

## 缬(丙)-酪和缬-酪-酪肽类化合物的合成和生物活性

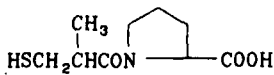
陈佩林 彭司勋 杨祯祥

(中国药科大学药物化学研究室, 南京 210009)

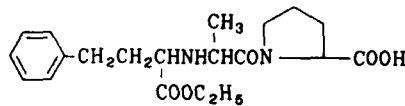
**摘要** 以天然血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI) $I_5B_2$ , WF-10129 为先导化合物, 结合现有 ACEI 的结构特征, 设计和合成了含缬-酪-酪( $I_{1-4}$ )和缬(丙)-酪( $II_{1-6}$ )肽类化合物。初步药理试验表明,  $II$  类化合物体外均有不同程度抑制 ACE 的活性, 其中以  $II_5$  活性最强( $IC_{50} = 7.9 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ ), 体内抑制血管紧张素 I(AI) 的升压活性也以  $II_5$  和  $II_4$  最强, 与卡托普利相仿。

**关键词** 血管紧张素转化酶抑制剂; 缬-酪-酪肽类; 缬(丙)-酪肽类; 构效关系

卡托普利(captopril), 依那普利(enalapril)等都是口服有效的血管紧张素转化酶抑制剂(A-CEI), 已广泛用于临床, 治疗高血压和充血性心力衰竭<sup>(1)</sup>。它们虽疗效好, 但仍有一些副作用, 如过敏性皮疹、蛋白尿、雷诺氏现象等<sup>(2)</sup>。因此, 继续寻找疗效更高、副作用更少的新型 ACEI 具有一定意义。

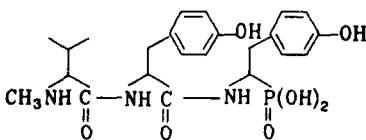
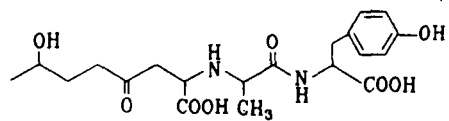


Captopril

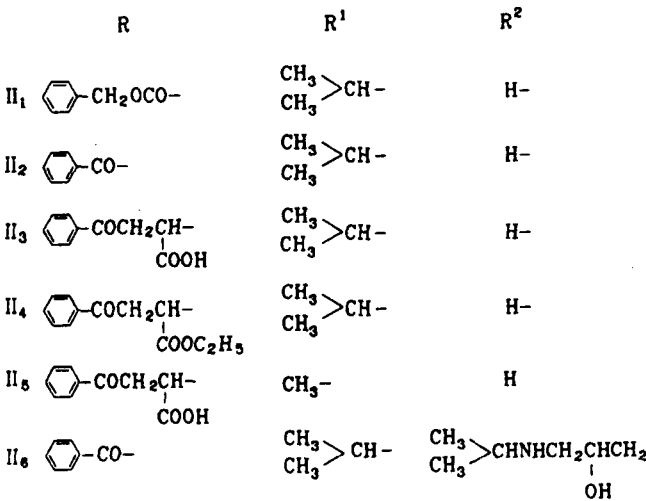
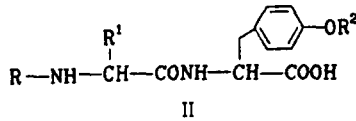
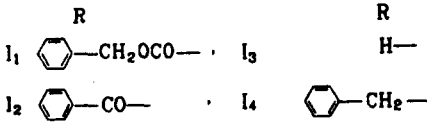
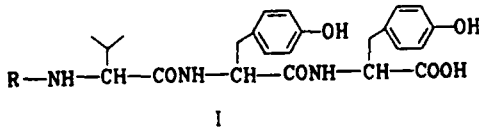


Enalapril

$I_5B_2$ <sup>(3)</sup>, WF-10129<sup>(4)</sup>是从微生物发酵液中分离得到的 ACEI, 有较强的活性, 结构中均含有缬(丙)-酪[Val(Ala)-Tyr]二肽片断。此外, Val-Tyr 是血管紧张素 I(AI) 结构中的片断, 本身有一定的抑制血管紧张素转化酶(ACE)活性( $IC_{50} = 2.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ )<sup>(6)</sup>。迄今所报道的有效 ACEI 大多为丙-脯(Ala-Pro)和苯丙-丙-脯(Phe-Ala-Pro)肽类的类似物。卡托普利的构效关系研究表明, 末端羧基被磷酸基取代, 活性降低<sup>(5)</sup>, 推测若把  $I_5B_2$  末端的磷酸基用羧基取代, 有可能提高其活性。因此我们设计合成了缬-酪-酪(Val-Tyr-Tyr, I)和缬(丙)-酪[Val(Ala)-Tyr, II]肽类化合物, 以期获得对 ACE 有较大亲和力的抑制剂。

 $I_5B_2$ 

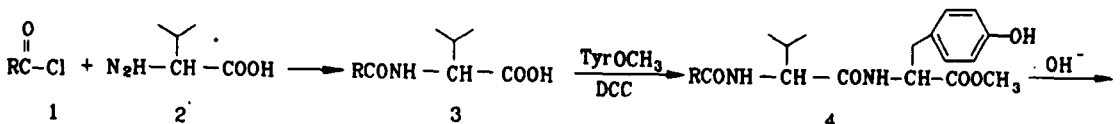
WF-10129



上述化合物除 I<sub>1</sub> 及 II<sub>1</sub> 外,其余均未见文献报道。

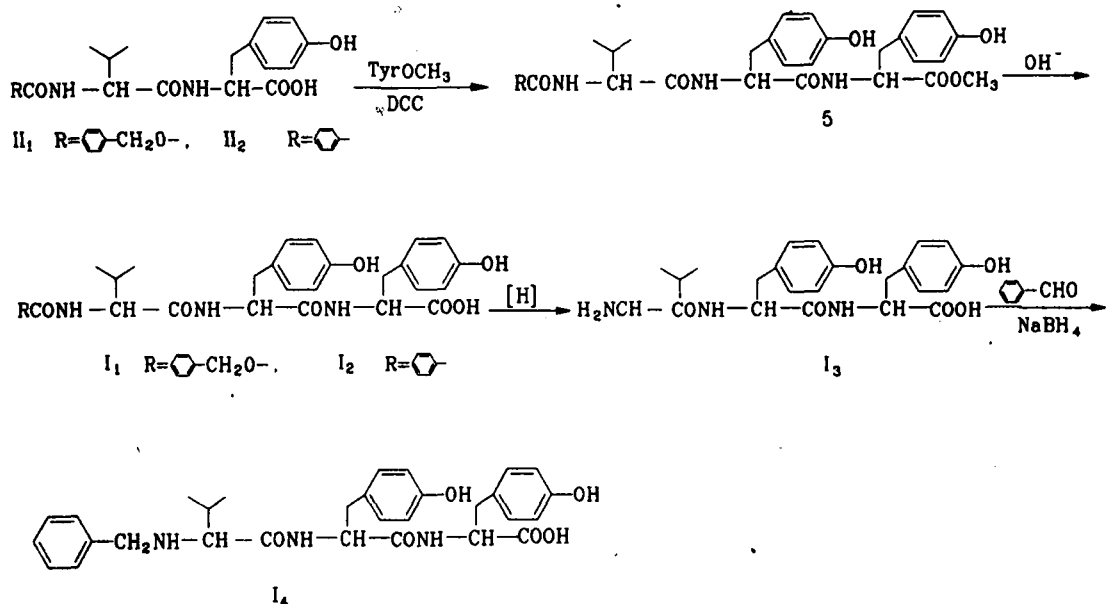
I<sub>1</sub>~<sub>4</sub> 和 II<sub>1</sub>~<sub>2</sub> 的合成:氮上引入保护基后的 L-缬氨酸(3)与 L-酪氨酸甲酯<sup>(7)</sup> 缩合得化合物 4,水解得 II<sub>1,2</sub>。II<sub>1,2</sub> 与 L-酪氨酸甲酯缩合得化合物 5,经水解后得 I<sub>1,2</sub>。将 I<sub>1</sub> 氢解得 I<sub>3</sub>。在碱性条件下,I<sub>3</sub> 与苯甲醛形成 Schiff 碱后用钠硼氢还原得 I<sub>4</sub>。

在化合物 5 的合成过程中,以甲醇-醋酸乙酯或二甲基甲酰胺-醋酸乙酯作溶剂<sup>(8)</sup>,收率分别为 43% 和 41%,后改用四氢呋喃,并加入等摩尔的 N-羟基琥珀酰亚胺,收率提高至 78~91%。



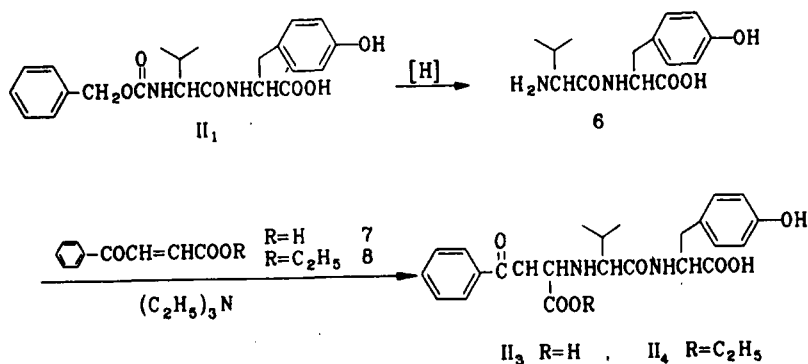
a: R=-CH<sub>2</sub>O-

b: R=



Scheme 1 Route of synthesis of compounds I<sub>1-4</sub> and II<sub>1,2</sub>.

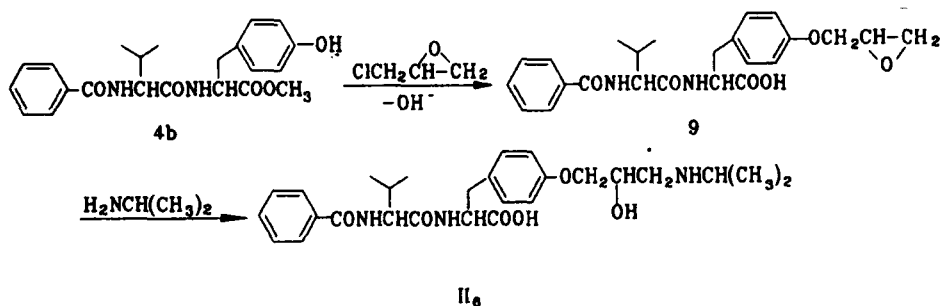
II<sub>3,4</sub>的合成:将 II<sub>1</sub> 氢解,脱去保护基得游离二肽 6。化合物 7<sup>(8)</sup>和其乙酯 8 分别与二肽 6 在三乙胺存在下加成得 II<sub>3,4</sub>。



Scheme 2 Route of synthesis of compounds II<sub>3,4</sub>.

同样方法制得 II<sub>5</sub>,由于原料不够,未合成 II<sub>5</sub> 的乙酯衍生物。

II<sub>6</sub> 的合成:在碱性条件下,化合物 4b 与环氧氯丙烷反应,并水解得化合物 9,再与异丙胺反应得 II<sub>6</sub>。

Scheme 3 Route of synthesis of compound II<sub>6</sub>.

I 和 II 类化合物进行体内外抑制 ACE 活性筛选(见表 1)。体外活性是以兔肺丙酮提取物的粉末为 ACE, Hip-His-Leu (HHL) 为底物, 测定化合物抑制 ACE 水解底物活性 50% 时所需的摩尔浓度 (IC<sub>50</sub>); 体内活性是化合物抑制血压正常麻醉大鼠 (Sprague-Dawley) 对血管紧张素 I (AI) 升压效应的百分率。

I 类化合物除 I<sub>3</sub> 外, 体内对 AI 均有一定的抑制作用, I<sub>3</sub> 几乎没有活性, 提示氨基取代可能与活性有关。

II<sub>3-5</sub> 具有强的抑制 ACE 活性, 其中 II<sub>6</sub> 活性最强 (IC<sub>50</sub> = 7.9 × 10<sup>-10</sup> mol/L), 体内外活性均强于卡托普利。II<sub>6</sub> 的甲基被异丙基取代的 II<sub>4</sub>, 体外活性降低约 20 倍, II<sub>4</sub> 的羧基乙酯化为 II<sub>3</sub> 后, 体外活性降低 1000 倍。II<sub>3</sub> 为 II<sub>4</sub> 的前药, 须在体内水解后发挥效用, 故二者体内活性相近。

II<sub>6</sub> 与 II<sub>2</sub> 相比, 同等剂量体内活性相似, 但体外活性 II<sub>6</sub> 比 II<sub>2</sub> 强 10 倍, 因此在酪氨酸酚羟基上引入取代基, 可能有助于提高化合物活性, 但所试化合物较少, 尚需进一步研究。

Tab 1 ACE inhibitory activities of compounds I and II *in vitro* and *in vivo*

Compd	<i>In vitro</i>		<i>In vivo</i>	
	ACE IC <sub>50</sub> (mol/L)	Dose (mg/kg)	n	% Inhibition of precursor responses to AI
I <sub>1</sub>		5	5	33.72+22.46
I <sub>2</sub>		5	3	39.10+21.52
I <sub>3</sub>		5	3	0
I <sub>4</sub>		5	3	27.94+8.0
II <sub>1</sub>	>10 <sup>-4</sup>	5	5	40.15+30.72
II <sub>2</sub>	8.9×10 <sup>-6</sup>	5	6	48.67+29.50
II <sub>3</sub>	6.2×10 <sup>-5</sup>	5	6	63.93+14.19
II <sub>4</sub>	2.8×10 <sup>-8</sup>	5	5	84.82+14.84
II <sub>5</sub>	7.9×10 <sup>-10</sup>	5	4	79.20+10.99
II <sub>6</sub>	8.9×10 <sup>-7</sup>	5	6	41.47+22.72
Captopril*	5.6×10 <sup>-8</sup>	5	6	75.05+17.94

\* IC<sub>50</sub> = 2.3 × 10<sup>-8</sup> mol/L see ref. 5

P &lt; 0.05

## 实验部分

熔点、沸点所用温度计未校正; 红外光谱仪为 IR-400 型; 核磁共振仪为 PX-60 型; 质谱仪为 JMS-D300 型; 旋光测定仪为 Polax 型。

**N-苯甲酰-L-缬氨酸(3b)**

将 L-缬氨酸 10 g (0.085 mol) 溶于 2 mol/L NaOH 43 ml 中, 冰浴冷却, 边搅拌边滴加苯甲酰氯 12.3 g (0.085 mol) 和 2 mol/L NaOH 43 ml, 加毕, 继续搅拌 3 h, 用 6 mol/L HCl 酸化, 得白色固体, 重 17.2 g, 用苯重结晶, 得 16 g, mp 133~135°C, 收率 85.2%。

**N-(N-苄氧羰酰-L-缬氨酸)-L-酪氨酸甲酯(4a)**

按文献<sup>(11)</sup>制得, mp 150~152°C (144~147°C)<sup>(11)</sup>, 收率 82%。

同法制得 N-(N-苄氧羰酰-L-丙氨酸)-L-酪氨酸甲酯。

**N-(N-苄氧羰酰-L-缬氨酸)-L-酪氨酸(II<sub>1</sub>)**

将化合物 4a 12 g (0.028 mol) 悬浮于 0.5 mol/L NaOH 140 ml 中, 搅拌 2 h, 滤去不溶物, 用 6 mol/L HCl 酸化至 pH 3, 放置, 得白色固体 13.5 g, 用甲醇-水重结晶, 得 10.6 g, mp 165~168°C (164~166°C)<sup>(7)</sup>, 收率 91.3%。

同法制得 N-(N-苄氧羰酰-L-丙氨酸)-L-酪氨酸。

**N-(L-缬氨酸)-L-酪氨酸(6)**

将化合物 II<sub>1</sub> 2 g 溶于甲醇 30 ml 中, 加入 10% Pd/C 0.5 g, 通氢气, (40 Psi) 氢解, 待吸氢停止, 过滤, 滤渣用 10 ml 水洗涤, 将滤液倒入约 30 ml 水中, 放置, 析出白色针状结晶, 得 1.1 g, mp 252~254°C (251~253°C)<sup>(12)</sup>, 收率 81.3%。

同法制得 L-丙氨酸-L-酪氨酸, 将氢解后的滤液浓缩至干, 得吸潮很强的白色固体。

**N-[N-(N-苄氧羰酰-L-缬氨酸)-L-酪氨酸]-L-酪氨酸甲酯(5a)**

将化合物 II<sub>1</sub> 3.5 g (5.6 mmol)、L-酪氨酸甲酯 1.65 g (5.6 mmol)、N-羟基琥珀酰亚胺 1 g (5.6 mmol)、四氢呋喃 70 ml 加入反应瓶中, 搅拌使溶解, 冰浴冷至 0°C, 加入 DCC 1.19 g (5.6 mmol), 先冰浴中搅拌 3 h, 再室温搅拌 12 h, 过滤, 滤渣用丙酮洗涤, 合并滤液和洗液, 减压浓缩至干, 用甲醇重结晶, 得 4.5 g, mp 182~185°C (175~177°C)<sup>(8)</sup>。

同法制得化合物 5b, N-[N-(N-苯甲酰-L-缬氨酸)-L-酪氨酸]-L-酪氨酸甲酯, mp 196~199°C (80% 乙醇)。

**N-[N-(N-苄氧羰酰-L-缬氨酸)-L-酪氨酸]-L-酪氨酸(I<sub>1</sub>)**

将化合物 5a 2 g 悬浮于 0.5 mol/L NaOH 22 ml 中, 搅拌 1.5 h, 滤去不溶物, 酸化后得固体 1.8 g, 收率 92%。用乙醇-水重结晶, 得 1.3 g, mp 216~217°C (215~217°C)<sup>(9)</sup>。

**N-[N-(N-L-缬氨酸)-L-酪氨酸]-L-酪氨酸(I<sub>2</sub>)**

将化合物 I<sub>1</sub> 2.7 g 溶于冰乙酸 30 ml 和甲醇 30 ml 中, 加入 10% Pd/C 0.15 g, 通氢气 (40 Psi) 氢解, 待吸氢停止 (约 2 h), 过滤, 滤液浓缩至干, 得固体 2.1 g, mp 200~201°C,  $[\alpha]_D^{25} + 48.06^\circ$  (c 0.946, MeOH)。

**N-[N-(N-苄基-L-缬氨酸)-L-酪氨酸]-L-酪氨酸(I<sub>3</sub>)**

将化合物 I<sub>3</sub> 0.5 g 溶于 5% NaHCO<sub>3</sub> 液 4 ml, 加入苯甲醛 0.12 g, 搅拌至反应液澄清, 加入 NaBH<sub>4</sub> 0.13 g, 搅拌 5 h, 用 1 mol/L HCl 酸化至 pH 3, 过滤, 滤饼用水洗涤, 干燥得 0.4 g, 甲醇重结晶, mp 212~214°C,  $[\alpha]_D^{25} - 66.23^\circ$  (c 1.057, MeOH)。IR (KBr) cm<sup>-1</sup> 3700~2200 (OH, NH), 1650, 1640 (C=O), 1610, 1510 (C=C), 1230 (C-O), 820, 740, 690 (Ar-H)。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 7.21 (m, 5H, Ph-H), 3.5~3.64 (q, 2H, PhCH<sub>2</sub>); 缬氨酸基: 2.68 (d, 1H, >N-CH-), 1.43~2.06 (m, 1H, CHMe<sub>2</sub>), 0.81 (d, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.70 (d, 3H, CH<sub>3</sub>); 酪氨酸酪氨酸: 4.25~4.81 (m, 2H, >N-CH-), 2.83~2.95 (br. d, 4H, CH<sub>2</sub>), 6.55~7.10 (AB 系统, 8H, Ar-H), NH, COOH, OH 等活性质子峰埋于 6.50~7.10 的芳香质子峰中, D<sub>2</sub>O 交换时, 该区质子数减至芳香

质子数。MS(FAB)  $m/z$  534 ( $M^+ + 1$ )。

*N*-(*N*-苯甲酰-*L*-缬氨酸)-*L*-酪氨酸甲酯(4b)

将 *L*-酪氨酸甲酯 1.95 g (0.01 mol) 溶于四氢呋喃 60 ml 中, 加入 *N*-*L*-苯甲酰缬氨酸 2.2 g (0.01 mol), 冰浴冷却至 0°C, 加入 DCC 2.06 g (0.01 mol), 冰浴中搅拌 2 h, 然后室温搅拌 15 h, 过滤, 滤渣用丙酮洗涤, 合并滤液和洗液, 减压浓缩至干, 得淡黄色固体, 用苯重结晶, 得白色固体 3.5 g, 收率 88%, mp 162~165°C。

*N*-(*N*-苯甲酰-*L*-缬氨酸)-*L*-酪氨酸(II<sub>2</sub>)

化合物 4b 3.5 g 与 0.5 mol/L NaOH 44 ml, 搅拌 2 h, 过滤, 酸化得白色固体 2.7 g, 吸湿性强。mp 180~182°C。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -20.45° (c 1.1394, MeOH)。MS  $m/z$  385 ( $M^+ + 1$ ), 367 ( $M^+ - OH$ ), 341 ( $M^+ + 1 - CO_2$ ), 204 (  $\text{PhCONHCHCO}^{-\dagger}$  ), 176 (  $\text{PhCONHCH}^{-\dagger}$  )。

*N*-(*N*-(*N*-苯甲酰-*L*-缬氨酸)-*L*-酪氨酸)-*L*-酪氨酸(I<sub>2</sub>)

化合物 5b 1 g, 甲醇 4.8 ml 和 1 mol/L NaOH 4.8 ml, 搅拌 2 h, 酸化得白色固体 0.8 g, 异丙醇重结晶, 得 0.7 g, mp > 230°C。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -13.38° (c 0.837, MeOH)。

*N*-(*N*-苯甲酰-*L*-缬氨酸)-*L*-(*O*-3-异丙氨基-2-羟基丙基)-酪氨酸(II<sub>1</sub>)

化合物 4b 3 g (6 mmol)、环氧氯丙烷 5 ml 和 0.5 mol/L NaOH 25 ml, 搅拌 3 h, 滤去不溶物, 滤液用乙醚洗涤后, 加入醋酸乙酯 25 ml, 用 1 mol/L HCl 酸化至 pH 2, 分出有机层, 水层再用醋酸乙酯提取一次, 合并有机层, 用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 减压除去醋酸乙酯, 得固体(9) 3 g, mp 152~155°C, 薄层上显示一个斑点。

将上述产物溶于无水乙醇 60 ml, 加入异丙胺 5 ml, 振摇片刻, 加热回流 5 h, 减压除去溶媒, 得固体 4.9 g, 加入丙酮 20 ml, 回流 10 min, 置冰浴中 2 h, 过滤, 滤饼用丙酮洗涤后, 得 2.5 g, 收率 83.2%, 用 DMF-丙酮重结晶, 得 2.1 g, mp 218~220°C。

苯甲酰丙烯酸乙酯(8)

将化合物 7 72 g 溶于 HCl 气饱和过的无水乙醇 100 ml 中, 放置一周, 减压除去 2/3 的乙醇, 再将残留物倒入 5% NaHCO<sub>3</sub> 的冰水溶液中, 用乙醚提取三次, 提取液用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥后, 浓缩去除溶媒, 减压蒸馏, 得 73.5 g, 收率 88.07%。

*N*-(*N*-(1-乙氧羰基-2-苯甲酰乙基)-*L*-缬氨酸)-*L*-酪氨酸(II<sub>1</sub>)

将 6 1 g (3.6 mmol)、反式苯甲酰丙烯酸乙酯(8) 0.73 g (3.6 mmol)、三乙胺 0.48 g 溶于无水乙醇 30 ml 中, 于 30°C 保温反应 6 h, 减压除去溶媒, 加 20 ml 水, 用乙醚 10 ml × 2 洗涤, 水层酸化至 pH 4, 析出半固体物, 倾去上清液, 残留物置 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 干燥器中干燥, 得泡沫状固体 1 g, 用硅胶柱层析, 依次用石油醚、石油醚-丙酮、丙酮快速冲洗, 浓缩丙酮洗脱液, 得黄色泡沫状固体 0.9 g, mp 91~92°C。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -37.71° (c 0.838, MeOH)。IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  3700~2300 (OH), 1720, 1680~1620 (C=O), 1510, 1450 (C=C)。<sup>1</sup>H NMR [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO]  $\delta$  ppm 7.6~8.0 (m, 5H, Ar-H), 4.0~4.4 (m, 1H, NCHCOOEt), 4.15 (q, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.75 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.45 (m, 2H, PhCOCH<sub>2</sub>); 缬氨酸基: 3.75 (m, 1H, NCHCO), 1.1~1.4 (m, 1H, >CHMe<sub>2</sub>), 0.88 (d, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.75 (d, 3H, CH<sub>3</sub>); 酪氨酸: 4.68 (m, 1H, >CHCOOH), 3.13 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.75~7.1 (m, 4H,

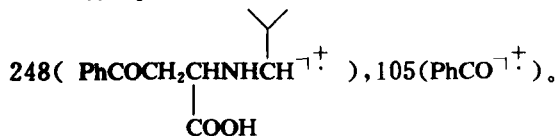
Ar-H)。MS  $m/z$  485 ( $M^+ + 1$ ), 365 ( $M - \text{PhCOCH}_2$ ), 276 (  $\text{PhCOCH}_2\text{CHNHCH}^{-\dagger}$  ), 119

COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

(PhCOCH<sub>2</sub><sup>-</sup>), 105(PhCO<sup>-</sup>)。

同法制得 II<sub>4.5</sub>, 用离心薄层层析仪分离。

II<sub>4</sub>: mp 128°C (dec)。MS(FAB) m/z 457(M<sup>+</sup>+1), 411(M<sup>+</sup>-COOH), 337(M<sup>+</sup>-PhCOCH<sub>2</sub>),



II<sub>5</sub>: mp 126~128°C (dec)。[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -10.79 (c 1.3896, DMF)。IR(KBr) cm<sup>-1</sup> 3700~2300(OH, NH), 1700~1500(C=O), 1520, 1400(C=C)。<sup>1</sup>HNMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1.73 (m, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.92 (m, 2H, p-HOPhCH<sub>2</sub>), 3.35 (m, 2H, PhCOCH<sub>2</sub>), 6.59~6.94 (m, 4H, p-HOPh-), 7.57~7.90 (m, 5H, Ph-H), 4.52 (br, CH, H<sub>2</sub>O, NH, OH)。MS(FAB) m/z 429(M<sup>+</sup>+1), 207(H<sub>2</sub>NCHMeCONHCHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OH<sup>-</sup>), 105(PhCO<sup>-</sup>)。

所有目标化合物均经元素分析, 其误差范围不超过计算值的±0.4%。

致谢 本校生理教研室李玲和李运曼老师指导药理体内筛选, 生化教研室陈春麟老师为体外活性测定提供帮助, 元素分析和光谱分析由本校理化测试中心、南京大学现代分析中心及江苏省化工研究所测定。

### 参 考 文 献

- 1 张殿镇. 抗高血压药物研究者正在寻找什么样的药物. 国外药学 1986;4:195.
- 2 Johnston CI. Angiotensin converting enzyme inhibitors. *Handbook of Hypertension* (Clinical Pharmacology of Antihypertensive Drugs) 1984;5:272.
- 3 Kido Y, et al. Isolation and characterization of I5B2, a new phosphorus containing inhibitor of angiotensin I converting enzyme inhibitor produced by *Actinomadura sp.* *J Antibiot* 1984;37:965.
- 4 Ando T, et al. WF-10129, a novel angiotensin converting enzyme inhibitor produced by a fungus. *Doratomyces putredinis.* *J Antibiot* 1987;40:469.
- 5 Cushman DW, et al. Inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Pro Med Chem* 1980;17:41.
- 6 Cheng HS, et al. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin converting enzyme. *J Biol Chem* 1980;255:401.
- 7 Schwarz H, et al. Synthesis of an optically pure tetrapeptide contained in angiotensin. *J Am Chem Soc* 1959;81:890.
- 8 Binovi LT, et al. Synthesis of L-valyl-L-tyrosyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-histidyl-L-prolyl-L-phenylalanine methyl ester dihydrochloride. *J Org Chem* 1961;26:1657.
- 9 Papa D, et al. β-Acrylic acids. *J Am Chem Soc* 1948;70:3356.
- 10 Wyvrat MJ, et al. Recent developments in the design of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Med Res Rev* 1985;5:483.
- 11 Ramachandran J, et al. The synthesis of L-valyl-L-lysyl-L-valyl-L-tyrosyl-L-proline. *J Org Chem* 1963;28:173.
- 12 Schwyer R, et al. Synthesen hochwirksamer Dekapeptide mit der Aminosäuresequenz des Val<sup>5</sup>-hypertensins I (L-Asparagyl-L-arginyl-L-valyl-L-tyrosyl-L-valyl-L-histidyl-L-prolyl-L-phenylalanyl-L-leucin und L-Asparaginyll-L-arginyl-L-valyl-L-tyrosyl-L-valyl-L-histidyl-L-prolyl-L-phenylalanyl-L-histidyl-L-leucin). *Helv Chim Acta* 1958;41:1273.

## SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME VAL(ALA)-TYR AND VAL-TYR-TYR PEPTIDES

PL Chen, SX Peng and ZX Yang

(Division of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

**ABSTRACT** 15B2 and WF-10129, reported as potent angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI), were used as lead compounds for design of novel ACEI. Some of Val-Tyr-Tyr and Val-Tyr peptides were synthesized and tested for ability to inhibit ACE *in vitro* and *in Vivo*. The most potent compound was found to be *N*-(1-benzoyl-1-carboxymethyl)-*L*-Alanyl-*L*-Tyrosine (II<sub>5</sub>, IC<sub>50</sub> =  $7.9 \times 10^{-10}$  mol/L) which was prepared by the addition of Ala-Tyr to benzoylacrylic acid in the presence of triethylamine. The structure-activity relationships were also discussed. -

**Key words** Angiotensin-converting enzyme inhibitors; Val-Tyr-Tyr peptides; Val(Ala)-Tyr peptides; Structure-activity relationships