

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷
C07D285/10 C07K 5/062
A61K 31/41 A61K 38/05

[12]发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 97181245.4

[45]授权公告日 2002 年 11 月 27 日

[11]授权公告号 CN 1094931C

[22]申请日 1997. 11. 12 [21]申请号 97181245.4
[30]优先权
[32]1996. 11. 14 [33]IT [31]MI96A002368
[86]国际申请 PCT/EP97/06311 1997. 11. 12
[87]国际公布 WO98/21193 英 1998. 5. 22
[85]进入国家阶段日期 1999. 7. 5
[73]专利权人 尼科克斯公司
地址 法国巴黎
[72]发明人 P·德索尔达托
[56]参考文献
EP - A - 637583 1995. 2. 8 _
WO - A - 9530641 1995. 11. 16 _
审查员 周胡斌

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 谭明胜

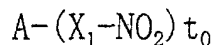
权利要求书 8 页 说明书 21 页

[54]发明名称 抗血栓有机硝酸酯
[57]摘要

通式: A - (X₁ - NO₂)_{t₀} 化合物、或其组合物或其盐,
其中, t₀是等于 1 或 2 的整数; X₁是桥连链烯基, A 是心
血管产物的残基, 优选噻吗心安或依那普利。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 通式化合物或其盐:



5 其中, t_0 是等于 1 或 2 的整数;

$A=RN_0$ 其中, $N_0=(COX_u)_t$ -或 $COON_1$ 其中 t 是等于 0 或 1 的整数; u 是等于 0 或 1 的整数;

$X=O$ 、 NH 、 NR_{1c} , 其中 R_{1c} 是具有 1-10 个碳原子的线性或分支的烷基;

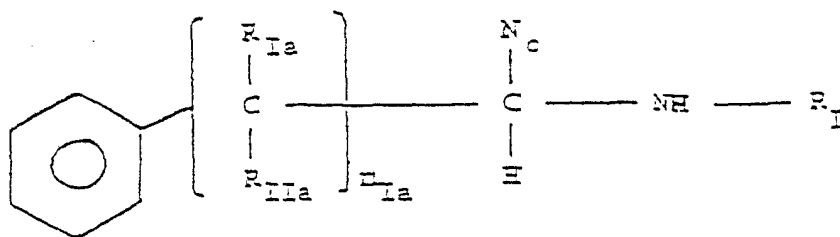
N_1 是具有 1-10 个碳原子的线性或分支的烷基或氢;

10 R 选自下述基团:

*组 A)

Ia)

15

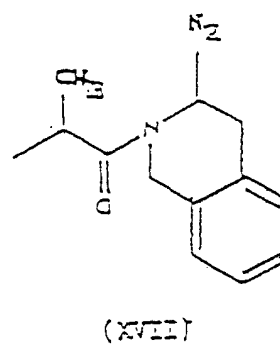
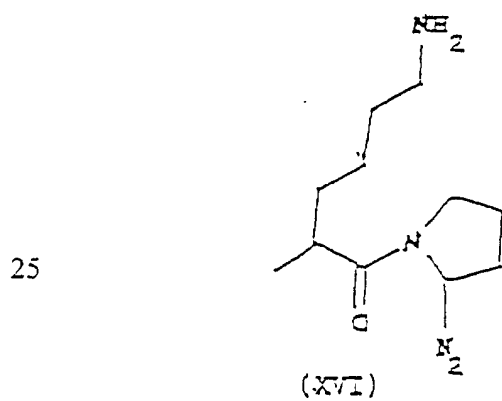
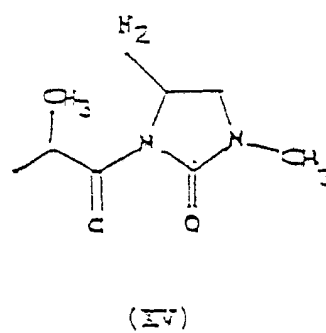
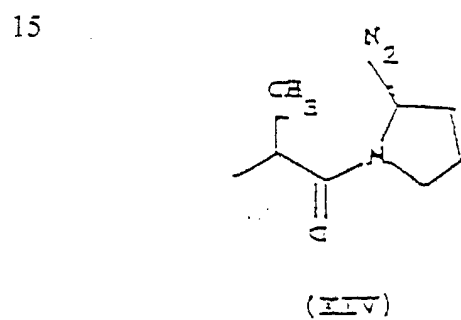
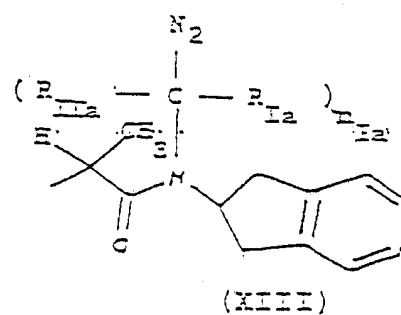
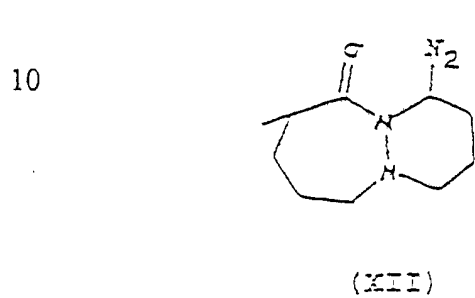
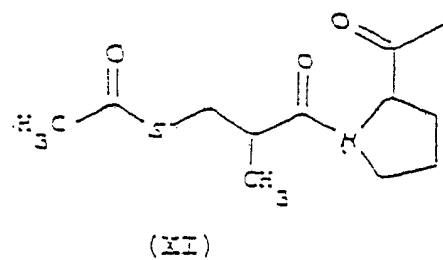
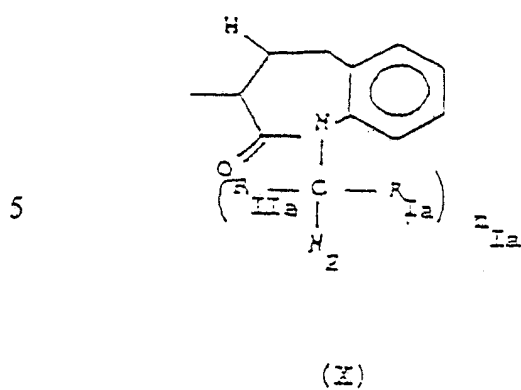


其中 R_{Ia} 和 R_{IIa} 相同或彼此不同, 为 H 或具有 1-3 个 C 原子的线性或各种可能的分支烷基, n_{Ia} 是 1-6 的整数,

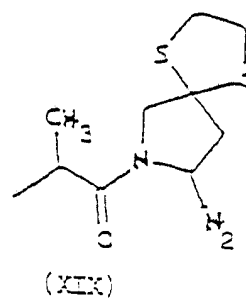
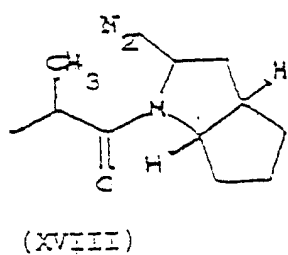
20

R_I 可以是:

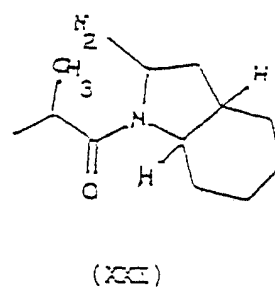
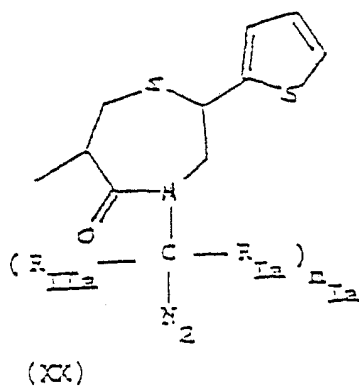
25



5



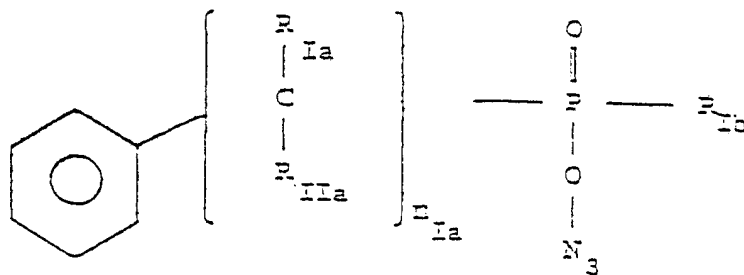
10



15 其中, N_2 具有与 N_0 相同的定义; 至少 N_0 或 N_2 基团之一具有可以与 X_1 结合的一个自由价,

Ib)

20



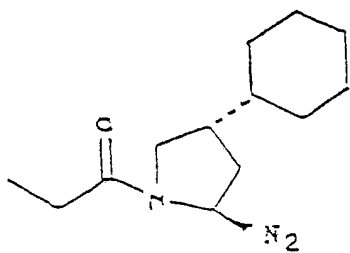
R_{Ia} 、 R_{IIa} 和 n_{Ia} 如 I_a 定义;

N_3 是 H、 $(CH_3)_2CH-CH-OCOCH_2CH_3$ 、或结合 X_1 的自由价;

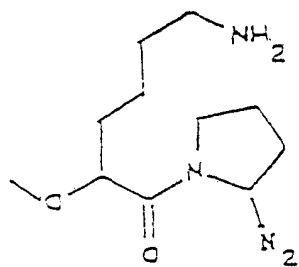
25

R_{Ib} 选自:

5



V)

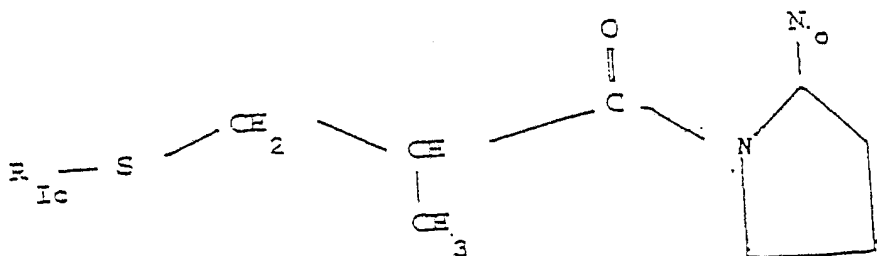


VI)

N_2 如上定义, 其中至少 N_3 或 N_2 基团之一具有可以与 X_1 结合的自由价
当为 N_2 时, $t=1$;

Ic) 当 $t=1$ 时

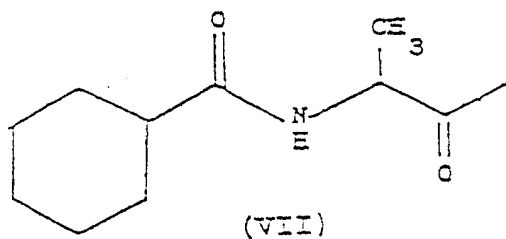
10



15

其中 N_0 如上定义, 其中 $t=1$, 即它具有可以与 X_1 结合的自由价;
 R_{Ic} 选自 H、 $-\text{COCH}_3$ 、或

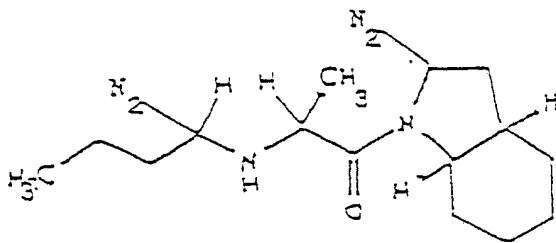
20



(VII)

Id)

25



其中, N_2 如上定义, 至少 N_2 基团中的一个具有可以与 X_1 结合的自由

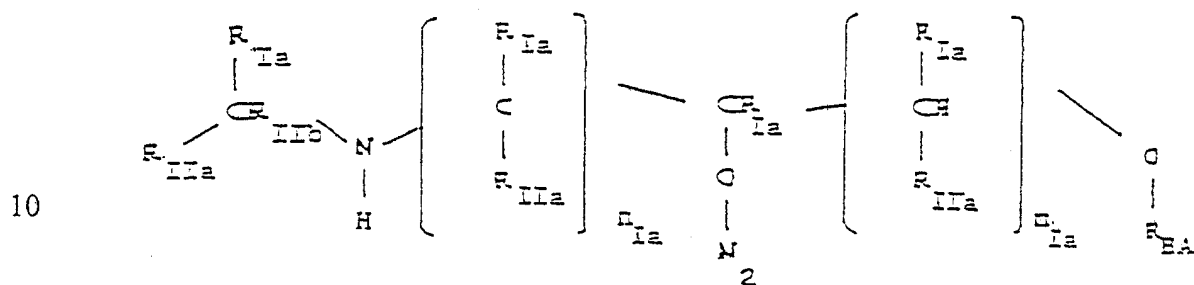
价;

当在基团 Ic/R_{Ic} , 是 H 或 $COCH_3$ 时, X 不能是 NH.

*组 B

其中 $t=1$ 及 $u=0$;

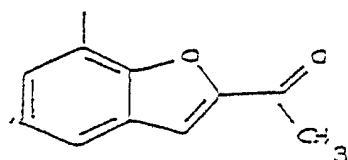
5 IIa)



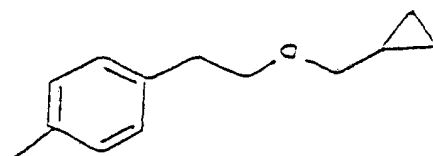
其中, R_{Ia} 、 R_{IIa} 如 Ia) 所定义;

R_{IIb} 具有 R_{Ia} 的定义

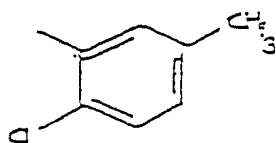
15 R_{Ba} 选自:



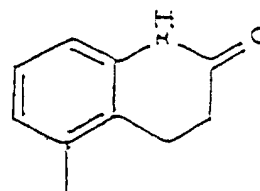
I)



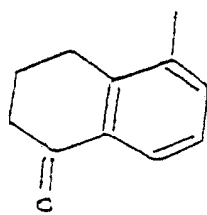
II)



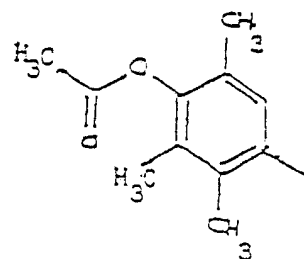
III)



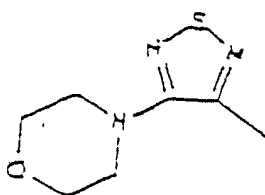
IV)



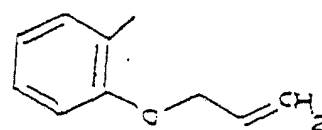
LIV)



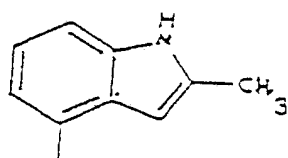
LV)



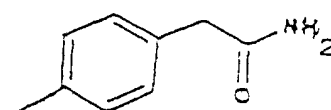
LVI)



LVII)

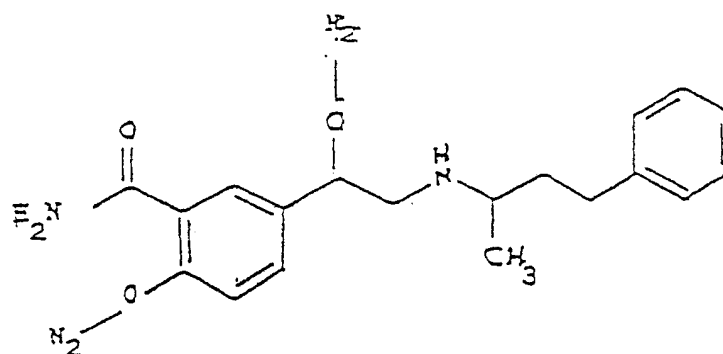


LVIII)



LIX)

IIb)

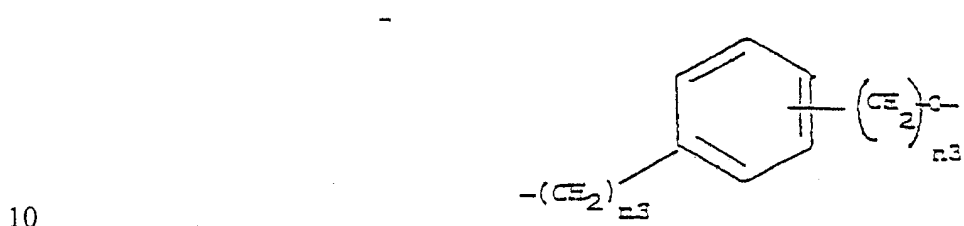


其中, 在组B)中, N_2 如上定义, 至少 N_2 基团中的一个具有可以与 X_1 结合的自由价即至少一个 N_2 取代基为 $t=1$;

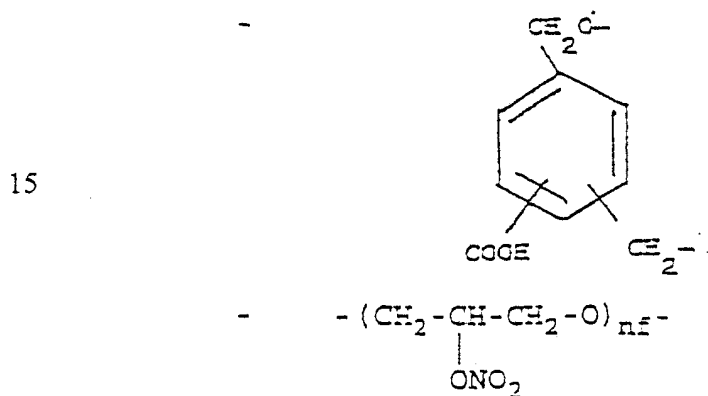
X_1 是选自下述基团的桥连双键:

Y0, 其中Y是线性或任何可能的分支的 C_1-C_{20} 亚烷基, 或具有5-7个碳原子的任选取代的环烯基;

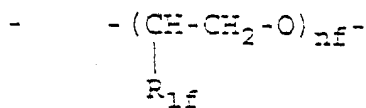
Y_1 选自:



其中 n_3 是 0-3 的整数;



20 其中, nf' 是 1-6 的整数;



其中, $R_{1f}=H, CH_3$ 及 nf 是 1-6 的整数。

2. 按照权利要求1的化合物, 其中 $R, R_I, R_{Ib}, R_{Ic}, R_{BA}$ 及化合物 Id)和 IIb)为下述化合物的残基: 阿拉普利、苯扎普利、卡托普利、先纳普利、西拉普利、地拉普利、依那普利、依那普利酯、福辛普利、咪哒普利、赖诺普利、奎纳普利、拉米普利、罗拉普里、

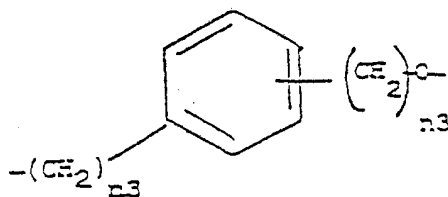
替莫普利、群多普利、莫替普利、哌道普利、苯呋心安、倍它洛尔、
氯甲苯心安、喹酮心安、左布诺洛尔、三甲苯心安、
噻吗心安、心得平、甲唎啉心安、阿替洛尔、柳胺苄心安。

3. 按照权利要求 1 或 2 的化合物, 其中 X_1 选自:

5 Y_0 , 其中 Y 是线性或任何可能分支的 C_1-C_{20} 亚烷基, 或具有 5-7
个碳原子的任选取代的环烯基;

Y_1 选自:

10



其中 n_3 是 0-3 的整数;

4. 一种药物组合物, 含有作为活性成分的权利要求 1-3 任一权
利要求的化合物。

15 5. 权利要求 1-3 的化合物在制备抗血栓剂药物中的用途。

6. 权利要求 1-3 的化合物在制备抗高血压药物中的用途。

7. 权利要求 1-3 的化合物在制备心血管保护剂药物中的用途。

抗血栓有机硝酸酯

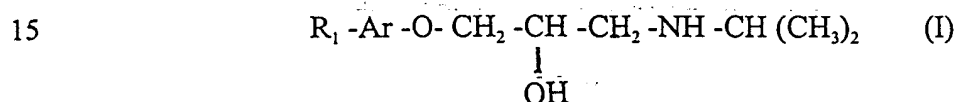
5 本发明涉及新的具有抗血栓活性的化合物。

环氧化酶(COX)抑制抗炎产物在称作公开发表的在先专利申请中是已知的。具体见公开的专利申请 WO 94/04484, WO 94/12463, WO 95/09831, WO 95/30641。这些专利申请涉及具有非酸性端基的非甾体抗炎产物及涉及具有酸性端基的称作本领域公知的产物的那些化合物。

所述产物与不含-ONO₂基的参照产物对比显示极低的毒性。

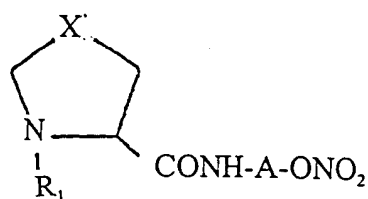
WO 95 30641 公开具有 COX 抑制活性和具有抗血栓及抗高血压活性的化合物。

EP 637583 涉及通式的 1-芳烷基-3-烷基氨基-2-丙醇硝酸酯:



其中, R₁ 是 -(CH₂)_m-Z-R₂, m 是 1 或 2, Z 是 -O-醚, -CONH 酰胺或 -COO-酯官能基, R₂ 是 C₂₋₃ 直链或支链烷基。具有至少一个硝酰基。所述化合物作为心血管领域的药物是有用的。

20 WO 97 31896 公开下式的衍生物:



25

其中, X 是 -CH₂-, -O-, -S-; R₁ 表示具有一个或多个取代基的链烷酰基。A 表示亚烷基或 -B-D-E 基团(其中, B 和 E 可以相同或不同并分别代表单键或亚烷基, 及 D 代表由芳基任选取代的环烯基)。

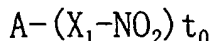
所述化合物具有血管舒张和抗心绞痛的作用并可用于心绞痛的预防和治疗。

对于具有抗血栓活性同时具有长期治疗较低的毒性的可获得的产物的需求是迫切的。尤其是，抗血栓剂的有效性和安全性是密切相关的，研究的目的是发现新的具有增加治疗指数，即具有改进的效果和减低的毒性的分子 (Goodman & Gilman: “治疗的药理学基础”, Ed. J. Hardman 编辑, L. Limbrid, 1357 页, 1996 年)。

令人意外的发现，如下定义的本发明产物在抑制由不同种类的刺激物，尤其是胶原和凝血酶诱导的血小板聚集是有效的，并且同时，通常显示高的安全性，特别是高的胃的安全性，在治疗的动物中不产生胃肠道粘膜的损伤。

本发明的结果是非常令人吃惊的，本发明的新的一类产物不是环氧化酶 (COX) 抑制剂产物，因而，不能以任何形式归为已知领域所述的产物，尤其是上述专利的产物。

本发明的目的是用作药物，特别是因其有效抑制血小板聚集而用作抗血栓剂的具有下述通式的化合物和其组合物，及其盐：



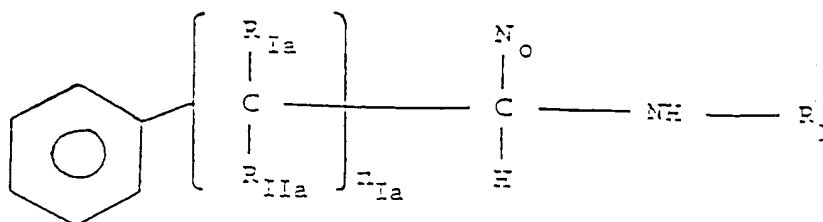
其中， t_0 是等于 1 或 2 的整数；

$A=RN_0$ 其中， $N_0=(COX_u)_t-$ 或 $COON_1$ (其中 t 是等于 0 或 1 的整数)； u 是

等于0或1的整数; $X=O, NH, NR_{1c}$ 其中, R_{1c} 是具有1-10个碳原子的线性或分支的烷基; N_1 是具有1-10个碳原子的线性或分支的烷基或氢; R 选自下述基团:

*组 A)

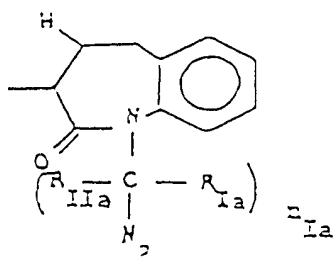
5 Ia)



10

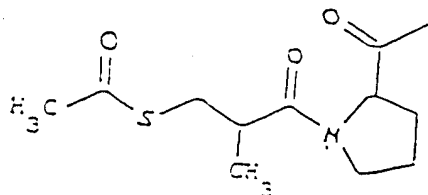
其中 R_{Ia} 和 R_{IIa} 相同或彼此不同, 为 H 或具有 1-3 个 C 原子的线性或各种可能的分支烷基, 优选 $R_{Ia}=R_{IIa}=H$; n_{Ia} 是 1-6 的整数, 优选 2-4; R_I 可以是:

15



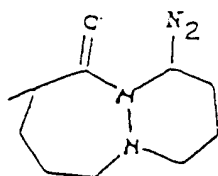
20

(X)

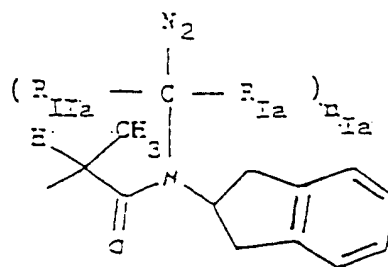


(XI)

25

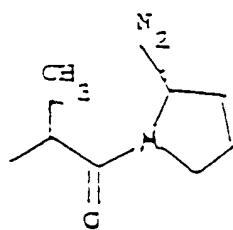


(XII)

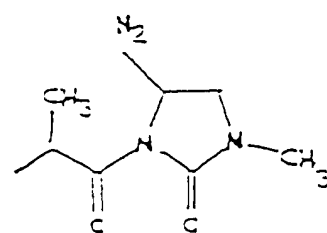


(XIII)

5

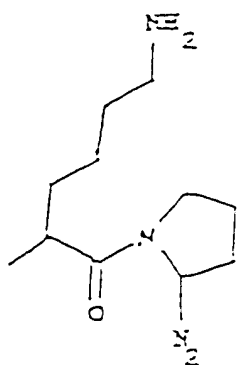


(XIV)

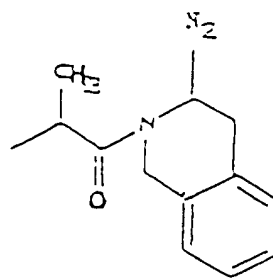


(XV)

10

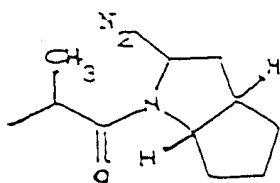


(XVI)

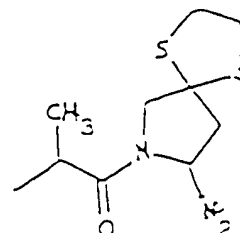


(XVII)

15

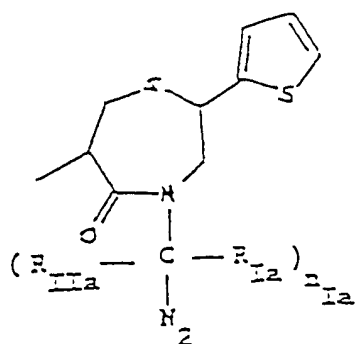


(XVIII)

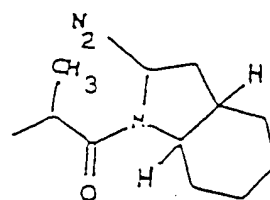


(XIX)

20



(XX)



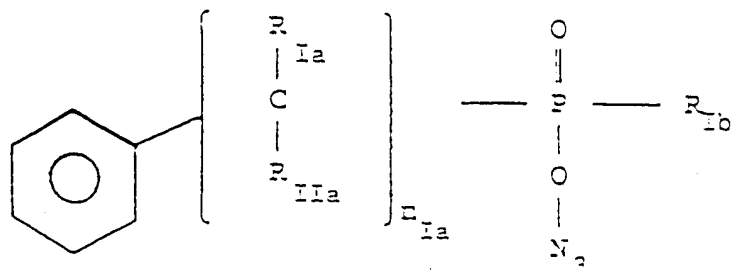
(XXI)

25

其中, N_2 具有与 N_0 相同的定义; 至少 N_0 或 N_2 基团之一具有一个可以与 X_1 结合的自由价, (即 $t=1$)

Ib)

5



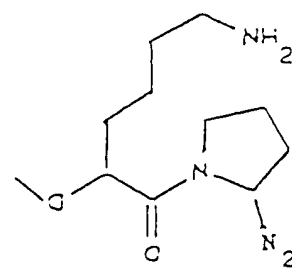
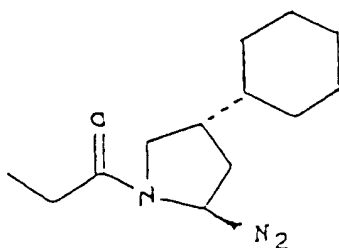
10

R_{Ia} 、 R_{IIa} 和 n_{Ia} 如 I_a 如定义;

N_3 是 H、 $(CH_3)_2CH-CH-OCOCH_2CH_3$ 、或结合 X_1 的自由价 (即 N_3 不存在);

R_{Ib} 选自:

15



20

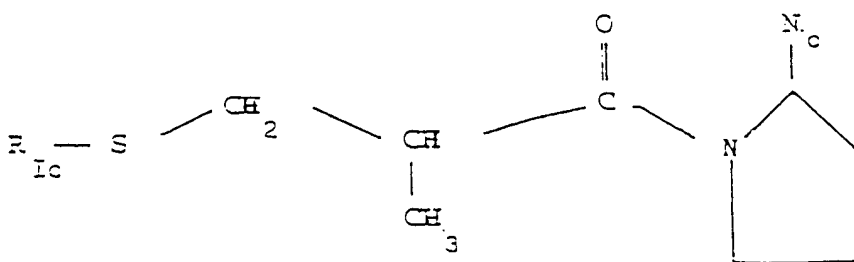
V)

VI)

N_2 如上定义, 其中至少 N_3 或 N_2 基团之一具有可以与 X_1 结合的自由价 (当为 N_2 时, $t=1$);

Ic) 当 $t=1$ 时

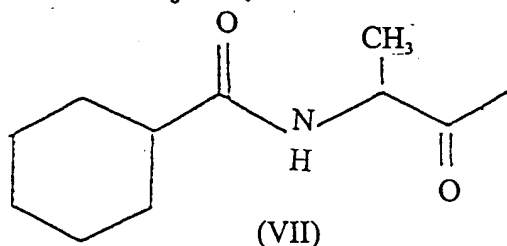
25



其中 N_0 如上定义, 其中 $t=1$, 即它具有可以与 X_1 结合的自由价;

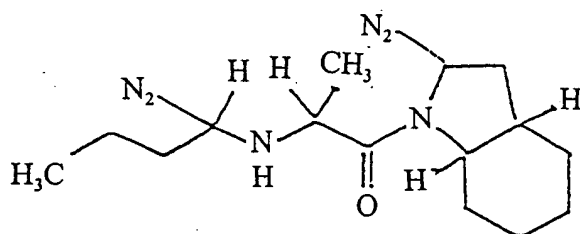
R_{Ic} 选自 H 、 $-COCH_3$ 、或

5



Id)

10



15 其中, N_2 如上定义, 至少 N_2 基团中的一个具有可以与 X_1 结合的自由价 ($t=1$);

当在基团 Ic/R_{Ic} , 是 H 或 $COCH_3$ 时, X 不能是 NH .

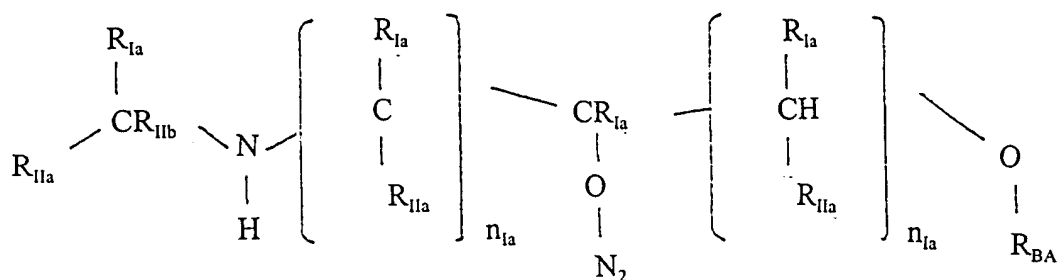
***组 B**

其中 $t=1$ 及 $u=0$;

20

IIa)

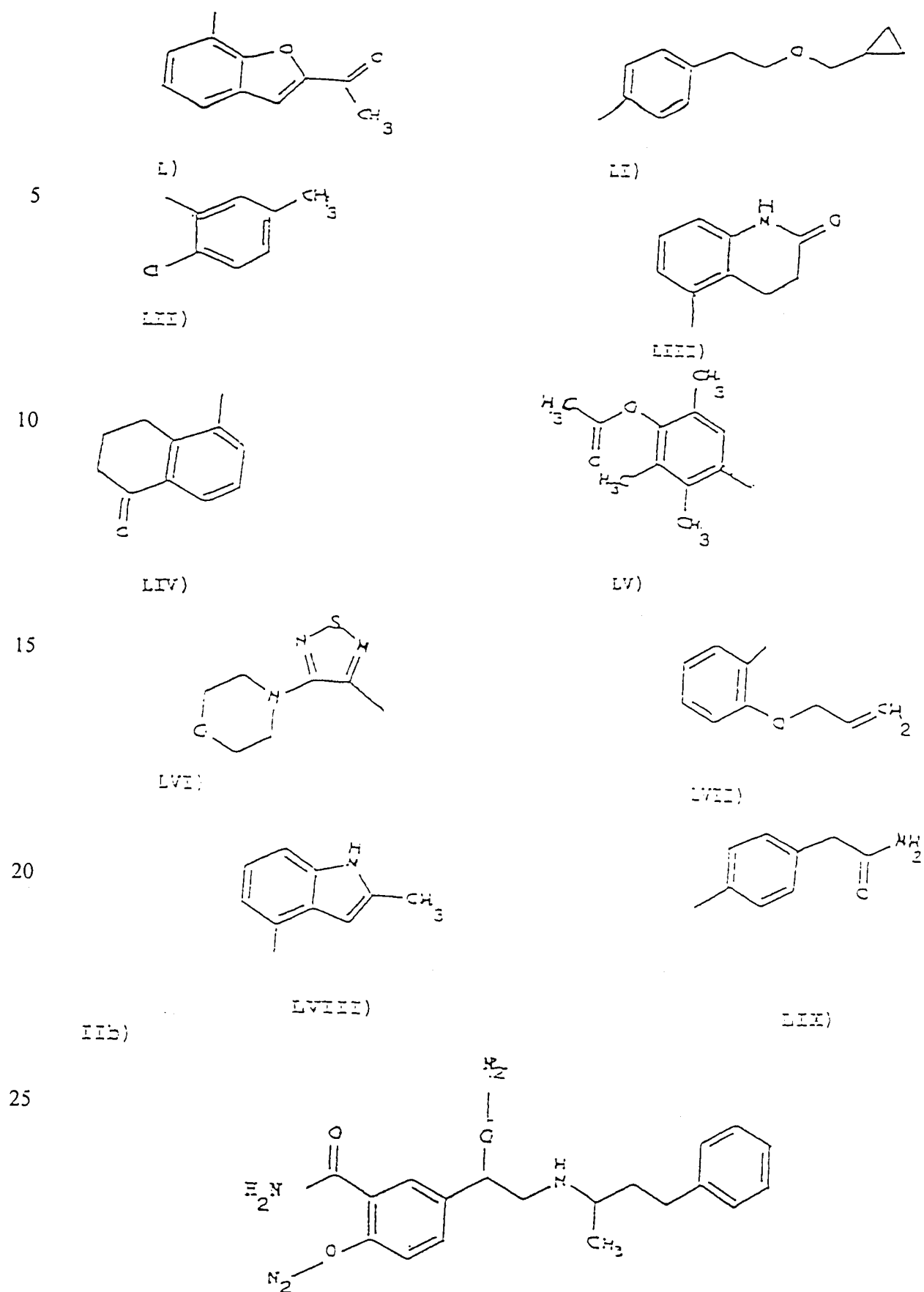
25



其中, R_{Ia} 、 R_{IIa} 如 Ia) 所定义;

R_{IIb} 具有 R_{Ia} 的定义

R_{BA} 选自:

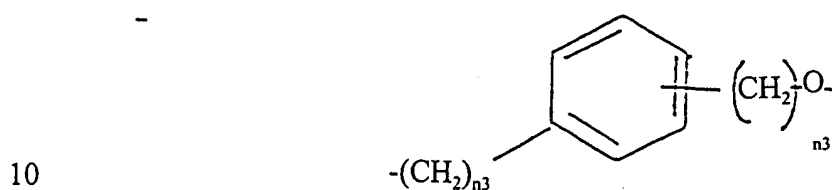


其中, 在组 B) 中, N_2 如上定义, 至少 N_2 基团中的一个具有可以与 X_1 结合的自由价(即, 至少一个 N_2 取代基为 $t=1$);

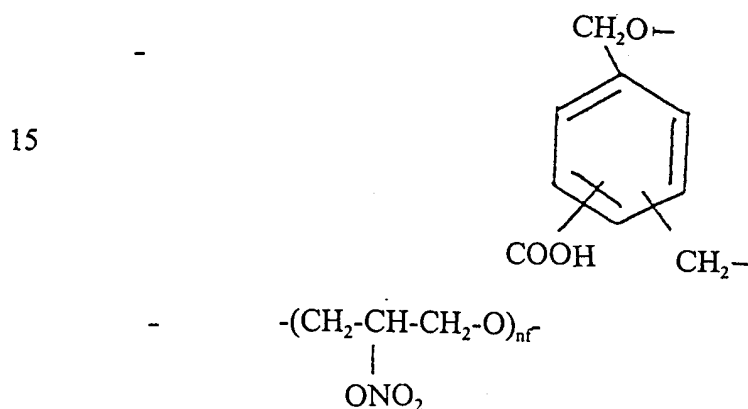
X_1 是选自下述基团的桥连双键:

5 Y_0 , 其中 Y 是线性或任何可能的分支 C_1-C_{20} 亚甲基, 优选具有 2-5 个碳原子, 或具有 5-7 个碳原子的任选取代的环烯基;

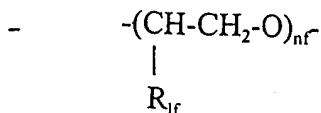
Y_1 选自:



其中 n_3 是 0-3 的整数;



其中, $n_{f'}$ 是 1-6 的整数, 优选 2-4;



其中, $R_{lf}=H, CH_3$ 及 n_f 是 1-6 的整数; 优选 2-4。

可以提及的及优选的化合物是下述化合物, 其中 R 可以通过本领域公知的方法得到。

例如, 在 1996 年的第 12 版《默克索引》中所述的化合物及方法, 可作为前体和相关方法提及。下述

的前体(遵从默克命名法), 其中不同的取代基(见组 A)和组 B))的分子式, 如所列化合物所定义: 阿拉普利(Alacepril)、苯扎普利(Benazepril)、卡托普利、先纳普利(Ceronapril)、西拉普利(Cilazapril)、地拉普利(Delapril)、依那普利(Enalapril)、依那普利酯(Enalaprilat)、福辛普利(Fosinapril)、咪哒普利(Imidapril)、Lisinopril、奎纳普利(Quinapril)、拉米普利(Ramipril)、罗拉普里(Spirapril)、替莫普里(Temocapril)、群多普利(Trandolapril)、莫替普利(Moveltipril)、哌道普利(Perindopril)、苯呋心安(Befunolol)、倍它洛尔(Betaxolol)、氯甲苯心安(Bupranolol)、喹酮心安(Carteolol)、左布诺洛尔(Levobunolol)、三甲苯心安(Metipranolol)、塞吗心安(Timolol)、心得平(Oxprenolol)、甲唛唛心安(Mepindolol)、阿替洛尔(Atenolol)、柳胺苄心定(Labetalol)。

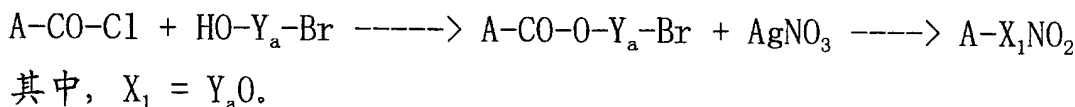
如上定义的桥连 X_1 可用已知技术的方法得到, 或当这些本领域已知方法不同于所提及的专利所述的桥连时, 可修改引入 X_1 桥连的已知方法得到。一般 A 与 X_1 之间的连接为酯或酰胺型 (NH 或 NR_{1c} , 如 X 中所定义)。任何熟知的生成这些键的合成方法均可使用。

在酯的情况下, 大多数直接合成途径包括酰氯 $A-CO-Cl$ 或 $A-(CO-Cl)_2$ 在 $HO-Y_a-Cl$ 、 $HO-Y_a-Br$ 、 $HO-Y_a-I$ 型的卤代醇中的反应, 其中 Y_a 等于如上定义的 Y 或 Y_1 (不存在氧原子-O-), 所用实验条件是已知技术中一部分。

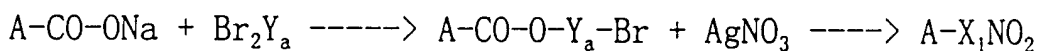
式 $A-CO-O-Y_a-Cl$ (Br, I) 的反应产物也可以通过所述酸 $A-CO-OH$ 的钠或钾盐与通式 Y_aCl_2 、 Y_aBr_2 或 Y_aI_2 的二卤代衍生物反应得到。

按照在先技术的已知方法, 所述反应产物通过在乙腈中与 $AgNO_3$ 反应转变成最终产物。

通用图式如下:

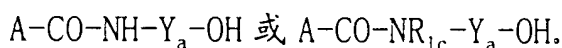


通用图式也可如下:

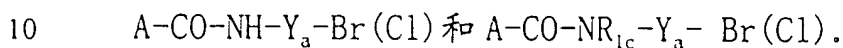


其中, $X_1 = Y_aO$.

在酰胺的情况下, 合成的程序包括按照已知方法, 使相同的酰氯
5 $A-CO-Cl$ 与通式 NH_2-Y_a-OH 或 $NHR_{1c}-Y_a-OH$ 氨基醇反应得到如通式的酰胺:

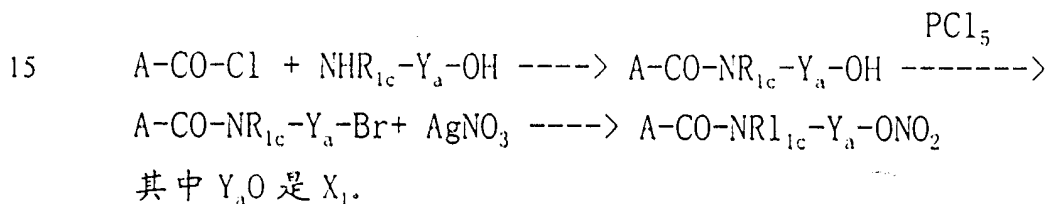


这些酰胺与卤代试剂例如: PCl_5 、 PBr_3 、 $SOCl_2$ 等反应得到通式的
10 卤代衍生物:

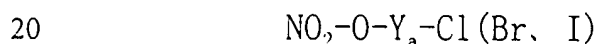


按照已知文献的方法, 使所述的后一产物在乙腈中与 $AgNO_3$ 反应
得到最终产物 AX_1NO_2 .

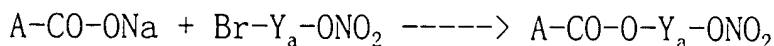
所述程序也可表示如下:



另一条生成酯的途径是酸的钠和钾盐与通式的卤代醇的硝酸酯反
应, 直接得到本发明的产物, 所述通式如下:

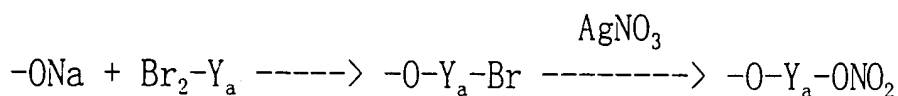


反应图式如下:



其中, Y_aO 是 X_1 .

同上述类似的其它合成路径是由二卤代衍生物 Br_2Y_a 与烯醇化物
25 反应。然后, 按照上述反应, 通过该反应产物在乙腈中与 $AgNO_3$ 反应
而转化。显示属于基团 A 的 $-OH$ 的所述通式如下:



对于 $-OH$ 基的通法在实施例 1 中仅为说明的目的描述。

获得这些连接基团 X_1 的方法在专利申请 WO 95/30641 中有描述。

如上所述的本发明产物作为药物一般是新的。尤其是，它们的抗血栓的活性是新的，并且作为此种化合物也是新的。

对于本发明产物的可提及的其它药用用途是，例如其抗高血压活性(例如，动脉高血压、青光眼)及其心脏保护活性(例如，心绞痛、心力衰竭、冠状局部缺血)。

对于抗高血压活性应该指出的是，本发明产物对比不含 $-ONO_2$ 基团的前体物，显示非常满意的药物-治疗分布图式和改善的效果，同时，显示优越的安全性。

也应该注意到本发明产物显示抗高血压活性和抗血栓活性。一般来说，治疗心血管疾病是明显的优点，因为任何治疗研究的目的是确保患者整体减少心血管疾病的危险，如心肌或大脑梗塞以及动脉粥样硬化(Goodman & Gilman “治疗的药理学基础”，J. Hardman 编辑，L. Limbrid, 747 页、1354-7, 1996)。

提供下述实施例作为解释而不是限制本发明。

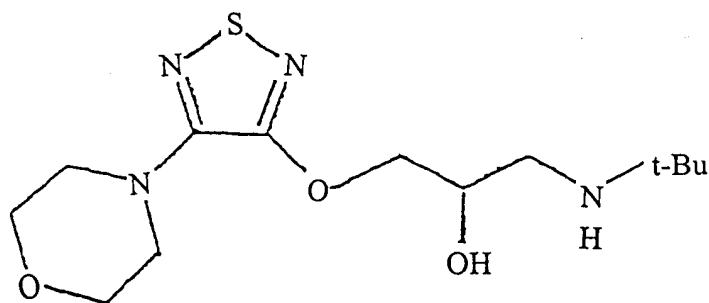
实施例

实施例 1: NO-噻吗心安(NO-TIM)的化学合成及其特性

1-[(1,1-二甲基)氨基]-3-{[4-(4-吗啉基)-1,2,5-噻二唑-3-基]氧基}-2-丙基马来酸酯的(R)-(4-硝酰基)丁酸酯的合成

其始点是噻吗心安的马来酸酯(商业化产物)，所述噻吗心安具有通式：

a)

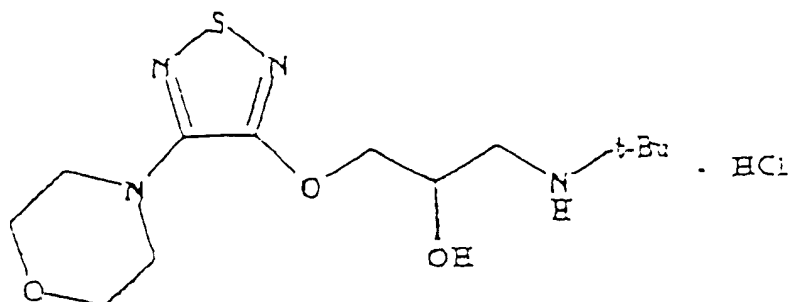


(S)-1-[(1,1-二甲基乙基)氨基]-3-{[4-吗啉基]-1,2,5-噻二唑-3-基}氧基}-2-丙醇

用 10% NaOH(30 ml) 的溶液处理噻吗心安的马来酸酯(2.0 g)。
加入 30 ml CH₂Cl₂, 然后分层。水相用 CH₂Cl₂ 提取数次。干燥(Na₂SO₄)
5 混合的(pooled)有机相, 减压蒸除溶剂, 得到 1.4 g 纯产物(得率 96%)。

¹H NMR(300 MHz CDCl₃): δ 1.05(9H, s, 3CH₃), 2.7(2H, 2dd, CH₂-NH),
3.5(4H, m, 吗啉), 3.8(4H, t, 吗啉), 3.85(1H, m, CH), 4.4(2H,
2dd, O-CH₂)。

b)



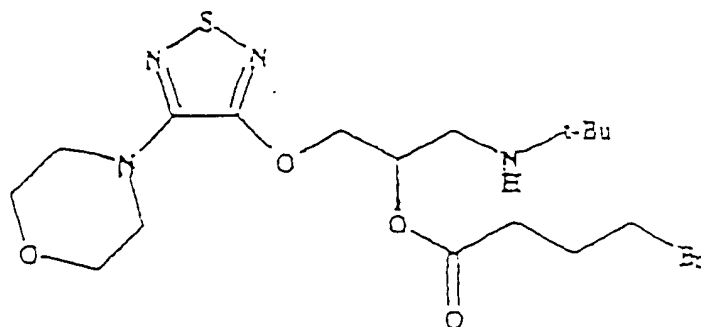
(S)-1-[(1,1-二甲基乙基)氨基]-3-{[4-(4-吗啉基)-1,2,5-噻二唑-3-基}氧基}-2-丙醇盐酸盐

将在异丙醇中的 0.8 ml 的 7M HCl 溶液, 在磁力搅拌下滴加至在
20 异丙醇(30 ml) 中的噻吗心安 (1.4 g) 溶液中。搅拌该溶液 30 分钟。
将该反应混合物减压除去溶剂。得到 1.47 g 纯产物(得率 91%)。

¹H NMR(300 MHz CDCl₃): δ 1.45(9H, s, 3CH₃), 3.05(2H, 2dd, CH₂-
NH), 3.5(4H, t, 吗啉), 3.8(4H, t, 吗啉), 4.5(2H, d, O-CH₂),
4.55(1H, m, CH)。

c)

5



1-[(1,1-二甲基乙基)氨基]-3-[[4-(4-吗啉基)-1,2,5-噻二唑-3-基]氧基]-2-丙基的(R)-(4-溴代)丁酸酯

10

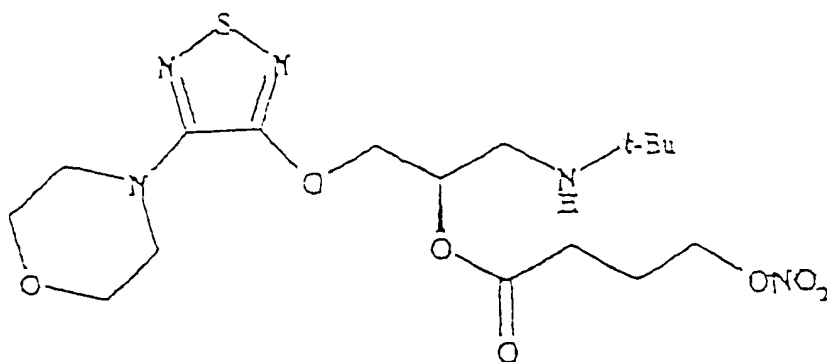
在氮气下,将4-溴代丁酰氯(0.4 ml)在磁力搅拌下滴加至在 CHCl_3 (经 P_2O_5 干燥)(20 ml)的噻吗心安盐酸盐(0.82 g)溶液中。连续搅拌4天。然后将该反应混合物减压除去溶剂。残留物经硅胶层析(用含3% Et_3N 的乙醚做洗脱剂)。由中间组分得到0.830 g纯产物(得率78%)。

15

^1H NMR(300 MHz CDCl_3): δ 1.05(9H, s, 3- CH_3), 2.05(2H, m, $\text{COCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-ONO}_2$), 2.5(2H, m, $\text{COCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-ONO}_2$), 2.8(2H, d, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3.5(6H, m, 吗啉, $\text{CH}_2\text{-Br}$), 3.8(4H, t, 吗啉), 4.65(2H, 2dd, O-CH_2), 5.25(1H, m, CH)。

d)

20



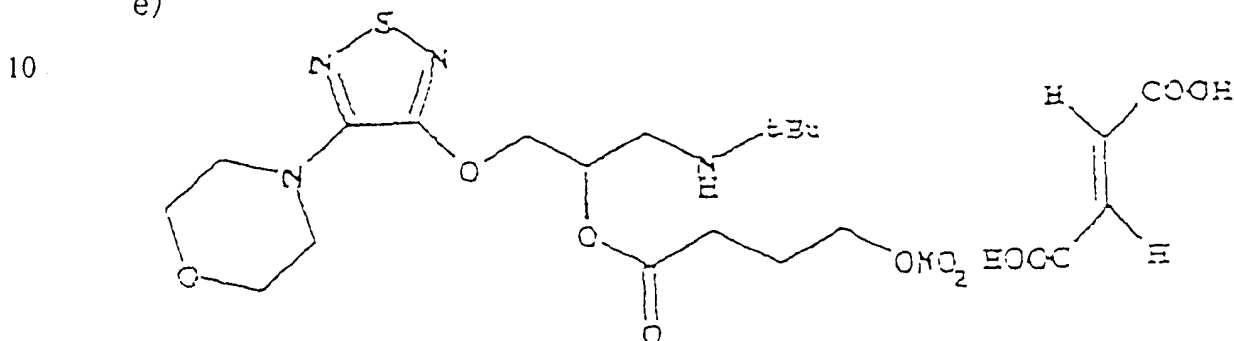
25

1-[(1,1-二甲基乙基)氨基]-3-[[4-(4-吗啉基)-1,2,5-噻二唑-3-基]氧基]-2-丙基的(R)-(硝酰基)丁酸酯

于室温将在 CH_3CN (5 ml)中的 AgNO_3 (0.450 g)溶液,在磁力搅

拌下滴加至在 CH_3CN (10 ml) 中的噻吗心安的 (4-硝酰基) 丁酸酯 (0.830 g) 溶液中。温度逐渐升至 60°C 并继续反应 24 小时。将该反应混合物减压除去溶剂。残留物经硅胶层析 (用含 3% Et_3N 的乙醚做洗脱剂)。由第一组分得到 0.51 g 纯产物 (得率 64%)。

- 5 ^1H NMR (300 MHz CDCl_3): δ 1.05 (9H, s, 3CH_3), 2.05 (2H, m, $\text{COCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-ONO}_2$), 2.5 (2H, 2t, $\text{COCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-ONO}_2$), 2.8 (2H, d, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3.5 (4H, m, 吗啉), 3.8 (4H, t, 吗啉), 4.5 (2H, t, $-\text{CH}_2\text{-ONO}_2$), 4.58 (2H, 2dd, O-CH_2), 5.25 (1H, m, CH). MS: M^+ 448 e)



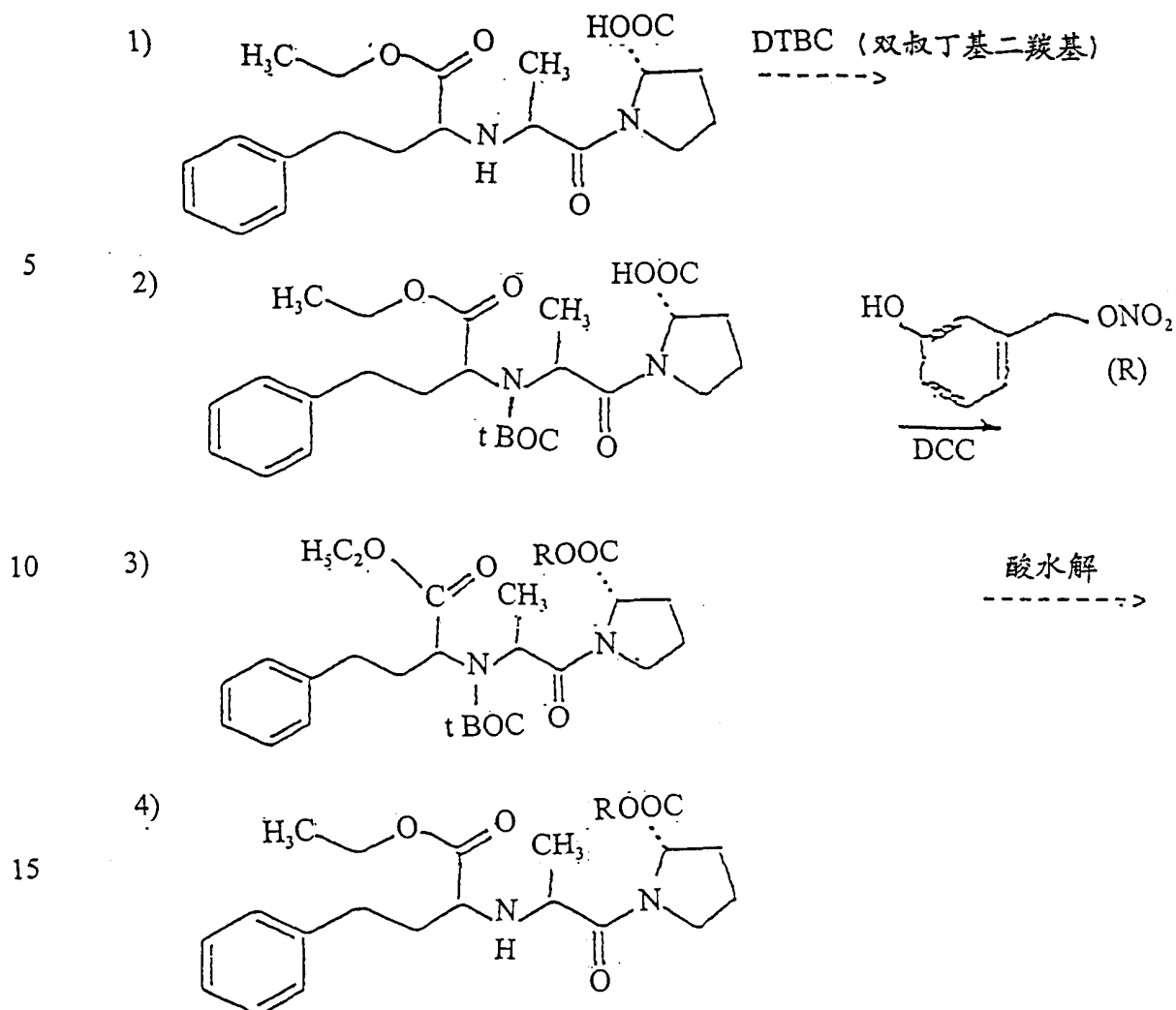
- 15 (R)-1-[(1,1-二甲基乙基)氨基]-3-[[4-(4-吗啉基)-1,2,5-噻二唑-3-基]氧基]-2-丙基马来酸酯的 (4-硝酰基) 丁酸酯

将在丙酮 (5 ml) 中的马来酸 (0.132 g) 的溶液, 在磁力搅拌下滴加至在丙酮 (10 ml) 中的噻吗心安的 (4-硝酰基) 丁酸酯 (0.50 g) 溶液中, 并继续搅拌 2 小时。将该反应混合物减压除去溶剂。粗品残留物用乙醚研磨得到 0.5 g 白色固体 (m.p. $133\text{-}136^\circ\text{C}$, 得率 70%)。

- 20 ^1H NMR (300 MHz CDCl_3): δ 1.48 (9H, s, 3CH_3), 2.05 (2H, m, $-\text{COCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-ONO}_2$), 2.58 (2H, 2td, $\text{COCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-ONO}_2$), 3.3 (2H, 2m, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 3.5 (4H, m, 吗啉), 3.8 (4H, t, 吗啉), 4.5 (2H, t, $\text{CH}_2\text{-ONO}_2$), 4.7 (2H, 2dd, O-CH_2), 5.55 (1H, m, CH), 6.47 (2H, s, 马来酸)。

25 实施例 2A: NO-依那普利 (NO-ENA) 的化学合成及其特性

反应图式如下:



步骤 1

于室温将 3 g 二叔丁基二羧基(DTBC)加至 5 g 依那普利的 100 ml 二甲基甲酰胺(DMF)和三乙胺(TEA)(2.76 g)的溶液中。搅拌该溶液 16 小时。然后用稀 HCl 和水洗涤该溶液两次,用每份 100 ml 的乙醚提取 3 次。干燥并蒸发掉有机相得到 3 g 式 2) 产物(油)。式 2) 中 tBOC = 叔丁基二羧基。

步骤 2

将 1.4 g 二环己基碳二亚胺(DCC),然后将 30 ml 在 CH_2Cl_2 中的 1.1 g 硝酰基甲基苯酚溶液加至溶于 50 ml 二氯甲烷的 3 g N-保护的依那普利(式 2 的化合物)溶液中。搅拌该混合物过夜,滤除二环

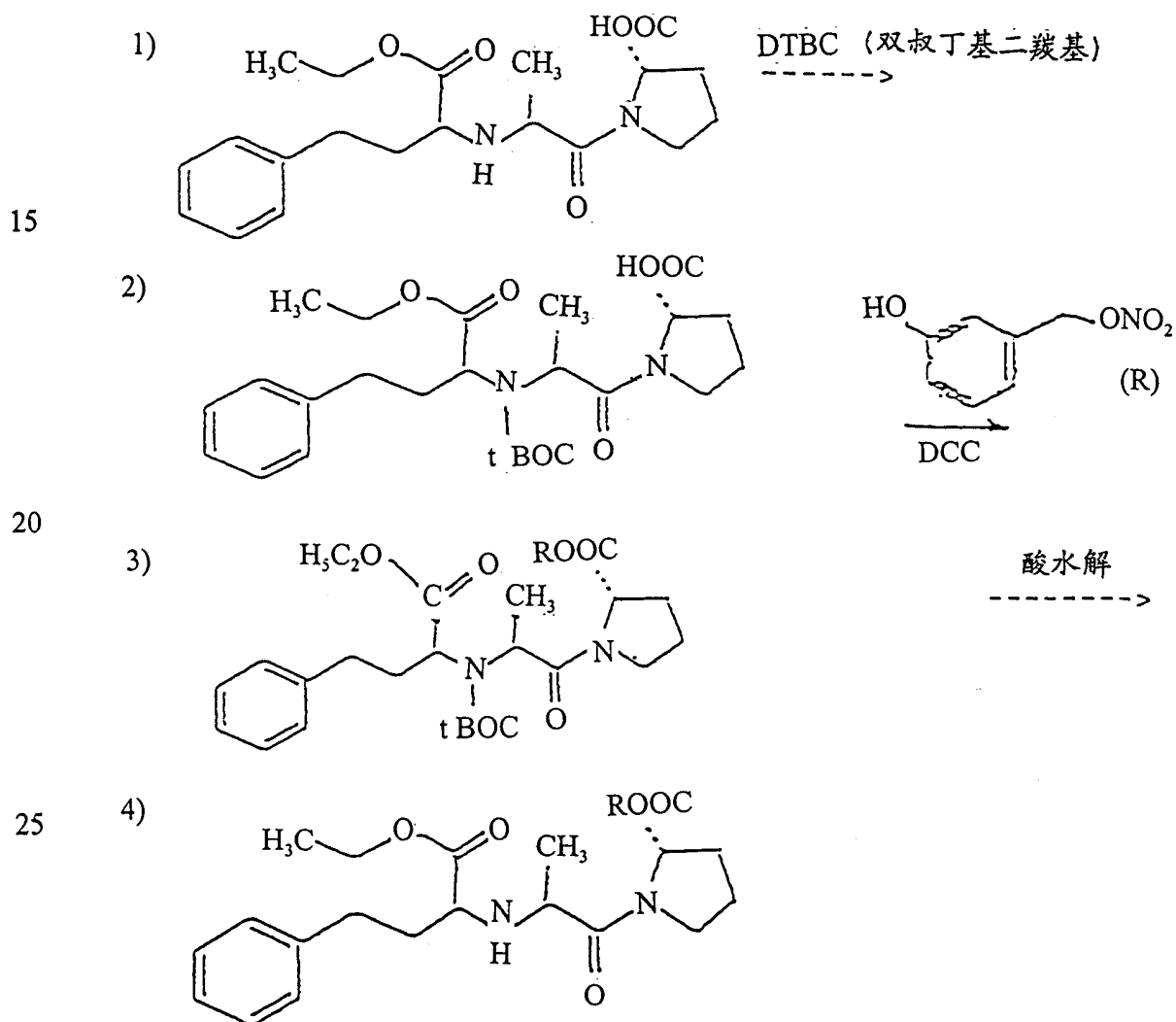
己基尿并蒸除溶剂至干。残留物经硅胶 60 Merck 层析(使用乙酸乙酯/己烷混合物)。收集得到 2 g 的式 3) 中间体组分, 其中 R 是硝酰基甲基苯酚不带 OH 的部分。

5 步骤 3

于 0℃, 将 1 g 式 3) 产物溶于 4N 含 30 ml 干燥 HCl 气的乙酸乙酯 (ACO-Et) 溶液中, 并搅拌 10 小时。所得的沉淀物过滤并真空干燥, 得到 0.5 g 产物 4)。

10 实施例 2B: NO-依那普利酯 (NO-ENP) 的化学合成及其特性

反应图式如下:



步骤 1:

于室温将 3 g 二叔丁基二羧基 (DTBC) 加至 5 g 依那普利酯的 100 ml 二甲基甲酰胺 (DMF) 和三乙胺 (TEA) (2.76 g) 的溶液中。搅拌该溶液 16 小时。然后用稀 HCl 和水洗涤该溶液两次, 用每份 100 ml 的乙醚提取 3 次。干燥并蒸发掉有机相得到 3 g 式 2) 产物, 为油状物。式 2) 中 tBOC = 叔丁基二羧基。

步骤 2

将 2.75 g 二环己基碳二亚胺 (DCC), 然后将 2.25 g 硝酰基甲基苯酚溶液 30 ml 加至溶于 50 ml 二氯甲烷的 3 g N-保护的依那普利酯溶液中。搅拌该混合物过夜, 滤除二环己基尿并蒸除溶剂至干。残留物经硅胶 60 Merck 层析 (使用乙酸乙酯/己烷混合物)。收集得到 3 g 中间体产物 3) 的组分, R 如实施例 2 所定义。

步骤 3

于 0°C, 将 1 g 产物 3) 溶于 4N 含 30 ml 干燥 HCl 气的 ACOEt 溶液中, 并搅拌 10 小时。所得的沉淀物过滤并真空干燥, 得到 0.7 g 产物 4)。

20 实施例 3: 药理学研究

实施例 1 和 2 的产物一直以 2%(重量)的在羧甲基纤维素中的悬浮液体内给药。

需要时, 实验组由 6-8 个样品组成, 以进行适当的统计评价。

本发明化合物的急性毒性是在每组 10 只小鼠的单一口服剂量后评价的。

在 14 天的观察期内, 记录死亡率和毒性症状的出现。甚至 50 mg/kg 的剂量后, 动物仍没有显示明显的毒性症状。

实施例 3A

抗血小板活性研究

NO-ENA 和 NO-TIM 抑制血小板聚集的能力由使用如 Pinon(J. Pharmacol. Methods 12, 79, 1989)所述的体内模型来评价。5 组雄性 Wistar 大鼠(200-250 g)分别以每日 10 mg/kg 剂量口服给以 NO-ENA、依那普利、NO-TIM、噻吗心安或溶媒 5 天。在第四天的适当时间撤掉食物(但不撤掉水)。18-20 小时后对动物进行最后处理。一小時后, 用 10%乌拉坦(1 mg/kg, 腹腔)麻醉动物, 并将左侧颈静脉和右侧颈动脉插管。然后以 2 mg/kg 的剂量静脉给以胶原(6 型, Sigma)。三分钟后, 使用 2.5-ml 塑料注射器, 按照下述方式由颈动脉收集两份血样(A 和 B): 样品 A, 在 1.6 ml 的 EDTA/福尔马林缓冲液(EDTA 四钠盐 24 mM, 1.3 mM KH_2PO_4 , 13.4 mM Na_2PO_4)中的 0.4 ml 血样, 然后将所述样品转移至 5-ml 聚苯乙烯实验管内, 并置于室温 15 分钟。随后, 样品 A 中的血小板聚集用福尔马林固定, 而样品 B 中的血样用 EDTA 固定。然后, 用常规显微镜对每份样品进行血小板记数。对样品 B 的记数为全部血小板的数量, 而对样品 A 则仅认作是非-聚集血小板。该结果表示为聚集百分数, 如下计算: $\{[1-(\text{样品 A 中血小板数})/(\text{样品 B 中血小板数})] \times 100\}$ 。所得结果表示为对照组的抑制百分数(溶媒)并见于表 1。

表 1

在大鼠中 NO-ENA 或 NO-TIM 对依那普利或噻吗心安的抗血小板活性研究

化合物	抗血小板活性(%)
NO-ENA	65
NO-TIM	58
依那普利	15
噻吗心安	2

如表 1 所见，与参照产物不同，本发明的硝基衍生物可以抑制由胶原诱导的聚集。

实施例 3B: 抗血栓活性的研究

5 5 组瑞士种雄性 Charles River 大鼠(15-20 g)，分别以每日 10 mg/kg 剂量口服给以 NO-ENA、依那普利、NO-TIM、噻吗心安或溶媒 5 天。在第四天的适当时间撤掉食物(但不撤掉水)。18-20 小时后对动物进行最后处理。一小时后尾静脉注射以 0.1 ml 胶原(6 型，Sigma)加上在 0.154 M 氯化钠溶液中稀释的盐酸肾上腺素(100 μM) 的混合物。如以前所介绍(Cirino G 等, Thrombosis Research 79, 73, 1995)的，注射此种混合物可在 3 分钟内引起 90%的对照动物死亡。

10 所得结果表示为对比对照组的抑制百分数，并见于表 2。

表 2

15 在大鼠中 NO-ENA 或 NO-TIM 对依那普利或噻吗心安的抗血栓活性研究

化合物	抗血栓活性(%)
NO-ENA	53
NO-TIM	44
依那普利	11
噻吗心安	6

如表 2 所见，与参照产物不同，本发明的硝基衍生物可以抑制由胶原诱导的血栓形成。

20 实施例 3C: 抗高血压活性的研究

NO-ENA 的抑制高血压的能力使用如 Ribeiro 等所介绍的体内模型(Hypertension 20, 298, 1992)来评价。5 组雄性 Wistar 大鼠(235-284 g)分别以每日 10 mg/kg 剂量静脉给以 NO-ENA、依那普利、

NO-TIM、噻吗心安或溶媒 5 天。通过给以在饮水中的 N^w-硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)6 周诱发动脉高血压。L-NAME 溶于引水中的浓度为 60-70 mg/ 100 ml 以达到每日给服约 60 mg/kg。处理一小时后，通过尾-盖(tail-cap)法(Zats, Lab. Anim. Sci. 42, 198, 1990)测得系统血压。

表 3
在大鼠中 NO-ENA 对依那普利的抗高血压活性的研究

化合物	平均血压(mmHg)
溶媒	170 ± 7
NO-ENA	115 ± 4*
依那普利	163 ± 5

*对照其它两组, P< 0.05

10 如表 3 所见，与参照产物不同，本发明的硝基衍生物可以抑制由 L-NAME 诱导的血栓形成引起的高血压。

实施例 3D: 在兔中 NO-ENA 或 NO-TIM 对依那普利或噻吗心安的眼高压活性及眼安全性的研究

15 在兔中，局部应用 100 μg 的 NO-ENA 或 NO-TIM，得到比参照产物噻吗心安和依那普利更显著和更长效(长于 6 小时)眼内压的减低(分别为 6-7 mmHg)。此外，对于 NO-TIM，在血浆(P)和水状液(AH)中的产物浓度的比率对比噻吗心安的比率由 HPLC 法测定。发现对于 NO-TIM 的 P/AH 比率比对噻吗心安的比率低 5.5 倍，提示硝基衍生物的系统吸收(以及随后由所述的衍生物而来的任何潜在的副作用)对比参照产物有显著减低。

20

实施例 3E: 在豚鼠中 NO-ENA 对比依那普利在影响诱导支气管收缩方面的研究

在豚鼠中通过辣椒素诱导支气管收缩是关于 ACE(血管紧张素转化酶)抑制剂引起患者咳嗽的动物模型 (Subissi 等, J. Cardiovasc. Pharmacol. 20/1, 139-146, 1992)。

选用的实验条件如先前 Del Soldato 等所介绍 (J. Pharmacological Methods 5, 279, 1981)。对雌性豚鼠(体重 300-400 g)腹腔注射 5, 5-二乙基巴比妥酸钠(200 mg/kg)麻醉, 并保持恒定正性压力下人工呼吸。在右侧颈静脉插管给以实验化合物。通过腹部中位切口, 移出十二指肠及经一小切口将合适的聚乙烯插管的末端插入并固定, 插管的另一端连接注射器以十二指肠内给以 NO-ENA(10 mg/kg)、依那普利(10 mg/kg)或溶媒。45 分钟后, 将 0.1 ml 辣椒素 (1 μg/kg) 注射进入动物的颈静脉。在辣椒素注射前及注射后, 通过连接于合适的波动扫描器放大器 (Hewlett Packard) 的改进型 Konzett 仪器测定潮面积的变化。所得结果计作给以实验化合物前及其后所得的响应的比率, 表示作单独用辅料所得的响应的%, 见表 4。

表 4
在豚鼠中 NO-ENA 对比依那普利在影响诱导支气管收缩方面的研究

处理	支气管收缩响应(%)
溶媒	100
NO-ENA	72
依那普利	327

如表 4 所见, 本发明硝基衍生物减少由辣椒素诱导的支气管收缩, 与实际上显著增强支气管收缩的参考产物不同。

结论

由上述实施例可以观察到, 本发明的目标化合物硝基衍生物对比参考产物显示显著的抗血栓和心血管活性及具有良好的安全性。