

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480029387.8

[51] Int. Cl.

C07D 211/78 (2006.01)

A61K 31/451 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

[43] 公开日 2006年11月15日

[11] 公开号 CN 1863773A

[22] 申请日 2004.10.5

[21] 申请号 200480029387.8

[30] 优先权

[32] 2003.10.9 [33] EP [31] PCT/EP03/11146

[86] 国际申请 PCT/EP2004/011088 2004.10.5

[87] 国际公布 WO2005/040120 英 2005.5.6

[85] 进入国家阶段日期 2006.4.7

[71] 申请人 埃科特莱茵药品有限公司

地址 瑞士阿施威尔

[72] 发明人 奥利维尔·贝曾康 蒂埃里·西费朗

丹尼尔·比尔 瓦尔特·菲施利

托马斯·韦勒 尤博斯·雷门

西尔维娅·理查德 - 比洛斯泰恩

[74] 专利代理机构 中国商标专利事务所有限公司

代理人 徐小琴

权利要求书 4 页 说明书 28 页

[54] 发明名称

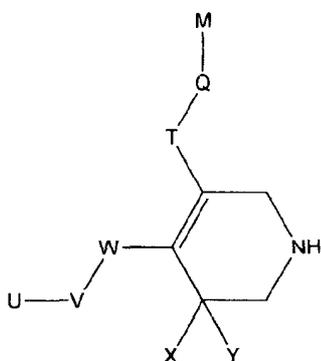
四氢吡啶衍生物

[57] 摘要

本发明涉及新型四氢吡啶衍生物，并以其作为活性成分制造药物组合物。本发明还涉及该化合物制备方法，包含一种或多种该化合物的药物组合物，并特别涉及它们作为血管紧张肽原酶抑制剂的用途。(I)其中 X 和 Y 独立地表示氢、氟或甲基；X 和 Y 不同时表示氢或 X 和 Y 共同形成一个环丙基环；W 表示苯基或杂芳基环，该杂芳基环是六元环且非稠环，该苯基环和杂芳基环的 3-或 4-位由 V 取代；A 和 B 独立地表示 -O-、-S-、-SO-、-SO₂-；U 表示芳基、杂芳基；T 表示 -CONR¹-、-(CH₂)_pOCO-、-(CH₂)_pN(R¹)CO-、-(CH₂)_pN(R¹)SO₂-、-COO-、-(CH₂)_pOCONR¹-、-(CH₂)_pN(R²)CONR¹-；R¹和 R²独立地表示氢、低级烷基、低级烯基、低级炔基、环烷基、芳基-低级烷基、杂芳基-低级烷基、环烷

基-低级烷基；Q 表示低级亚烷基、低级亚烯基；M 表示氢、环烷基、芳基、杂环基、杂芳基。

1、通式 (I) 的新型四氢吡啶衍生物



(I)

其中

X 和 Y 独立地表示氢、氟或甲基；X 和 Y 不同时表示氢或 X 和 Y 共同形成一个环丙基环；

W 表示苯基或杂芳基环，该杂芳基环是六元环且非稠环，该苯基环和杂芳基环的 3-或 4-位由 V 取代；

V 表示 $-(CH_2)_r-$ 、 $-A-(CH_2)_s-$ 、 $-CH_2-A-(CH_2)_t-$ 、 $-(CH_2)_5-A-$ 、 $-(CH_2)_2-A-(CH_2)_u-$ 、 $-A-(CH_2)_v-B-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-A-CH_2-$ 、 $-A-CH_2-CH_2-B-CH_2-$ 、 $-CH_2-A-CH_2-CH_2-B-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-A-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-A-CH_2-$ 、 $-A-CH_2-CH_2-B-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-A-CH_2-CH_2-B-CH_2-$ 、 $-CH_2-A-CH_2-CH_2-CH_2-B-$ 、 $-CH_2-CH_2-A-CH_2-CH_2-B-$ 、 $-O-CH_2-CH(OCH_3)-CH_2-O-$ 、 $-O-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-O-$ 、 $-O-CH_2-CH(CF_3)-CH_2-O-$ 、 $-O-CH_2-C(CH_3)_2-CH_2-O-$ 、 $-O-CH_2-C(CH_3)_2-O-$ 、 $-O-C(CH_3)_2-CH_2-O-$ 、 $-O-CH_2-CH(CH_3)-O-$ 、 $-O-CH(CH_3)-CH_2-O-$ 、 $-O-CH_2-C(CH_2CH_2)-O-$ 、 $-O-C(CH_2CH_2)-CH_2-O-$ ；

A 和 B 独立地表示 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ ；

U 表示芳基、杂芳基；

T 表示 $-CONR^1-$ 、 $-(CH_2)_pOCO-$ 、 $-(CH_2)_pN(R^1)CO-$ 、 $-(CH_2)_pN(R^1)SO_2-$ 、 $-COO-$ 、 $-(CH_2)_pOCONR^1-$ 、 $-(CH_2)$

$pN(R^2)CONR^1-$;

R^1 和 R^2 独立地表示氢、低级烷基、低级烯基、低级炔基、环烷基、芳基-低级烷基、杂芳基-低级烷基、环烷基-低级烷基;

Q 表示低级亚烷基、低级亚烯基;

M 表示氢、环烷基、芳基、杂环基、杂芳基;

p 为整数 1、2、3 或 4;

r 为整数 3、4、5 或 6;

s 为整数 2、3、4 或 5;

t 为整数 1、2、3 或 4;

u 为整数 1、2 或 3;

v 为整数 2、3 或 4;

以及光学纯的对映体、对映体的混合物例如消旋物、非对映体、非对映体的混合物、非对映的消旋物、非对映消旋物的混合物、和该内消旋型、和药学上可接受的盐、溶剂配合物和晶体形式。

2、根据权利要求 1 所述的四氢吡啶衍生物，其中 X、Y、V、W 和 U 定义如通式 (I)，T 表示 $-CONR^1-$ ；Q 表示低级亚烷基且 M 表示氢、芳基或杂芳基。

3、根据权利要求 1 或 2 任一项所述的四氢吡啶衍生物，其中 X、Y、W、T、Q 和 M 定义如通式 (I)，V 表示 $-CH_2CH_2O-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2O-$ 、 $-OCH_2CH_2O-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2OCH_2O-$ 且 U 定义如通式 (I)。

4、根据权利要求 1~3 任一项所述的四氢吡啶衍生物，其中 X、Y、V、U、T、Q 和 M 定义如通式 (I) 且 W 表示 4-位由 V 取代的苯基。

5、根据权利要求 1~4 任一项所述的四氢吡啶衍生物，其中 W、V、U、T、Q 和 M 定义如通式 (I) 且 X 和 Y 一起形成一个环丙基。

6、如权利要求 1~5 任一项所述的化合物，其选自下列化合物所组成的组：

8-{4-[3-(2-氯-3,6-二氟苯氧基)丙基]苯基}-5-氮杂-螺[2.5]辛-7-烯-7-羧酸环丙基-(2,3-二氯苯甲基)酰胺、

4-{4-[3-(2-氯-3,6-二氟苯氧基)丙基]苯基}-5,5-二甲基

—1,2,5,6—四氢吡啶—3—羧酸环丙基—(2,3—二氯苯甲基)酰胺、

4—{4—[3—(2—氯—3,6—二氟苯氧基)丙基]苯基}—5,5—二甲基—1,2,5,6—四氢—吡啶—3—羧酸环丙基—(2—甲氧基—3—甲基吡啶—4—基甲基)酰胺、

8—{4—[3—(2—氯—3,6—二氟苯氧基)丙基]苯基}—5—氮杂—螺[2.5]辛—7—烯—7—羧酸环丙基—(2—甲氧基—3—甲基吡啶—4—基—甲基)—酰胺、

8—{4—[3—(2—氯—3,6—二氟苯氧基)丙基]苯基}—5—氮杂螺[2.5]辛—7—烯—7—羧酸环丙基—[2—(2—羟基丙氧基)—3—甲基吡啶—4—基甲基]酰胺、

4—{4—[3—(2—氯—3,6—二氟苯氧基)丙基]苯基}—5,5—二甲基—1,2,5,6—四氢—吡啶—3—羧酸环丙基—[2—(2—羟基丙氧基)—3—甲基吡啶—4—基甲基]酰胺、

4—{4—[3—(2—氯—3,6—二氟苯氧基)丙基]苯基}—5,5—二氟—1,2,5,6—四氢吡啶—3—羧酸环丙基—(2,3—二氯苯甲基)酰胺。

7、一种药物组合物，其包含至少一种根据权利要求1~6任一项所述化合物以及药学上可接受的惰性载体材料或辅助剂。

8、根据权利要求1~6任一项所述化合物，或根据权利要求7的组合物生产用于治疗或预防以下相关疾病的药剂，如高血压、充血性心力衰竭、肺性高血压症、肾功能不全、肾缺血、肾衰竭、肾纤维化、心功能不全、心脏肥大、心脏纤维化、心肌缺血、心肌病、血管球性肾炎、肾绞痛、糖尿病性并发症比如肾病、血管病变和神经病、青光眼、高眼内压、动脉粥样硬化、再狭窄柱血管成形术、血管或心脏术后并发症、勃起功能障碍、醛甾酮过多症、肺部纤维化、硬皮病、焦虑、认知紊乱、使用免疫抑制剂治疗引起的并发症、以及其他目前已知的与肾素—血管紧张素系统相关的疾病。

9、一种治疗或预防以下相关疾病的方法，如高血压、充血性心力衰竭、肺性高血压症、肾功能不全、肾缺血、肾衰竭、肾纤维化、心功能不全、心脏肥大、心脏纤维化、心肌缺血、心肌病、血管球性肾炎、肾绞痛、糖尿病性并发症比如肾病、血管病变和神经病、青光眼、高眼内压、动脉粥样硬化、再狭窄柱血管成形术、血管或心脏术后并发症、勃

起功能障碍、醛甾酮过多症、肺部纤维化、硬皮病、焦虑、认知紊乱、使用免疫抑制剂治疗引起的并发症、以及其他目前已知的与肾素-血管紧张素系统相关的疾病，包括对患者以权利要求 1~7 任一项所述的五元杂芳基衍生物的医学有效量给药。

10、如以上描述的发明。

四氢吡啶衍生物

本发明涉及通式(I)的新型五元杂芳基衍生物。本发明还涉及该化合物制备方法,包含一种或多种式(I)化合物的药物组合物,并特别涉及它们在心血管疾病和肾机能不全中作为血管紧张肽原酶抑制剂的用途。

在血管紧张肽原酶-血管紧张素系统(RAS)中,生物活性血管紧张素 II(Ang II)是通过一种两步机制产生的。高度特异性的酶血管紧张肽原酶将血管紧张素原切断成血管紧张素 I(Ang I),然后通过相对较低特异性的血管紧张素转化酶(ACE)将血管紧张素 I 进一步处理成 Ang II。已知 Ang II 是在至少两个被称为 AT₁ 与 AT₂ 的受体亚型上发生作用的。尽管 AT₁ 似乎传递 Ang II 的大多数的功能,然而 AT₂ 的作用仍然是未知的。

RAS 的调节代表了心血管疾病治疗中的一个重要的进步。将 ACE 抑制剂和 AT₁ 阻滞剂已经被普遍接受用于治疗高血压(Waeber B. *et al.*, "The renin - angiotensin system: role in experimental and human hypertension", in Berkenhager W. H., Reid J. L. (eds): *Hypertension*, Amsterdam, Elsevier Science Publishing Co, 1996, 489-519; Weber M. A., *Am. J. Hypertens.*, 1992, 5, 247S)。此外,ACE 抑制剂还被用于肾的保护(Rosenberg M. E. *et al.*, *Kidney International*, 1994, 45, 403; Breyer J. A. *et al.*, *Kidney International*, 1994, 45, S156)、预防充血性心力衰竭(Vaughan D. E. *et al.*, *Cardiovasc. Res.*, 1994, 28, 159; Fouad - Tarazi F. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1988, 84 (Suppl. 3A), 83) 与心肌梗塞(Pfeffer M. A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1992, 327, 669)。

开发血管紧张肽原酶抑制剂的基本原理是血管紧张肽原酶的特异性(Kleinert H. D., *Cardiovasc. Drugs*, 1995, 9, 645)。血管紧张肽原酶的唯一已知的基质是血管紧张素原,该血管紧张素原仅能通过血管紧张肽原酶(在生理条件之下)进行处理。相比之下,ACE 除了可以切断 Ang I 之外,还可以切断缓激肽,并可通过凝乳酶(一种丝氨酸蛋白酶)加以规避(Husain A., *J. Hypertens.*, 1993, 11, 1155)。在患者中,ACE 的抑制会导致引起咳嗽的缓激肽积累(5~20%)以及潜在性的危急生

命的急性自发水肿 (0.1~0.2%) (Israili Z. H. *et al.*, *Annals of Internal Medicine*, 1992, 117, 234)。ACE 抑制剂无法抑制凝乳酶。因此, 在接受 ACE 抑制剂治疗的患者中, 仍可能形成 Ang II。另一方面, AT₁ 受体的阻断 (例如通过洛沙坦) 将其他的 AT-受体亚型 (例如 AT₂) 过度暴露于 Ang II 之下, Ang II 的浓度通过 AT₁ 受体的阻断而被显著的提高。总之, 希望血管紧张肽原酶抑制剂在其阻挡 RAS 的效力方面和安全性上与 ACE 抑制剂和 AT₁ 阻滞剂具有不同的药性。

由于血管紧张肽原酶抑制剂具有拟肽特征 (Kleinert H. D., *Cardiovasc. Drugs*, 1995, 9, 645) 而导致口腔活度不足, 因而仅仅对血管紧张肽原酶抑制剂进行了有限的临床实践 (Azizi M. *et al.*, *J. Hypertens.*, 1994, 12, 419; Neutel J. M. *et al.*, *Am. Heart*, 1991, 122, 1094)。已经有数种化合物的临床研发由于它们存在成本过高的问题而被终止了。仅仅有一个具有 4 个手性中心的化合物进入了临床试验 (Rahuel J. *et al.*, *Chem. Biol.*, 2000, 7, 493; Mealy N. E., *Drugs of the Future*, 2001, 26, 1139)。因此, 需要具有良好生物利用率和较长持续作用时间的血管紧张肽原酶抑制剂。最近, 公开了首个显示出较高体外活性的非肽血管紧张肽原酶抑制剂 (Oefner C. *et al.*, *Chem. Biol.*, 1999, 6, 127; 专利申请 WO97/09311; Märki H. P. *et al.*, *Il Farmaco*, 2001, 56, 21)。然而, 这些化合物的研发状态仍是未知的。

本发明涉及一种非肽性的和低分子量的血管紧张肽原酶抑制剂的鉴定。并描述了: 长效作用的口腔活性的血管紧张肽原酶抑制剂在血压调节之外的指示中是有作用的, 在这种血压调节指示中, 可以将组织的血管紧张肽原酶-凝乳酶系统活化, 从而导致病理生理学改变的局部功能, 例如肾、心脏和血管改型、动脉粥样硬化、和可能的再狭窄。因此, 本发明表述这些非肽血管紧张肽原酶抑制剂。以下段落提供多个组成本发明化合物的化学残基的定义, 并普遍适用于该详细说明和权利要求, 除非明显否定的定义出一种广泛的定义。

术语“低级烷基”, 单独或与其它基团结合时, 是指含有 1~7 个、优选 1~4 个可被卤素任选取代的碳原子饱和的、直链或支链基团。低级烷基的实例为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基和庚基。优选为甲基、乙基和异丙基。

术语“低级烷氧基”是 R-O-基团, 其中 R 为低级烷基。低级烷氧基的实例为甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、异丁氧基、仲丁氧基和叔丁氧基。

术语“低级链烯基”，单独或与其它基团结合时，是指包含 2~7 个、优选 2~4 个可被卤素任选取代的碳原子以及一个烯键的直链或支链基团。低级烯基的实例为乙烯基、丙烯基或丁烯基。

术语“低级炔基”，单独或与其它基团结合时，是指包含 2~7 个、优选 2~4 个可被卤素任选取代的碳原子以及一个三键的直链或支链基团。低级炔基的实例为乙炔基、丙炔基或丁炔基。

术语“低级亚烷基”，单独或其它基团结合时，是指包含 1~7 个、优选 1~4 个可被卤素任选取代的碳原子直链或支链二价链基团。低级亚烷基的实例为亚乙基、亚丙基或亚丁基。

术语“低级亚烯基”，单独或其它基团结合时，是指包含 2~7 个、优选 2~4 个可被卤素任选取代的碳原子以及一个烯键的直链或支链二价链基团。低级亚烯基的实例为亚乙烯基、亚丙烯基和亚丁烯基。

术语“低级亚烷基二氧基”是指在各个末端被一个氧原子取代的低级亚烷基。低级亚烷基二氧基的实例优选为亚甲二氧基和亚乙二氧基。

术语“低级亚烷基氧基”是指在一个末端被氧原子取代的低级亚烷基。低级亚烷基氧基的实例优选为亚甲氧基、亚乙氧基和亚丙氧基。

术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘，优选氟、氯和溴。

术语“环烷基”单独或结合使用时，是指含有 3~7 个碳原子的饱和烃环系统，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基，并且可任选地被下述基团独立地单取代或多取代：低级烷基、低级烯基、低级亚烯基、低级烷氧基、低级亚烷基氧基、低级亚烷基二氧基、羟基、卤素、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{NR}^1\text{C}(\text{O})\text{R}^2$ 、 $-\text{NR}^1\text{S}(\text{O})_2\text{R}^2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ 、低级烷基羰基、 $-\text{COOR}^1$ 、 $-\text{SR}^1$ 、 $-\text{SOR}^1$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 。优选的基团为环丙基，由此 R^1 和 R^2 具有以下通式 (I)、其它芳基、其它杂芳基或其它杂环基等给出的含义。

术语“芳基”，单独或结合使用时，是指苯基、萘基或茚满基，优选苯基，并且优选被下述基团独立地单取代、二取代、三取代、四取代、或五取代：低级烷基、低级烯基、低级炔基、低级亚烯基或低级亚烷基从而与芳环形成五元或六元环、低级烷氧基、低级亚烷基二氧基、低级亚烷基氧基、羟基、羟基-低级烷基、卤素、氰基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 、-低级烷基- $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{NR}^1\text{C}(\text{O})\text{R}^2$ 、 $-\text{NR}_1\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{12}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、低级烷基羰基、 $-\text{COOR}^1$ 、 $-\text{SR}^1$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^1$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^1$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ 、苯甲氧基。优选的取代基为卤素、低级烷氧基、低级烷基。取代基 R^1 和 R^2 具有以下通式 (I) 给出的含义。

对于取代基 U，术语芳基是指例如一种由氟或氯独立地单取代二取代、三取代、四取代、或五取代的苯基，例如 2-氯基-3,6-二氟-苯基。

对于取代基 M，术语芳基是指例如一种由氟或氯独立地单取代二取代、三取代、四取代、或五取代的苯基，例如 2,3-二氯-苯基。

术语“芳氧基”是指 Ar-O-基团，其中 Ar 为芳基。芳氧基的实例为苯氧基。

术语“杂环基”，单独或结合使用时，是指包含一个或两个可相同或不同的氮、氧或硫原子的饱和或不饱和（但非芳香性的）五-、六-或七-元环，并且该环任选可被低级烷基、羟基、低级烷氧基和卤素任选取代。氮原子，如果存在，可以被 $-\text{COOR}^2$ 取代，由此 R^2 具有以下通式 (I) 给出的意思。这种环的实例为哌啶基、吗啉基、硫代吗啉基、哌嗪基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、1,4-二氧六环基、吡咯烷基、四氢呋喃基、二氢吡咯基、咪唑烷基、二氢吡唑基、二氢喹啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基。

术语“杂芳基”，单独或结合使用时，是指包含 1~4 个氮原子的六员芳环；包含 1~3 个氮原子的苯并六员芳环；包含 1 个氧原子、1 个氮原子或 1 个硫原子的五员芳环；包含 1 个氧原子、1 个氮原子或 1 个硫原子的苯并五员芳环；包含 1 个氧原子和 1 个氮原子的五员芳环及其苯并衍生物；包含 1 个硫原子和 1 个氮原子或 1 个原子的五员芳环及其苯并衍生物；包含 2 个氮原子的五员芳环及其苯并衍生物；包含 3 个氮原子的五员芳环及其苯并衍生物，或四唑环。这种环系统的实例为呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡啶基、嘧啶基、茛满基、喹啉基、异喹啉基、咪唑啉基、三嗪基、噻嗪基、噻唑基、异噻唑基、哒嗪基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、香豆素基、苯并噻吩基、喹啉基、喹喔啉基。这类环可被下述取代基所充分取代：低级烷基、低级烯基、低级炔基、低级亚烷基、低级亚烯基、低级亚烷基二氧基、低级亚烷氧基、羟基-低级烷基、低级烷氧基、羟基、卤素、氰基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ -低级烷基、 $-\text{N}(\text{R}^1)\text{COR}^1$ 、 $-\text{N}(\text{R}^1)\text{SO}_2\text{R}^1$ 、 $-\text{CONR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、低级烷基羰基、 $-\text{COOR}^1$ 、 $-\text{SR}^1$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^1$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^1$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ，由此 R^1 和 R^2 具有以下通式 (I)、其它芳基、其它杂芳基或其它杂环基等给出的意思。在另一个具体实例中，除上述取代基外，该杂芳基可另外被羟基-低级亚烷基-氧基取代，其中低级亚烷基定义如上（优选的低级亚烷基是乙烯）。

对于取代基 W 术语杂芳基是指例如吡啶基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基。对于取代基 U 术语杂芳基是指例如异噁唑基、pyrrazolyl。对于取代基 M 术语杂芳基是指例如由低级烷基、羟基-低级亚烷基-氧基和低级烷氧基取代的吡啶基，例如 2-甲氧基-3-甲基吡啶-4-基。优选的实例是 2-(3-羟基丙氧基)-3-甲基吡啶-4-基甲基。

术语“杂芳氧基”是指 Het-O 基团，其中 Het 为杂芳基。

术语“杂芳基-低级烷基”是指如上定义的杂芳基由如上定义的低级烷基连接。一个实例是吡啶基-甲基。其它实例是连接甲基的下列杂芳基：呋喃基、噻吩基、吡咯基、嘧啶基、茚满基、喹啉基、异喹啉基、咪唑啉基、三嗪基、噻嗪基、噻唑基、异噻唑基、哒嗪基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、香豆素基、苯并噻吩基、喹啉基、喹喔啉基。

术语“芳基-低级烷基”是指如上定义的芳基由如上定义的低级烷基连接。一个实例是苯基-甲基（苯甲基）。其它实例是连接甲基的下列芳基：萘基和茚满基。

术语“环烷基-低级烷基”是指如上定义环烷基由如上定义的低级烷基连接。一个实例是环丙基-甲基。其它实例是连接甲基的下列环烷基：环丁基、环戊基、环己基、环庚基。

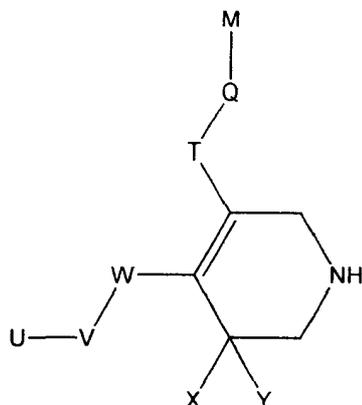
应当理解的是，出于清楚表达的原因，在通式 (I) 和权利要求 1~5 的定义中省略了相对于术语环烷基、杂环基、杂芳基和芳基所列出的取代基，但是式 (I) 和权利要求 1~5 的定义应当被理解为这些取代基被包含于其中。

术语“药学上可接受的盐”包括与无机酸或有机酸诸如盐酸或氢溴酸、硫酸、磷酸、柠檬酸、甲酸、乙酸、马来酸、酒石酸、苯甲酸、甲磺酸、对甲苯磺酸等所形成的对生物活体无毒性的盐，并且当式 (I) 的化合物为酸性的化合物时与无机碱比如碱金属或碱土金属例如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙等所形成的盐。

通式 (I) 的化合物还可以包含一个或多个不对称碳原子，并且可以制备成光学纯的对映体、对映体的混合物例如消旋物、非对映体、非对映体的混合物、非对映的消旋物、非对映的消旋物的混合物、和内消旋形式及其药学上可接受的盐。

本发明包含全部这些形式。可以通过本身已知的方式，例如柱色谱法、薄层色谱法、HPLC 或结晶法对混合物进行分离。

首先是本发明的通式 (I) 的新型四氢吡啶衍生物。



(I)

其中

X 和 Y 独立地表示氢、氟或甲基；X 和 Y 不同时表示氢或 X 和 Y 共同形成一个环丙基环；

W 表示苯基或杂芳基环，该杂芳基环是六元环且非稠环，该苯基环和杂芳基环的 3-或 4-位由 V 取代；

V 表示 $-(\text{CH}_2)_r-$ 、 $-A-(\text{CH}_2)_s-$ 、 $-\text{CH}_2-A-(\text{CH}_2)_t-$ 、 $-(\text{CH}_2)_s-A-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2-A-(\text{CH}_2)_u-$ 、 $-A-(\text{CH}_2)_v-B-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-A-\text{CH}_2-$ 、 $-A-\text{CH}_2-\text{CH}_2-B-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-A-\text{CH}_2-\text{CH}_2-B-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-A-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-A-\text{CH}_2-$ 、 $-A-\text{CH}_2-\text{CH}_2-B-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-A-\text{CH}_2-\text{CH}_2-B-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-A-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-B-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-A-\text{CH}_2-\text{CH}_2-B-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CF}_3)-\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_2)-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_2)-\text{CH}_2-\text{O}-$ ；

A 和 B 独立地表示 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{SO}-$ 、 $-\text{SO}_2-$ ；

U 表示芳基、杂芳基；

T 表示 $-\text{CONR}^1-$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{OCO}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{N}(\text{R}^1)\text{CO}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{N}(\text{R}^1)\text{SO}_2-$ 、 $-\text{COO}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{OCONR}^1-$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{N}(\text{R}^2)\text{CONR}^1-$ ；

R^1 和 R^2 独立地表示氢、低级烷基、低级烯基、低级炔基、环烷基、

芳基—低级烷基、杂芳基—低级烷基、环烷基—低级烷基；

Q 表示低级亚烷基、低级亚烯基；

M 表示氢、环烷基、芳基、杂环基、杂芳基；

p 为整数 1、2、3 或 4；

r 为整数 3、4、5 或 6；

s 为整数 2、3、4 或 5；

t 为整数 1、2、3 或 4；

u 为整数 1、2 或 3；

v 为整数 2、3 或 4；

在本发明另外的具体实例中，如上所述的通式 (I) 的四氢吡啶衍生物还包括光学纯的对映体、对映体的混合物例如消旋物、非对映体、非对映体的混合物、非对映的消旋物、非对映消旋物的混合物、和该内消旋型、和药学上可接受的盐、溶剂配合物和晶体形式。

一组优选的通式 (I) 的化合物为其中 X、Y、V、W 和 U 定义如通式 (I) 的化合物，其中 T 为 $-\text{CONR}^1-$ ；Q 为低级亚烷基；M 为氢、芳基或杂芳基。

另一组优选的通式 (I) 的化合物为其中 X、Y、W、T、Q 和 M 定义如上通式 (I) 的化合物，其中 V 表示 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{O}-$ 且 U 定义如上述通式 (I)。

另一组更优选的通式 (I) 的化合物为其中 X、Y、V、U、T、Q 和 M 定义如上通式 (I) 的化合物且 W 表示 4-位由 V 取代的苯基。

另一组尤其更优选的通式 (I) 的化合物为其中 W、V、U、T、Q 和 M 定义如上通式 (I) 的化合物且 X 和 Y 一起形成一个环丙基。

在本发明另外的具体实例中 A 和 B 独立地表示 $-\text{O}-$ 。

在本发明另外的具体实例中 R^1 和 R^2 独立地表示环烷基，例如环丙基。

如上定义的 V 例如 $-\text{A}-\text{(CH}_2\text{)}_s-$ 合并到通式 I 化合物中，其中 A 附于 U 且 $-\text{A}-\text{(CH}_2\text{)}_s-$ 的亚烷基部分附于 W。

在一个优选的具体实例中 p 表示整数 1。

在一个优选的具体实例中 r 表示整数 3 或 4。

在一个优选的具体实例中 s 表示整数 2 或 3。

在一个优选的具体实例中 t 表示整数 1 或 2。

在一个优选的具体实例中 u 表示整数 1 或 2。

在一个优选的具体实例中 v 表示整数 2 或 3。在更优选的具体实例

中 v 表示整数 2。

一些优选的通式 (I) 化合物选自下述化合物所组成的组：

8- {4- [3- (2- 氯- 3,6- 二氟苯氧基) 丙基] 苯基} - 5- 氮杂- 螺 [2.5] 辛- 7- 烯- 7- 羧酸环丙基- (2,3- 二氯苯甲基) 酰胺、

4- {4- [3- (2- 氯- 3,6- 二氟苯氧基) 丙基] 苯基} - 5,5- 二甲基- 1,2,5,6- 四氢吡啶- 3- 羧酸环丙基- (2,3- 二氯苯甲基) 酰胺、

4- {4- [3- (2- 氯- 3,6- 二氟苯氧基) 丙基] 苯基} - 5,5- 二甲基- 1,2,5,6- 四氢- 吡啶- 3- 羧酸环丙基- (2- 甲氧基- 3- 甲基吡啶- 4- 基甲基) 酰胺、

8- {4- [3- (2- 氯- 3,6- 二氟苯氧基) 丙基] 苯基} - 5- 氮杂- 螺 [2.5] 辛- 7- 烯- 7- 羧酸环丙基- (2- 甲氧基- 3- 甲基吡啶- 4- 基- 甲基) - 酰胺、

8- {4- [3- (2- 氯- 3,6- 二氟苯氧基) 丙基] 苯基} - 5- 氮杂螺 [2.5] 辛- 7- 烯- 7- 羧酸环丙基- [2- (2- 羟基丙氧基) - 3- 甲基吡啶- 4- 基甲基] 酰胺、

4- {4- [3- (2- 氯- 3,6- 二氟苯氧基) 丙基] 苯基} - 5,5- 二甲基- 1,2,5,6- 四氢- 吡啶- 3- 羧酸环丙基- [2- (2- 羟基丙氧基) - 3- 甲基吡啶- 4- 基甲基] 酰胺、

4- {4- [3- (2- 氯- 3,6- 二氟苯氧基) 丙基] 苯基} - 5,5- 二氟- 1,2,5,6- 四氢吡啶- 3- 羧酸环丙基- (2,3- 二氯苯甲基) 酰胺。

本发明涉及一种用于预防和/或治疗与下列相关的疾病的方法，如高血压、充血性心力衰竭、肺性高血压症、肾功能不全、肾缺血、肾衰竭、肾纤维化、心功能不全、心脏肥大、心脏纤维化、心肌缺血、心肌病、血管球性肾炎、肾绞痛、糖尿病性并发症比如肾病、血管病变和神经病、青光眼、高眼内压、动脉粥样硬化、再狭窄柱血管成形术、血管或心脏术后并发症、勃起功能障碍、醛甾酮过多症、肺部纤维化、硬皮病、焦虑、认知紊乱、使用免疫抑制剂治疗引起的并发症、以及其他目前已知的与肾素-血管紧张素系统相关的疾病，该方法包括给人或动物服用以上定义的化合物。

在另一个具体实例中，本发明涉及一种用于预防和/或治疗与下列相关的疾病的方法，如高血压、充血性心力衰竭、肺性高血压症、肾功能不全、肾缺血、肾衰竭、肾纤维化、心功能不全、心脏肥大、心脏纤维化、心肌缺血、心肌病、糖尿病性并发症比如肾病、血管病变和神经病。

在另一个具体实例中，本发明涉及一种用于预防和/或治疗与肾素-

血管紧张素系统调节异常相关的疾病，以及上述疾病的治疗。

本发明还涉及通式 (I) 化合物用于制备一种治疗和/或预防上述疾病的药剂的用途。

本发明还另外涉及一种药物组合物，其包含至少一种式 (I) 的化合物和药学上可接受的载体材料或辅助剂。该药物组合物可以用于治疗或预防上述病症；以及用于制备一种治疗和/或预防上述疾病的药剂。

式 I 化合物的衍生物和上述药物组合物还可被用于与一种或多种其它的药理学活性物质联合使用，包括 ACE 一抑制剂、中性肽链内切酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、内皮素受体拮抗剂、血管扩张剂、钙拮抗剂、钾活化剂、利尿剂、交感神经阻滞剂、 β 一肾上腺素能拮抗剂、 α 一肾上腺素能拮抗剂或与其它对上述疾病的预防或治疗有益的药物联合。

在优选的具体实例中，使用量为每天 2 mg~1000 mg。

在特别优选的具体实例中，使用量为每天 1 mg~500 mg。

在更特别优选的具体实例中，使用量为每天 5 mg~200 mg。

所有形式的导致一个包含在通式 (I) 中的活性组分的前药也包括在本发明中。

式 I 化合物及其药学上可接受的酸加成盐可以例如包含至少一种式 (I) 的化合物和药学上可接受的载体材料或辅助剂的药物组合物的形式用作药剂。这些药物组合物可以用于肠道给药、非肠道给药、或局部给药。其可以例如经口给药的（例如片剂、糖衣片、糖锭剂、硬胶囊或软胶囊、溶液、乳液或悬浮液的形式）、直肠给药的（例如栓剂形式）、非肠道给药的（例如注射溶液或浸剂溶液形式）、或表面给药的（例如以膏剂、乳膏或油类形式）。

可以本领域熟练技术人员熟知的方式来制造药物制剂，即，通过一种已知方法方式，将所述的式 I 化合物及其药学上可接受的酸加成盐，任选地与其他有治疗价值的物质混合，与适当的、非毒性、惰性、治疗上相容的固体或液体载体材料，以及如果需要，常见的药品辅助剂，制成一种盖仑制剂(galenical)服用形式。

适当的载体材料不仅可以是无机载体材料，也可以是有机载体材料。因此，例如乳糖、玉米淀粉或其衍生物、滑石粉、硬脂酸或其盐等可被用作例如片剂、糖衣片剂、糖锭剂、和硬胶囊的载体材料。用于软胶囊的适当的载体材料为例如植物油、蜡脂肪以及半固体和液体多元醇（取决于活性成分的性质，然而，在软胶囊中并不需要载体）。用于该

制造的溶液和糖浆适当的载体材料例如水、多元醇、蔗糖、转化糖等等。用于注射液的适当的载体材料例如水、醇、多元醇、甘油和植物油。用于栓剂的适当的载体材料例如天然或硬化油类、蜡、脂肪和半液体或液体多元醇。用于局部给药的制剂适当的载体材料为甘油酯、半合成和合成物甘油酯、氢化油、液体蜡、液体石蜡、液体脂肪醇、甾醇、聚乙二醇和纤维素衍生物。

可以考虑将常见的稳定剂、防腐剂、湿润剂和乳化剂、稠度改善剂、气味改善剂、用于改变渗透压力的盐、缓冲剂、增溶剂、着色剂和掩蔽剂以及抗氧化剂作为药品辅助剂。

式 I 化合物的剂量可以在很大范围内变化并取决于所控制的疾病、患者的年龄和个体情况以及给药模式，并且在各个具体情形中应适应于个体的要求。

本发明的另外形式涉及一种制备含通式 (I) 衍生物的药物组合物的方法。根据所述步骤，通式 (I) 的一种或多种活性成分与已知的惰性赋形剂混合。

可以通过下述实施例中所描述的方法或类似方法制造通式 (I) 的化合物。

可以通过下述实施例中所给出的方法或类似方法制造通式 (I) 的化合物。本发明列举的四氢吡啶衍生物可以使用以下一般方法和步骤很容易从现有起始原料来制备。最佳反应条件可以随着特殊反应物或使用的溶剂而变化，但该条件可以由该领域熟练的技术人员通过常规优化过程来决定。

前体的制备：

前体是指被制备成关键中间体和/或砌块并同时适合于进行进一步转化的化合物。

例如，A 型化合物由已知的 4-氧基哌啶衍生物来制备（图 1），而 PG 表示一种适合的保护基。随后酰化产生 B 型化合物（Majewski, M; 等; J. Org. Chem., 1995, 60, 5825），而 R^a 为合适的酯（例如乙基、甲基和苯甲基）。

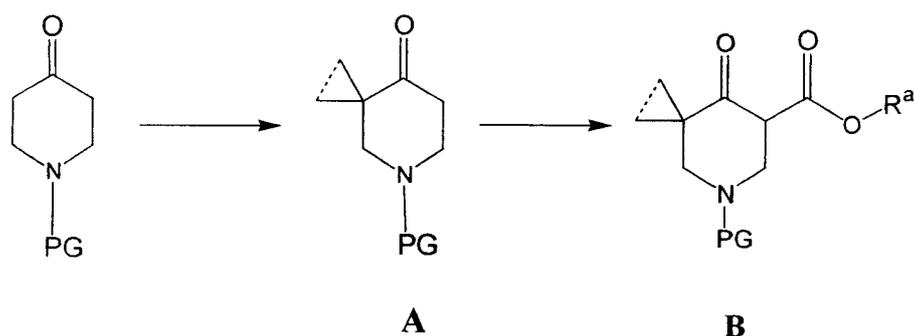


图 1

由 1、2 个替换环丙基的甲基在哌啶基 5 位取代的式 B 化合物可以从已知的起始原料通过类似的方法或按照已知的文献（专利申请 WO2001000577）来制备。形成三氟甲磺酸乙烯基酯 C，随后使用 Pd(0) 配合物进行偶联催化得到 D 型四氢吡啶基衍生物，其中 R^b 任选地表示如通式 I 中所定义的 U-V 基团或者该基团的化学前体（图 2）。

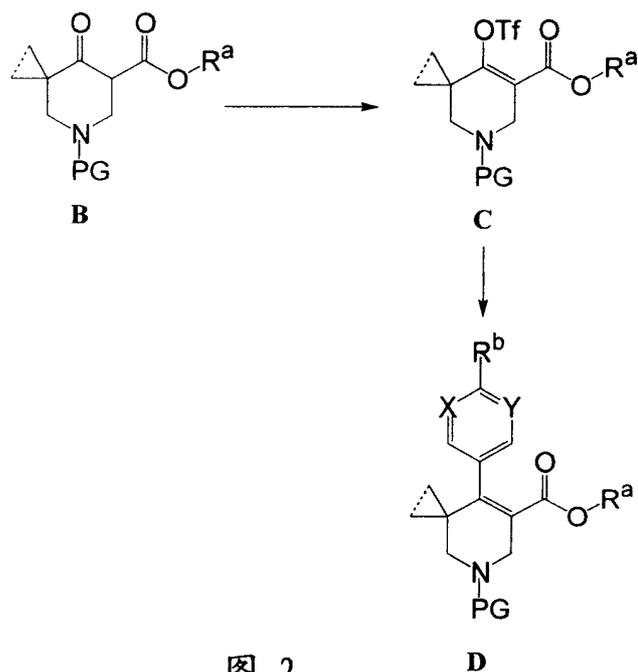


图 2

可以将 D 型化物脱保护成 E 型化合物，然后使用光延反应（*Mitsunobu reaction*）与苯酚或芳香醇偶联，得到其中 V 和 U 定义如上述通式 I 的 F 型衍生物。酯 F 通过任何适合的方法被任意切断得到前体 G（图 3）。

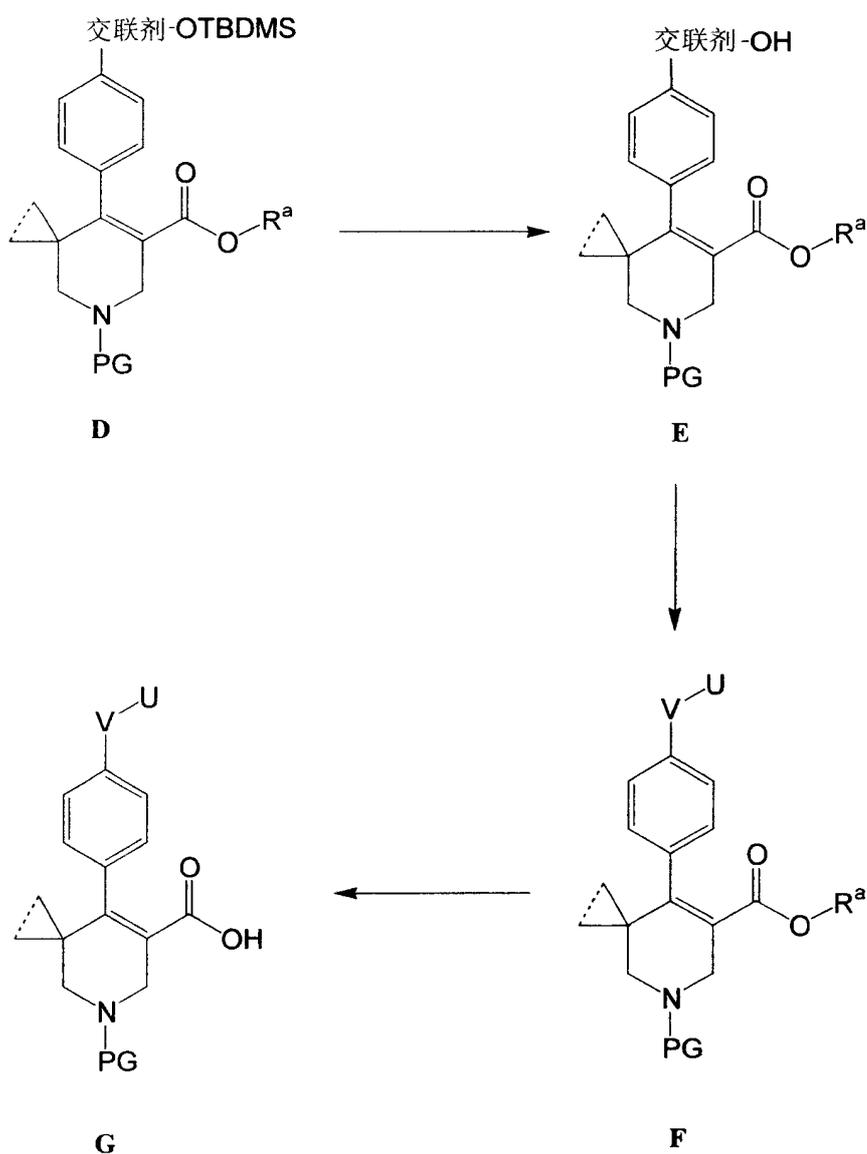


图 3

另外，可以将 D 型化合物还原为 M 型化合物，然后氧化得到 N 型化合物（图 4）。然后醛 N 可以通过还原胺化变成 O 型化合物，其接着酰化得到其中 Q 和 M 定义如上述通式 (I) 的 Q' 型衍生物。另一方面，M 型化合物可以按照标准程序酰化得到酯或 P 型氨基甲酸酯。

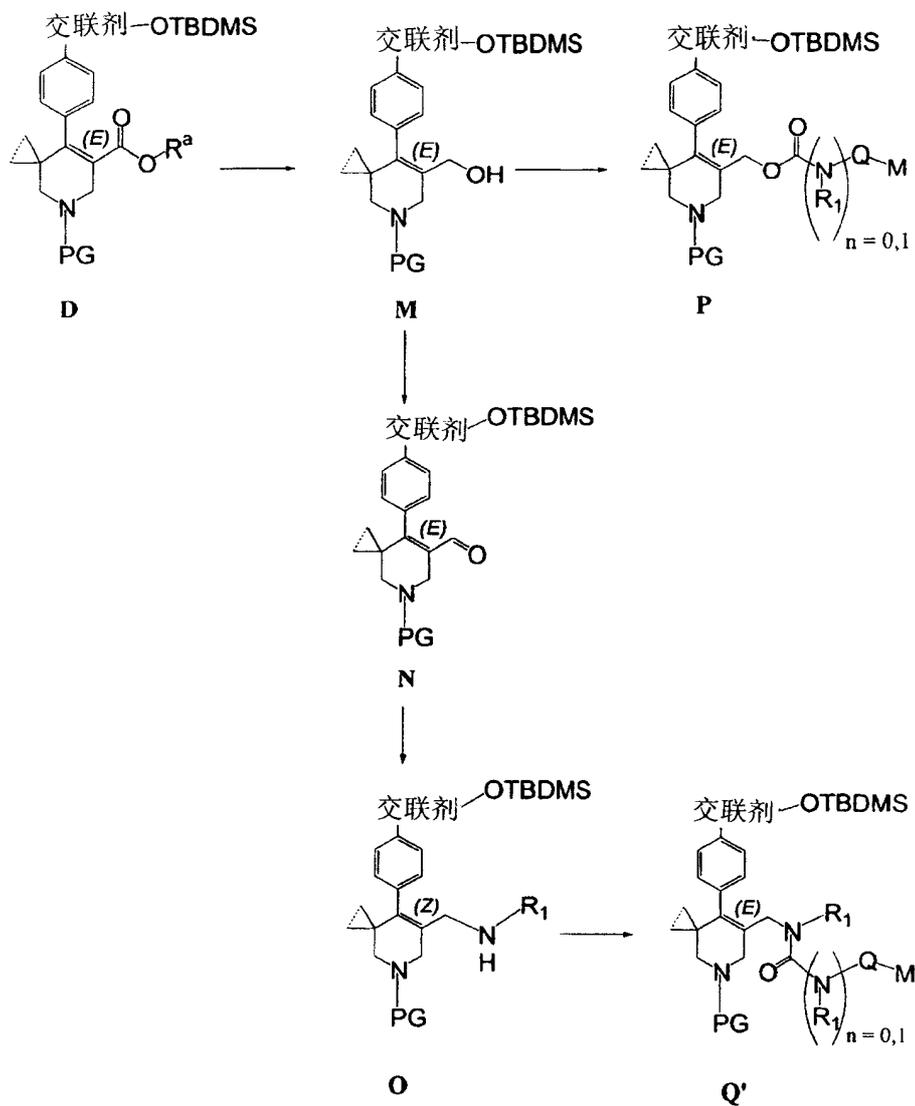


图 4

从市售的 N-保护的哌啶-4-酮 (S) 开始制备一氟化衍生物 (图 5)。通过一种试剂氟化传递 F^+ -合成子, 例如 DAST 或 Selectfluor[®], 可以产生 S'型衍生物。比如, 与次氨基乙酸甲酯酰化可以产生 T'型衍生物。然后使用以上描述的类似的化学作用 (图 2-4)。

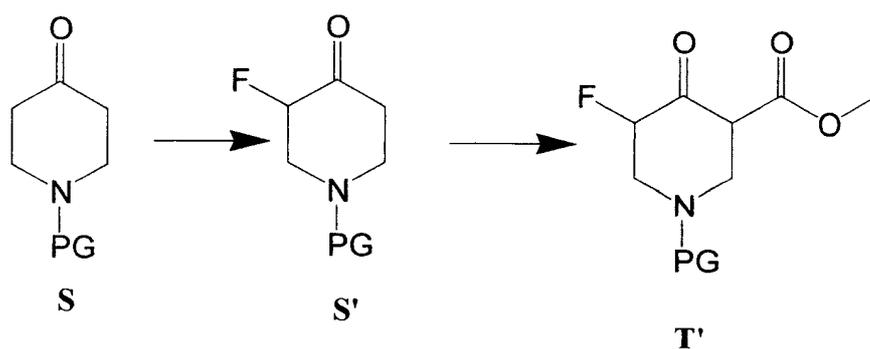


图 5

T''型二氟化衍生物必须通过一种不同的方法来制备(图6)。由N-苄基-β-丙氨酸乙酯与甲醛和苯并三唑生成化合物V。用Reformatsky型试剂反应得到化合物W。然后狄克曼(Dieckmann)环化生成结构类似于化合物C(图2)的化合物T''。

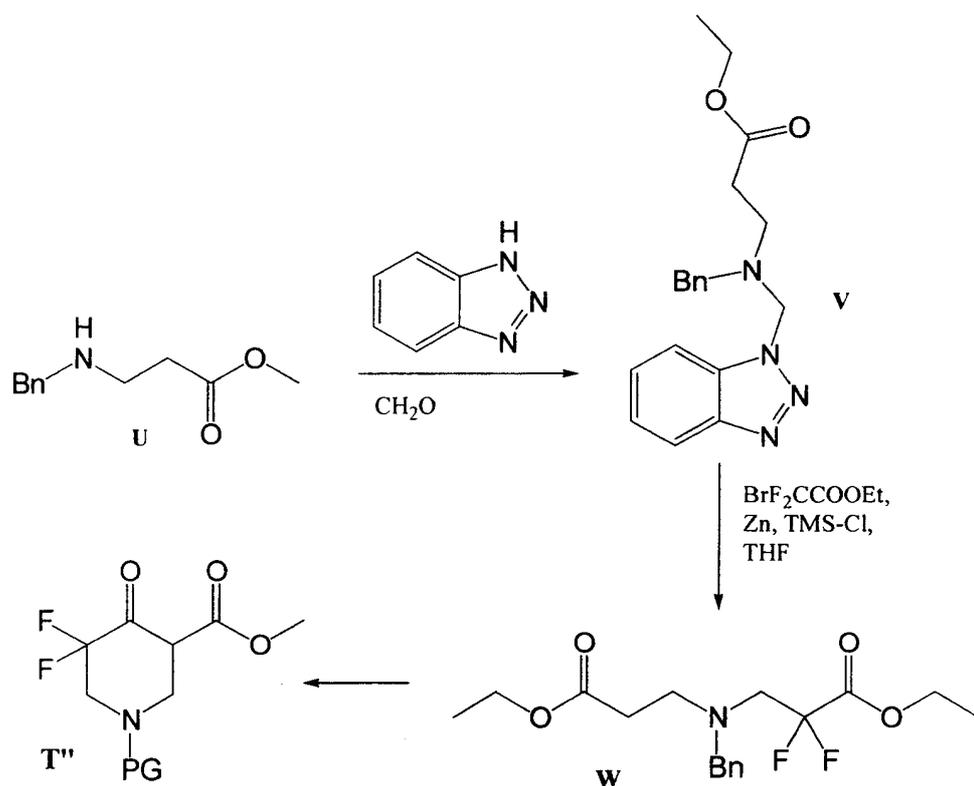


图 6

溴代芳基衍生物的制备

对于C型化合物耦合生成D型四氢吡啶衍生物(cf.图2),可能需要制备如图7描述的溴代芳基成分。Mitsunobu偶合生成H型化合物,

或一种醇和一种苄型的氯化物（或溴化物）烷化生成 J 型化合物通常是最方便的办法。通过 1-(3-氯代丙氧基甲基)-2-茴香醚与 4-溴苯酚反应一步制备衍生物 K (Vieira E. 等, *Bioorg. Med. Chem. Letters*, 1999, 9, 1397)。也可以使用用于制备醚或硫醚的其它方法, 像韦廉穆森合成法 (参考例如 March, J, "Advanced Organic Chemistry", 5th ed., John Wiley and sons, 2001)。

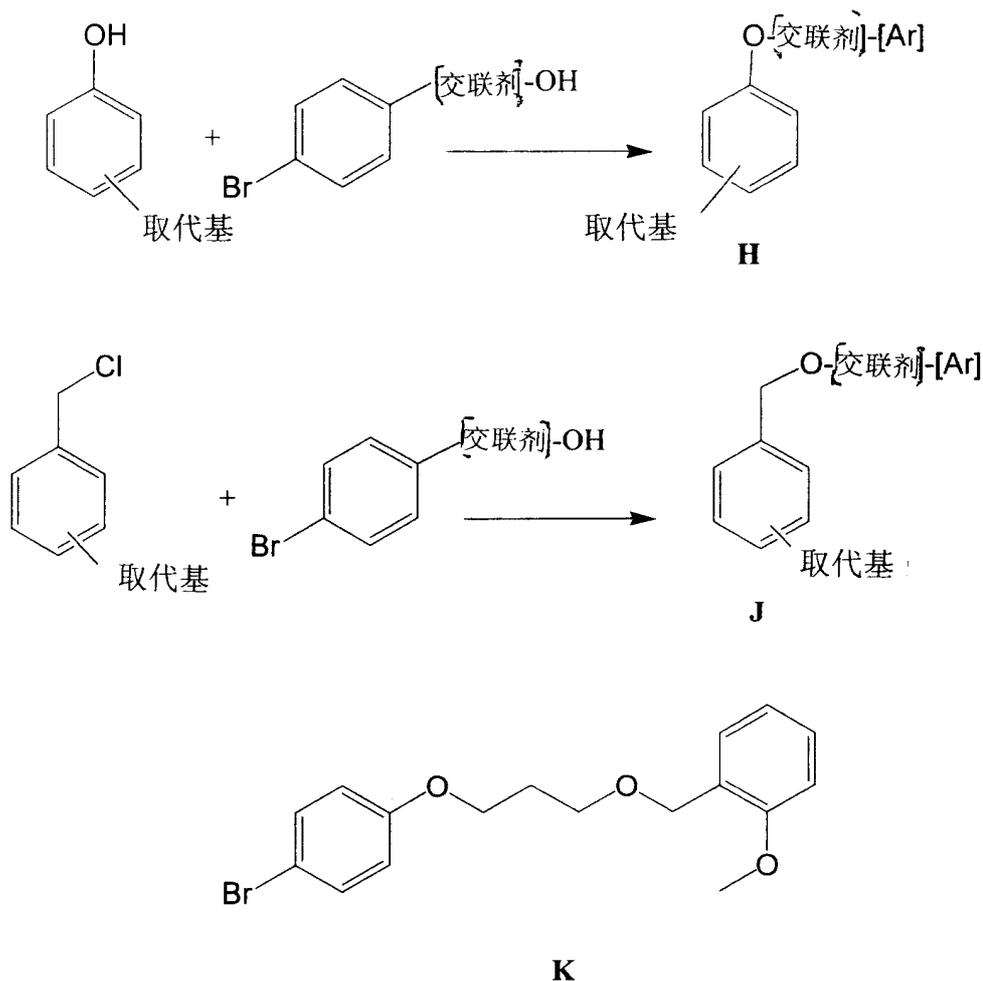


图 7

最终化合物的制备

G 型化合物可与胺偶联得到其中 V、U 和 M 定义如上述通式 (I) 的 L 型酰胺。脱去 N-保护基 (PG) 得到其中 V、U、Q 和 M 定义如上述通式 (I) 的 R 型最终化合物 (图 8)。

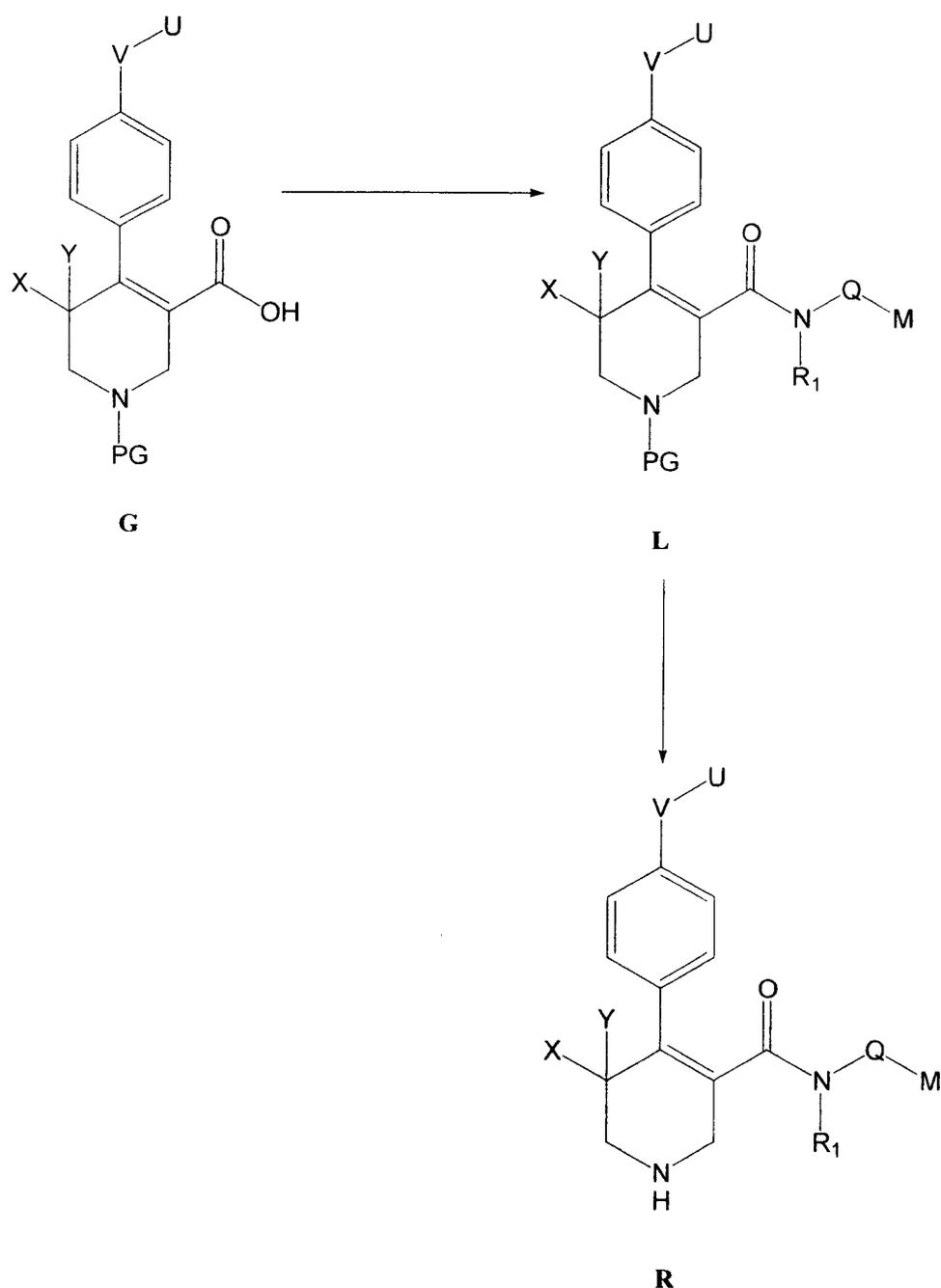


图 8

另外，P 型或 Q' 型化合物（图 4）可以如图 3 进一步反应，然后如图 8 去保护得到如通式 (I) 定义的最终化合物，使用了酰胺耦合和除去 Boc-保护基的两种一般程序。

概述

下述化合物是根据通式 I 所包含的化合物的合成所述的步骤制备的。所有的化合物是通过下述手段表征的： $^1\text{H-NMR}$ （300 MHz）并偶尔使用 $^{13}\text{C-NMR}$ （75 MHz）（Varian Oxford, 300 MHz，化学位移是以

相对于 TMS 的 ppm 的形式给出的); LC-MS: A: $2 \text{ min} < t_R < 10 \text{ min}$; (Waters Micromass; ZMD-平台, 带 ESI 探头、Alliance 2790 HT; 色谱柱: $2 \times 30 \text{ mm}$, Gromsil ODS4, $3 \mu\text{M}$, 120A, 梯度: 0~100% 乙腈水溶液, 6 min, 0.05% 甲酸, 流速: 0.45 mL/min ; t_R 以 min. 为单位), B: $0.1 \text{ min} < t_R < 2 \text{ min}$: (Finnigan AQA, 带 ESI-探头、HP 110 DAD 和 HP110 双泵; 色谱柱: Develosil RP-AQUEOUS, $5 \mu\text{M}$, $4.6 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$; 梯度: 5-95% 甲醇水溶液 (0.04% TFA), 1 min, 95% 甲醇水溶液 (0.04% TFA) 0.4 min, 4.5 mL/min .), TLC (TLC-薄板, 购自 Merck 公司, 硅胶 60 F₂₅₄).

缩写

ACE	血管紧张肽转化酶
Ang	血管紧张素
aq.	水溶液
9-BBN	9-硼环[3.3.1]壬烷
Bn	苯甲基
Boc	叔丁氧基羰基
BSA	牛血清白蛋白
BuLi	正丁基锂
conc	浓缩
DAST	二乙胺三氟化硫
DIBAL	二异丁基氢化铝
DIPEA	二异丙基乙胺
DMAP	4-N,N-二甲基氨基吡啶
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲基亚砷
EDC·HCl	乙基-N,N-二甲基氨基丙基碳二亚胺盐
	酸盐
EIA	酶免疫测定
eq.	当量
Et	乙基
EtOAc	乙酸乙酯
FC	快速闪蒸色谱
HOBt	羟基苯并三唑
MeOH	甲醇
org.	有机
PBS	磷酸盐缓冲液

PG	保护剂
Ph	苯基
RAS	血管紧张肽原酶血管紧张素系统
RP18	反相色谱柱，使用 C ₁₈ 烃填充
rt	室温
Selectfluor® sol.	溶液
TBAF	四丁基氟化铵
TBDMS	叔丁基二甲基甲硅烷基
^t BuOH	叔丁醇
^t BuOK	叔丁钾
Tf	三氟甲磺酰基
TFA	三氟乙酸
THF	四氢呋喃
TLC	薄层色谱
TMAD	<i>N,N,N',N'</i> -四甲基唑二氨甲酰

一般步骤

一般步骤 A

在室温下将所需要的羧酸(1.00 eq)、所需要的胺(2.00 eq)、EDC·HCl (1.10 eq.)、HOBt (催化量)、DMAP (催化量) 和 DIPEA (2.00 eq.) 的 CH₂Cl₂ (20 mL/g 的酸) 的溶液搅拌过夜。在硅藻土上冲洗反应混合物 (Isolute Sorbent Technology, Johnson, C. R.等, Tetrahedron, 1998, 54, 4097) 和并在减压条件下蒸馏有机萃取物。未经进一步纯化使用残渣。

一般步骤 B

将起始原料溶于 CH₂Cl₂ (10 mL/g 的起始原料) 并将该溶液冷却至 0°C。加入 4M HCl 的二氧六环 (和 CH₂Cl₂ 体积相同) 并在室温下将反应混合物静置 90 min。在减压条件下除去溶剂。通过 HPLC 纯化残渣得到所需要的混合物。

{2-[2-(叔丁基二甲基硅烷氧基)丙氧基]-3-甲基吡啶-4-基甲基}环丙基胺

2-氯-N-苯基异烟酰胺: 在 0°C 下, 在约 30 分钟内, 向 2-氯异

烟酰氯化物 (Anderson, W. K., Dean, D. C., Endo, T., *J. Med. Chem.*, 1990, 33, 1667, 10 g, 56.8 mmol) 的 1,2-二氯乙烷 (100 mL) 溶液加入溶有苯胺 (5.70 mL, 62.5 mmol) 和 DIPEA (10.2 ml, 59.6 mmol) 的 1,2-二氯乙烷 (10 mL) 溶液。该反应在 0°C 下搅拌约 30 分钟随后在 95°C 下搅拌 1 小时。在室温下加入水 (30 mL) 并滤出混合物。滤液用 CH₂Cl₂ (200 mL) 萃取。在 MgSO₄ 上干燥结合的有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。残渣在 MeOH/水 1: 10 (110 mL) 中结晶得到标题化合物 (12.12 g, 92%)。LC-MS: R_T = 0.87 min; ES⁺ = 233.1。2-氯-3-N-二甲基-N-苯基异烟酰胺: 在 -78°C 下, 向化合物 N (8.79g, 37.8 mmol) 的 THF (90 mL) 溶液中加入 BuLi (1.6M, 溶于己烷, 52 mL, 83.2 mmol)。30 分钟后, 在相同温度下逐滴加入 MeI (7.70 mL, 124 mmol)。混合物在 -78°C 下搅拌 1 小时并升温至 33°C。混合物在 33°C 下搅拌 30 分钟。在室温下逐滴加入 10% NH₄OH, 且混合物用 Et₂O 萃取。在 MgSO₄ 上干燥有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC 纯化, 得到标题化合物 (8.67 g, 88%)。LC-MS: R_T = 0.85 min; ES⁺ = 261.2。2-氯-3-甲基吡啶-4-甲醛: 在 -78°C 下, 向吡啶衍生物 O (9.58 g, 36.7 mmol) 的 CH₂Cl₂ (190 mL) 溶液加入 DIBAL (1M, 溶于 CH₂Cl₂, 55.1 mL, 55.1 mmol), 该混合物在 -78°C 下搅拌 1.5 小时。加入饱和的酒石酸单钠单钾盐水溶液 (20 mL) 并加热混合物至室温。加入水并用 CH₂Cl₂ 萃取混合物。在 MgSO₄ 上干燥有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC 纯化残渣, 得到标题化合物 (4.4 g, 77%)。LC-MS: R_T = 0.76 min; ES⁺ = 156.1。(2-氯-3-甲基吡啶-4-基甲基)-环丙基胺: 溶有醛 P (4.70 g, 30.2 mmol) 和环丙基胺 (4.20 ml, 60.4 mmol) 的 MeOH (65 mL) 在室温下搅拌 4 小时。加入 NaBH₄ (1.55 g, 39.2 mmol) 并在室温下搅拌混合物 12 小时。随后加入水和 1M NaOH, 并在减压条件下除去部分溶剂。用 CH₂Cl₂ 萃取水相 (2 次)。在 MgSO₄ 上干燥合成的有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。在 MgSO₄ 上干燥结合的有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC 纯化残渣, 得到标题化合物 (4.66 g, 79%)。LC-MS: R_T = 0.43 min; ES⁺ = 197.1。{2-[2-(叔丁基二甲基硅烷氧基)丙氧基]-3-甲基吡啶-4-基甲基}环丙基胺: 溶有胺 Q (1.30 g, 6.61 mmol) 和 2-(叔丁基二甲基硅烷氧基)丙醇 (433 mg, 10.58 mmol) 的二氧己环 (5 mL) 溶液在 115°C 下加热 12 小时。在减压条件下除去溶剂, 加入水, 用 Et₂O 萃取混合物 (2 次)。在 MgSO₄ 上干燥结合的有机萃取物, 过滤,

并在减压条件下除去溶剂。通过 FC 纯化残渣, 得到标题化合物(926 mg, 42%)。LC-MS: $R_T = 0.79$ min; $ES^+ = 337.3$ 。

前体

8-氧代-5-氮杂螺[2.5]辛烷-5-羧酸叔丁酯 (A1)

向 $t\text{BuOK}$ (0.28 g, 2.5 mmol) 的 $t\text{BuOH}$ (4 mL) 溶液加入 1-Boc-4-哌啶酮 (0.50 g, 2.5 mmol)。搅拌 5 分钟后逐份加入 2-氯乙烷二甲基碘化铊 (0.57 g, 2.25 mmol, P. Kraft, *Synthesis*, 1999, 4, 695) 超过 15 分钟。搅拌 2 小时后再次加入 $t\text{BuOK}$ (0.28 g, 2.5 mmol) 的 $t\text{BuOH}$ (4 mL) 溶液并连续搅拌一整夜。该反应混合物倒入水中并用 EtOAc 萃取 (3 次)。在 Na_2SO_4 上干燥结合的有机相, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EA/庚烷, 1/9, 3/7, 1/1) 纯化残渣, 得到标题化合物 (0.22 g, 40%)。

3,3-二甲基-4-羰基哌啶-1-羧酸叔丁酯 (A2)

在 0°C 下, 向 N-Boc-哌啶酮-4- (13.6 g, 68.0 mmol) 的 THF (350 mL) 溶液加入 NaH (60%, 悬浮于油中, 5.71 g, 143 mmol)。加入 MeI (10.6 mL, 170 mmol)。该混合物在 0°C 下搅拌 30 分钟并升温至室温。加入饱和 NH_4Cl 水溶液并用 EtOAc 萃取混合物, 该有机萃取物用盐水洗涤并在 MgSO_4 上干燥, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 8: 2) 纯化残渣, 然后从庚烷中结晶得到标题混合物 (11.0 g, 73%)。

8-氧代-5-氮杂-螺[2.5]辛烷-5,7-二羧酸 5-叔丁酯 7-甲酯 (B1)

在 -78°C 下, 向二异丙基胺 (1.4 mL, 9.9 mmol) 的 THF (50 mL) 溶液中逐滴加入 $n\text{-BuLi}$ (1.6M, 溶于己烷, 6.6 mL, 9.9 mmol)。该溶液在 -78°C 下搅拌 1 小时。逐滴加入化合物 A1 (2.03 g, 9 mmol) 的 THF (20 mL) 溶液。该反应混合物在 -78°C 下搅拌 3 小时, 然后加入甲基氰基甲酸酯 (0.93 mL, 11.7 mmol)。在 -78°C 下搅拌反应混合物 30 分钟后加入 AgNO_3 (2.2 g, 12.9 mmol) 的 $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ (1: 1, 20 mL) 溶液。10 分钟后加入 H_2O (15 mL) 和 AcOH (15 mL) 并将反应混合物升温至室温。加入 25% NH_3 直到 Ag-盐完全溶解。用 EtOAc (1 次) 和 CH_2Cl_2 (2 次) 萃取该反应混合物。在 MgSO_4 上干燥结合的有机萃取

物，过滤，并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 9) 纯化残渣得到标题混合物 (1.32 g, 52%)。LC-MS: $t_R = 1.03$ min; ES+: 284.10。

5,5-二甲基-4-羰基-哌啶-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 3-甲酯 (B2)

将二异丙基胺 (4.20 mL, 29.7 mmol) 的 THF (90 mL) 溶液冷却至 -78°C 。加入 BuLi (1.6M, 溶于己烷, 19.8 mL, 29.7 mmol) 并在 -78°C 下搅拌 1 小时。加入化合物 A2 (6.14 g, 27 mmol) 的 THF (60 mL) 溶液并在 -78°C 下搅拌混合物 3 小时。加入甲基氰基甲酸酯 (2.79 mL, 35.1 mmol) 并在 -78°C 下搅拌混合物 30 分钟。加入 AgNO_3 (6.56 g, 38.6 mmol) 的 $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ (1: 1, 60 mL) 溶液。10 分钟后加入 H_2O (45 mL) 和 AcOH (45 mL) 并将反应混合物升温至室温。加入氨树胶 (25%, 溶于水中) 直到 Ag-盐完全溶解。用 EtOAc (1 次) 和 CH_2Cl_2 (2 次) 萃取该反应混合物。在 MgSO_4 上干燥结合的有机萃取物，过滤，并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 19 \rightarrow 1: 9) 纯化残渣得到标题混合物 (6.01g, 78%)。LC-MS: $t_R = 1.03$ min。

8-三氟甲烷硫酰氧基-5-氮杂-螺[2.5]辛-7-烯-5,7-二羧酸 5-叔丁酯 7-甲酯 (C1)

在 0°C 下，向 NaH (悬浮于油中, 55~65%, 0.72 g, 约 18 mmol) 的 THF (60 mL) 的悬浮液中加入化合物 B1 (2.55 g, 9.00 mmol) 的 THF (20 mL) 溶液。该悬浮液在 0°C 下搅拌 30 分钟。在室温下加入 Tf_2NPh (4.8 g, 13.5 mmol) 并在 50°C 下搅拌反应混合物 18 小时。冷却混合物至室温，加入冰，在减压条件下除去溶剂。用 EtOAc 稀释残渣并用 10% Na_2CO_3 洗涤。在 MgSO_4 上干燥有机萃取物，过滤，并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 4) 纯化残渣得到标题混合物 (2.10 g, 56%)。LC-MS: $t_R = 1.08$ min; ES+: 416.03。

5,5-二甲基-4-三氟甲烷硫酰氧基-5,6-二氢-2H-吡啶-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 3-甲酯 (C2)

从化合物 B2 开始用类似制备化合物 C1 的方法制备。通过 FC ($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1: 19 \rightarrow 1: 9) 纯化残渣得到标题混合物 (2.15 g, 80%)。LC-MS: $t_R = 1.09$ min。

1-苯甲基-5,5-二氟-4-三氟甲烷硫酰氧基-1,2,5,6-四氢-吡啶-3-羧酸乙酯 (C3)

在 0°C 下, 向 NaH (悬浮于油中, 约 60%, 0.27 g, 约 6.8 mmol) 的 THF (20 mL) 的悬浮液中加入溶有化合物 T'' (1.01 g, 3.4 mmol) 的 THF (15 mL)。30 分钟后除去冰浴并加入 Tf₂NPh (1.82 g, 5.1 mmol)。该混合物在 45°C 下加热 72 小时。冷却混合物至室温加入冰, 并在减压条件下蒸馏 THF。加入 EtOAc 分离相并用 10% Na₂CO₃ 洗涤 (1 次) 有机相。在 MgSO₄ 上干燥有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 5: 95 → 1: 9) 纯化残渣得到标题混合物 (1.46 g, 定量的产量)。LC-MS: R_t = 1.13 min, ES+: 430.13。

8-{4-[3-(叔丁基二甲基硅烷氧基)丙基]苯基}-5-氮杂-螺[2.5]辛-7-烯-5,7-二羧酸 5-叔丁酯 7-甲酯 (D1)

在 -78°C 下, 向 [3-(4-溴苯基)丙氧基]-叔丁基二甲基甲硅烷 (Kiesewetter D. O., *Tetrahedron Asymmetry*, 1993, 4, 2183; 0.82 g, 2.5 mmol) 的 THF (10 mL) 溶液中加入 BuLi (1.5M, 溶于己烷, 1.7 mL, 2.56 mmol)。该溶液在 -78°C 下搅拌 30 分钟, 并加入 ZnCl₂ (1M, 溶于 THF, 3 mL, 3 mmol)。所得溶液升温至室温, 并加入化合物 C1 (0.41 g, 1 mmol) 和 Pd (PPh₃)₄ (23 mg, 0.02 mmol)。室温下 20 分钟后向反应混合物加入冰。在减压条件下除去溶剂并用 EtOAc 稀释残渣。混合物用 1M NaOH 洗涤。在 MgSO₄ 上干燥有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 9) 纯化残渣得到标题混合物 (0.75 g, 56%)。LC-MS: t_R = 1.28 min; ES+: 516.42。

4-{4-[3-(叔丁基二甲基硅烷氧基)丙基]苯基}-5,5-二甲基-5,6-二氢-2H-吡啶-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 3-甲酯 (D2)

从化合物 C2 开始用类似制备化合物 D1 的方法制备。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 9) 纯化残渣得到标题混合物 (832 mg, 40%)。LC-MS: t_R = 1.29 min; ES+: 518.28。

1-苯甲基-4-{4-[3-(叔丁基二甲基硅烷氧基)丙基]苯基}-5,5-二氟-1,2,5,6-四氢吡啶-3-羧酸乙酯 (D3)

在 -78°C 下, 向 [3-(4-溴苯基)丙氧基]-叔丁基二甲基甲硅烷

(Kiesewetter D. O., *Tetrahedron Asymmetry*, 1993, 4, 2183; 1.69 g, 5.1 mmol) 的 THF (15 mL) 溶液中加入 BuLi (1.6M, 溶于己烷, 3.4 mL, 5.4 mmol)。该溶液在 -78°C 下搅拌 30 分钟, 并加入 ZnCl_2 (1M, 溶于 THF, 5.78 mL, 5.78 mmol)。所得溶液升温至室温, 并加入溶有化合物 C3 (1.46 g, 3.4 mmol) 的 THF (10 mL) 和 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (98 mg, 0.08 mmol)。该混合物在 45°C 下加热 18 小时。加入冰, 在减压条件下除去溶剂并用 EtOAc 稀释残渣。用 1M NaOH 洗涤混合物。在 MgSO_4 上干燥有机相, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 5: 95 \rightarrow 1: 9) 纯化残渣得到标题混合物 (1.25 g, 69%)。LC-MS: $R_t = 1.28$ min, $\text{ES}^+ = 530.39$ 。

8-[4-(3-羟基丙基)苯基]-5-氮杂-螺[2.5]辛-7-烯-5,7-二羧酸 5-叔丁酯 7-甲酯 (E1)

向化合物 D1 (0.94 g, 1.82 mmol) 的 THF (13 mL) 溶液中加入 TBAF (1.90 g, 6.00 mmol)。该反应混合物在室温下搅拌 6 小时并用 EtOAc 稀释。所得混合物用水和盐水洗涤。在 MgSO_4 上干燥有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 2: 3) 纯化残渣得到标题混合物 (0.58 g, 80%)。LC-MS: $t_R = 1.01$ min; ES^+ : 402.21。

4-[4-(3-羟基丙基)苯基]-5,5-二甲基-5,6-二氢-2H-吡啶-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 3-甲酯 (E2)

从化合物 D2 开始用类似制备化合物 E1 的方法制备。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 1) 纯化残渣得到标题混合物 (0.41 g, 64%)。LC-MS: $t_R = 1.02$ min; ES^+ : 404.16, 弱。

5,5-二氟-4-[4-(3-羟基丙基)苯基]-5,6-二氢-2H-吡啶-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 3-乙酯 (E3)

向溶有化合物 D3 (1.11 g, 2.1 mmol) 和 Boc_2O (0.5 g, 2.3 mmol) 的 EtOH (10 mL) 的溶液吹入 N_2 。加入 Pd/C (10%, 0.1 g) 并向悬浮液中吹入 H_2 。在 H_2 气氛下将反应混合物搅拌 24 小时, 然后使用硅藻土过滤。在减压条件下蒸馏滤液。使用 FC (EtOAc/庚烷 1: 1) 纯化, 得到标题化合物 (0.8 g, 90%)。LC-MS: $R_t = 1.02$ min, $\text{ES}^+ = 426.24$ 。

8-{4-[3-(2-氯-3,6-二氟苯氧基)丙基]苯基}-5-氮杂-螺

[2.5] 辛-7-烯-5,7-二羧酸 5-叔丁酯 7-甲酯 (F1)

溶有化合物 E1 (580 mg, 1.45 mmol)、2-氯-3,6-二氟苯酚 (280 mg, 1.74 mmol)、唑二羧基二哌啶 (550 mg, 2.17 mmol) 和三丁基磷化氢 (0.71 mL, 2.9 mmol) 的甲苯溶液 (14 mL) 在室温下搅拌 1 小时, 然后在 80°C 下搅拌 1 小时。该反应混合物冷却在室温, 用 EtOAc 稀释并用水洗涤。在 MgSO₄ 上干燥有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 19 → 1: 9 → 1: 4) 纯化残渣得到标题混合物 (0.71 g, 89%)。LC-MS: t_R = 1.23 min; ES+: 548.23。

4-{4-[3-(2-氯-3,6-二氟苯氧基)丙基]苯基}-5,5-二甲基-5,6-二氢-2H-吡啶-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 3-甲酯 (F2)

从化合物 E2 开始用类似制备化合物 F1 的方法制备。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 19 → 1: 9 → 2: 8) 纯化残渣得到标题混合物 (0.31 g, 57%)。LC-MS: t_R = 1.25 min。

4-{4-[3-(2-氯-3,6-二氟苯氧基)丙基]苯基}-5,5-二氟-5,6-二氢-2H-吡啶-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 3-乙酯 (F3)

溶有化合物 E3 (0.79 g, 1.92 mmol)、2-氯-3,6-二氟苯酚 (0.38 g, 2.30 mmol)、唑二羧基二哌啶 (0.73 g, 2.88 mmol) 和三丁基磷化氢 (0.95 mL, 3.84 mmol) 的甲苯溶液 (20 mL) 在室温下搅拌 30 小时, 然后在 65°C 下搅拌 1 小时。该反应混合物冷却在室温, 用 EtOAc 稀释并用水洗涤。在 Na₂SO₄ 上干燥有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 9 → 2: 8) 纯化残渣得到标题混合物 (1.1 g, 定量的产量)。LC-MS: R_t = 1.22 min, ES+ = 572.36, 516.2。

**8-{4-[3-(2-氯-3,6-二氟苯氧基)丙基]苯基}-5-氮杂-螺
[2.5] 辛-7-烯-5,7-二羧酸 5-叔丁酯 (G1)**

向化合物 F1 (712 mg, 1.30 mmol) 的 EtOH (13 mL) 溶液加入 1M NaOH (13 mL)。所得混合物在 80°C 下搅拌 90 分钟, 然后冷却至室温。加入 1M HCl (13 mL), 所得混合物用 EtOAc 萃取 (3 次)。在 MgSO₄ 上干燥结合的有机萃取物, 过滤, 并在减压条件下除去溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 3: 7 → 1: 1) 纯化残渣得到标题混合物 (0.70 g, 定量的产量)。LC-MS: t_R = 1.15 min; ES+: 534.16。

4-{4-[3-(2-氯-3,6-二氟苯氧基)丙基]苯基}-5,5-二甲基-5,6-二氢-2H-吡啶-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 (G2)

从化合物 F2 开始用类似制备化合物 G1 的方法制备。通过 FC (EtOAc/庚烷 2: 3 → 1: 1) 纯化残渣得到标题混合物 (0.27 g, 89%)。LC-MS: $t_R = 1.16$ min。

4-{4-[3-(2-氯-3,6-二氟苯氧基)丙基]苯基}-5,5-二氟-5,6-二氢-2H-吡啶-1,3-二羧酸 1-叔丁酯 (G3)

向化合物 F3 (1.09 g, 1.90 mmol) 的 EtOH (19 mL) 溶液加入 1M NaOH (19 mL)。所得混合物在室温下搅拌 4 小时，并加入 1M HCl (20 mL)，所得混合物用 EtOAc 萃取 (3 次)。在 $MgSO_4$ 上干燥结合的有机萃取物，过滤，并在减压条件下除去溶剂。标题混合物无需进一步纯化。LC-MS: $R_t = 1.22$ min, $ES^+ = 544.18$ 。

3-(苯并三唑-1-基甲苯甲基胺)丙酸乙酯 (V)

向苯并三唑 (1.19 g, 10 mmol) 的 MeOH (7 mL) 溶液加入 *N*-苯甲基-β-丙氨酸乙酯 (2.07 g, 10 mmol)，随后加入 37% 甲醛水溶液 (0.99 mL, 12 mmol)。该溶液搅拌一整夜，然后在减压条件下蒸馏溶剂。通过 FC (EtOAc/庚烷 3: 7) 纯化残渣得到标题混合物 (3.24 g, 96%)。

3-[苯甲基-(2-乙氧羰基乙基)胺基]-2,2-二氟丙酸乙酯 (W)

在氮气下，向锌粉 (1.25 g, 19.2 mmol) 的干燥 THF (15 mL) 悬浮液中加入 TMS-Cl (1.27 mL, 10.1 mmol)。10 分钟后缓慢加入乙基溴代二氟乙酸盐 (1.36 mL, 10.6 mmol)，10 分钟后，加入化合物 V (3.24 g, 9.6 mmol) 的 THF (6 mL) 溶液。之后在室温下搅拌 18 小时，将混合物倒入 5% $NaHCO_3$ 水溶液 (20 mL) 上，并用硅藻土过滤。分离层并用 EtOAc (2 次 20 mL) 萃取水相。用 1M HCl (40 mL) 洗涤该结合的有机层，并在 $MgSO_4$ 上干燥。在减压条件下蒸馏溶剂后残渣用乙醚稀释。过滤除去形成的固体并蒸馏乙醚。通过 FC (EtOAc/庚烷 2: 8) 纯化残渣得到标题混合物 (3.07 g, 93%)。LC-MS: $R_t = 1.06$ min, $ES^+ = 344.26$ 。

1-苯甲基-5,5-二氟-4-羟基-1,2,5,6-四氢吡啶-3-羧酸乙酯 (T'')

在 -78°C 下，在氮气下，向二异丙基胺（2.08 mL，14.9 mmol）的 THF（150 mL）溶液加入 BuLi（1.6M，溶于己烷，8.52 mL，13.64 mmol），45 分钟后加入溶有化合物 W（2.13 g，6.2 mmol）的 THF（50 mL）。除去冷却浴并缓慢加热反应混合物一整夜。加入饱和 NH_4Cl 水溶液（200 mL）以分离层。用 EtOAc（3 次 150 mL）萃取水相。用盐水洗涤结合的有机层并于 Na_2SO_4 上干燥。通过 FC（EtOAc/庚烷 1: 9）纯化残渣得到标题混合物（1.5 g，81%）。LC-MS: $R_t = 1.04$ min, $\text{ES}^+ = 298.22$ 。

实施例

实施例 1

8- {4- [3- (2-氯-3,6-二氟苯氧基)丙基]苯基}-5-氮杂螺[2.5]辛-7-烯-7-羧酸环丙基-[2- (2-羟基丙氧基) -3-甲基吡啶-4-基甲基]酰胺

从化合物 G1（0.1 mmol）和 {2-[2- (叔丁基二甲基硅烷氧基) 丙氧基]-3-甲基吡啶-4-基甲基} 环丙基胺开始，根据一般步骤 A 和 B 制备。

实施例 2

4- {4- [3- (2-氯-3,6-二氟苯氧基) 丙基]苯基}-5,5-二甲基-1,2,5,6-四氢-吡啶-3-羧酸环丙基-[2- (2-羟基丙氧基) -3-甲基吡啶-4-基甲基]酰胺

从化合物 G2（0.1 mmol）和 {2-[2- (叔丁基二甲基硅烷氧基) 丙氧基]-3-甲基吡啶-4-基甲基} 环丙基胺开始，根据一般步骤 A 和 B 制备。LC-MS: $R_t = 0.89$ min, $\text{ES}^+ : 654.32$ 。

实施例 3

4- {4- [3- (2-氯-3,6-二氟苯氧基) 丙基]苯基}-5,5-二氟-1,2,5,6-四氢吡啶-3-羧酸环丙基 (2,3-二氯苯甲基) 酰胺

溶有化合物 G3（0.52 g，0.95 mmol）、(2,3-二氯苯甲基) 环丙基胺（0.61 g，2.85 mmol）、DMAP（0.03 g，0.24 mmol）、DIPEA（0.66 mL，3.8 mmol）、HOBt（0.18 g，1.19 mmol）和 EDC·HCl（0.27 g，1.42 mmol）的 CH_2Cl_2 （20 mL）溶液搅拌 72 小时。该混合物用 CH_2Cl_2 稀释，用 1M HCl（2 次）和盐水（1 次）洗涤。在 MgSO_4 上干燥有机相，过滤，并在减压条件下除去溶剂。通过 FC（EtOAc/庚烷 1: 9 \rightarrow 2: 8 \rightarrow 4: 6）

纯化残渣得到标题混合物 (0.38 g, 两步产率: 54%)。LC-MS: $R_t = 1.29$ min, $ES^+ = 743.37$ 。形成的化合物溶于 CH_2Cl_2 (5 mL) 并将溶液冷却至 $0^\circ C$ 。加入溶有 4M HCl 的二氧己环 (5 mL) 并在室温下搅拌反应混合物 90 分钟。在减压条件下除去溶剂。残渣溶于 EtOAc 并用 1N NaOH 溶液洗涤 (2 次)。通过 FC (EtOAc/庚烷 1: 1 \rightarrow 1: 0) 纯化残渣得到标题混合物 (0.23 g, 71%)。LC-MS: $R_t = 1.00$ min, $ES^+ = 643.24$ 。

生物鉴定试验:

进行下述试验以便测定通式 (I) 的化合物及其盐的活性。

体外试验:

通过本发明的化合物对人重组血管紧张肽原酶的抑制

在 384 孔聚丙烯板 (Nunc) 中实施体外酶试验。试验缓冲剂由包含 1 mM EDTA 和 0.1% BSA 的 10 mM PBS (Gibco BRL) BSA 组成。孵化液由 50 μ L 每孔的酶混合物和 2.5 μ L 的溶于 DMSO 血管紧张肽原酶抑制剂组成。酶混合物是在 $4^\circ C$ 下预混和的并且包括下述组分:

- 人重组血管紧张肽原酶 (0.16 ng/mL)
- 合成人血管紧张素 (1-14) (0.5 μ M)
- 羟基喹啉硫酸酯 (1 mM)

将该混合物在 $37^\circ C$ 下孵化 3 小时。

通过在 384 孔板 (Nunc) 进行酶免疫测定 (EIA) 检测累积的 Ang I, 以测定酶活性及其抑制。将 5 μ L 氟化物或标准品转移到免疫板中, 其中在该免疫板上预先涂布有 Ang I 和牛血清清蛋白的共价配合物 (Ang I-BSA)。加入溶于包含 0.01% 聚山梨酸酯 20 的上述试验缓冲液的 75 μ L Ang I-抗体, 并且在 $4^\circ C$ 下培育初步孵化一整夜。使用包含 0.01% 聚山梨酸酯 20 的 PBS 洗涤孵化板 3 次, 然后使用抗兔-过氧化物酶偶联抗体 (WA 934, Amersham) 在室温下孵化 2 小时。在水洗 3 次后, 加入过氧化物酶基质 ABTS (2,2'-连氨基-二-(3-乙基-苯并噻唑啉磺酸酯), 并在室温下将该板孵化 60 分钟。使用 pH 为 4.3 的 0.1 M 柠檬酸终止反应后, 在微板读数器中在 405 nm 下评价该孵化板。计算每个集中点的抑制百分比并且测定在酶活性被抑制 50% (IC_{50}) 时的血管紧张肽原酶抑制的浓度。

体内试验

可以根据 Schnell 等描述的方法 (*Am. J. Physiol.* 264 (Heart Circ. Physiol.33), 1993, H1509—H1516) 来测试本发明的化合物。