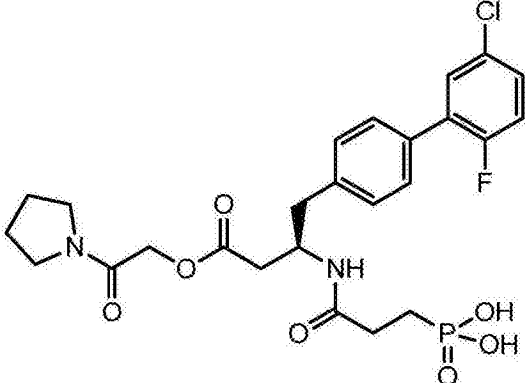
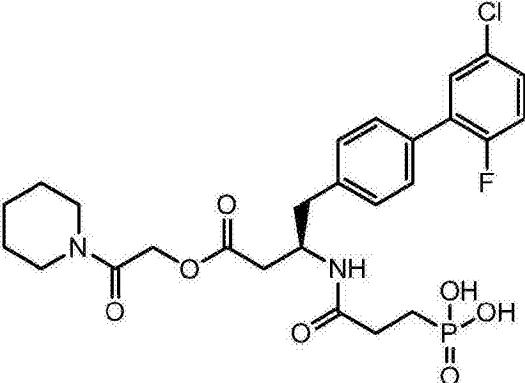
[0319]

3.9	 <p>(R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-(2-(二甲基氨基)-2-氧代乙氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸</p>	529.1 (1.01 分钟)
3.10	 <p>(R)-2-(二乙基氨基)-2-氧代乙基 3-(3-(双(2-(二乙基氨基)-2-氧代乙氧基)磷酰基)丙酰氨基)-4-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)丁酸酯</p>	557.1 (1.09 分钟)

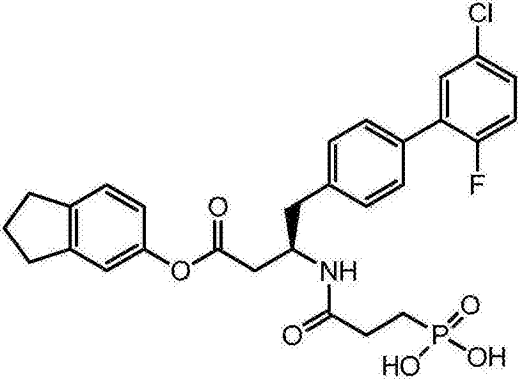
[0320]

3.11	 <p>(R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-(2-(二丙基氨基)-2-氧代乙氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸</p>	585.2 (1.19 分钟)
3.12	 <p>(R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-(2-(二丁基氨基)-2-氧代乙氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸</p>	613.3 (1.28 分钟)

[0321]

3.13	 <p>(R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-氧代-4-(2-氧代-2-(吡咯烷-1-基)乙氧基)丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸</p>	555.1 (1.06 分钟)
3.14	 <p>(R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-氧代-4-(2-氧代-2-(哌啶-1-基)乙氧基)丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸</p>	569.2 (1.11 分钟)

[0322]

3.15	 <p data-bbox="304 636 1161 801"><b>(R)-3-((1-(5'-氯-2'-氟-[1,1'-联苯]-4-基)-4-((2,3-二氢-1H-茚-5-基)氧基)-4-氧代丁-2-基)氨基)-3-氧代丙基)膦酸</b></p>	560.1 (1.28 分钟)
------	--	--------------------

[0323] 可以看出,本发明化合物可用作中性内肽酶活性抑制剂,因此可用于治疗与中性内肽酶的活性相关的疾病和病症,例如本文所公开的疾病。

[0324] 此外,本发明的化合物不会引起 CNS 中 A $\beta$  肽浓度的增加或仅很小地引起 CNS 中 A $\beta$  肽浓度的增加,并且可能提供有益的安全性。

[0325] 应理解的是,本发明仅通过实施例的方式予以描述,并且可以在本发明的范围和精神内进行修饰。

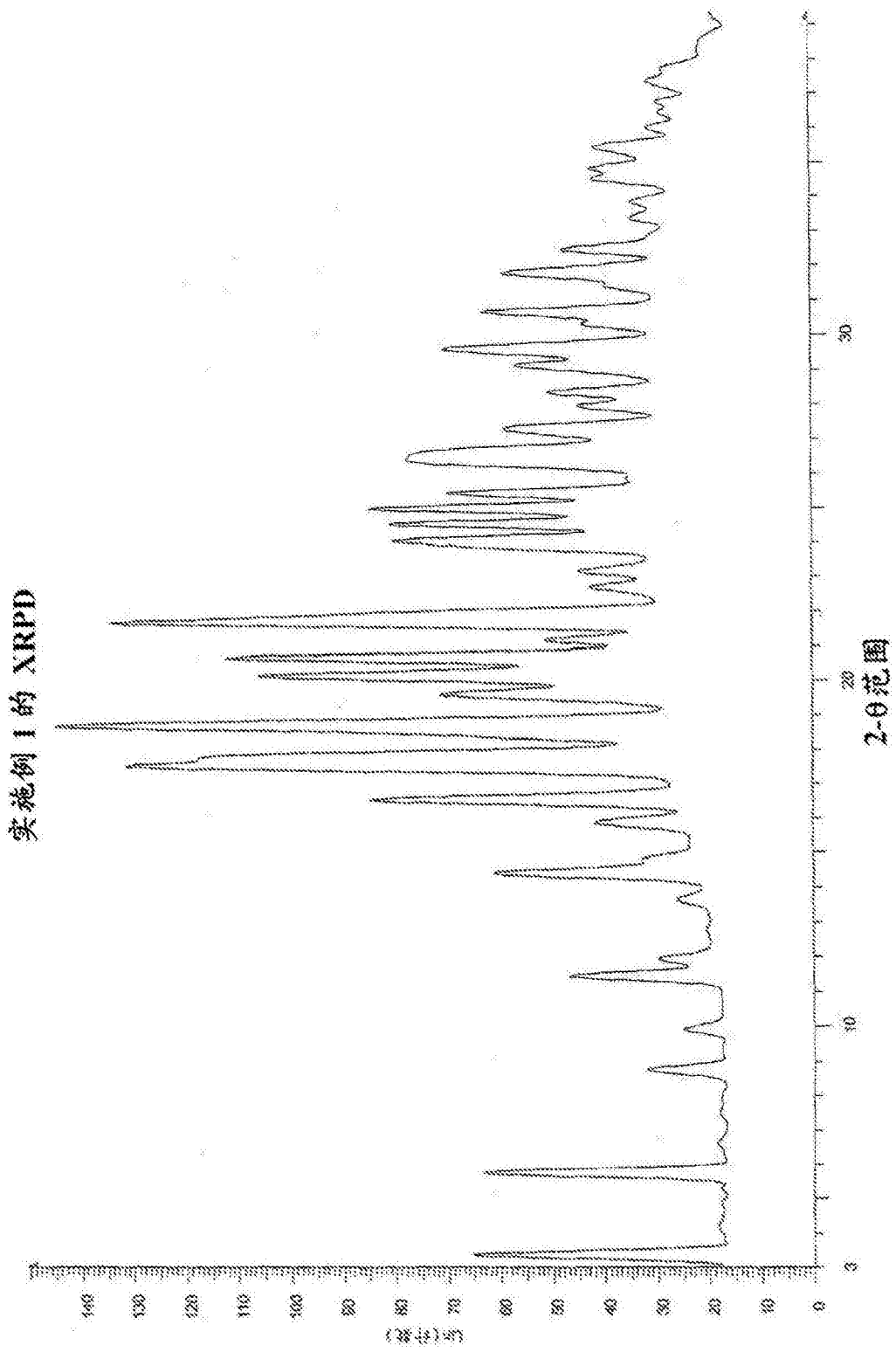


图 1

实施例 1 的 DSC 和 TGA

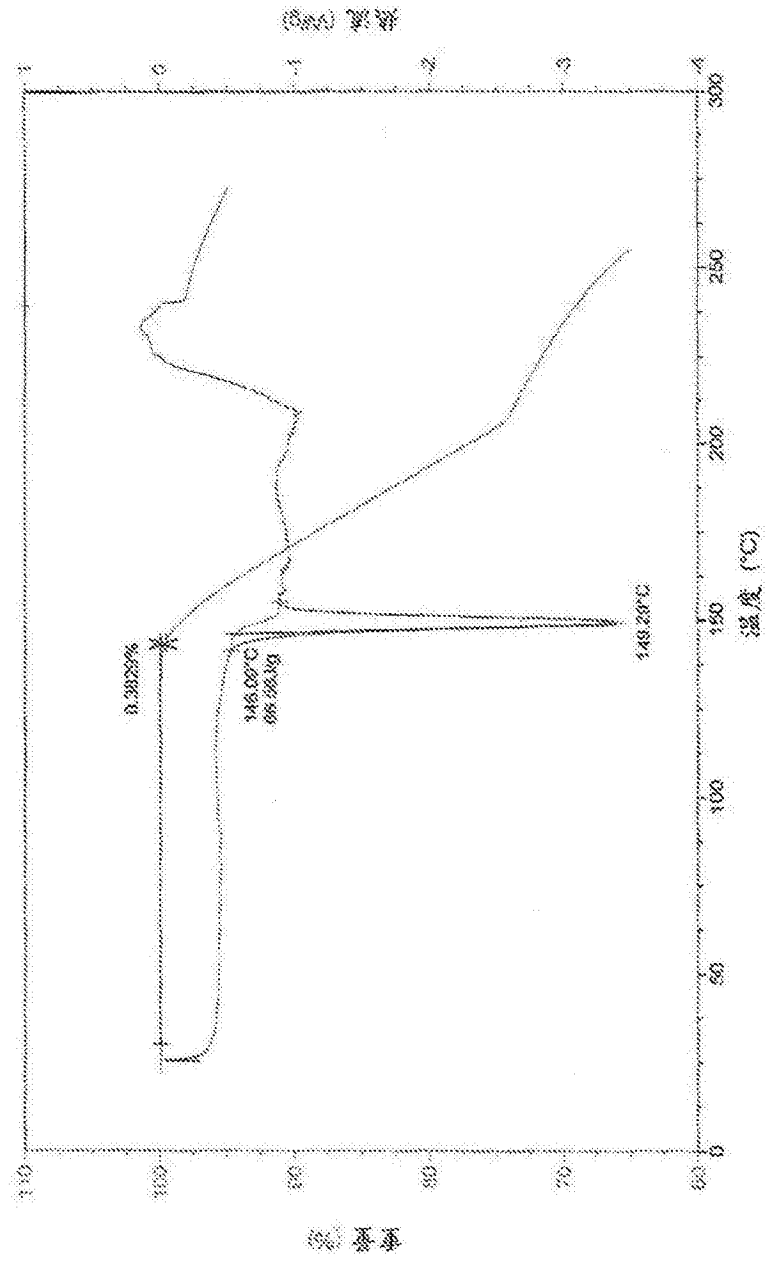


图 2