



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 109409

(13) C2

(51) МПК

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2011 15555

(22) Дата подання заявки: 28.06.2010

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: 25.08.2015(31) Номер попередньої
заявки відповідно до
Паризької конвенції: 61/221,708(32) Дата подання
попередньої заявки
відповідно до
Паризької конвенції: 30.06.2009(33) Код держави-учасниці
Паризької конвенції,
до якої подано
попередню заявку: US(41) Публікація відомостей
про заявку: 12.03.2012, Бюл.№ 5(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 25.08.2015, Бюл.№ 16(86) Номер та дата
подання міжнародної
заявки, поданої
відповідно до
Договору РСТ: РСТ/US2010/040125,
28.06.2010

(72) Винахідник(и):

Чень Сінъяо (US),
Франк Скотт Алан (US),
Ремік Дейвід Майкл (US),
Педерсен Стівен Уейн (US)

(73) Власник(и):

ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ,
Lilly Corporate Center, Indianapolis, IN 46285,
United States of America (US)

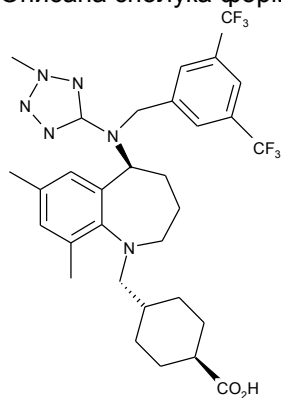
(74) Представник:

Шляховецький Олександр Михайлович,
реєстр. №21(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
WO 2006/002342 A1, 05.01.2006

(54) ТРАНС-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-БІС(ТРИФТОРОМЕТИЛ)ФЕНІЛ]МЕТИЛ]-(2-МЕТИЛ-2Н-ТЕТРАЗОЛ-5-ІЛ)АМІНО]-2,3,4,5-ТЕТРАГІДРО-7,9-ДИМЕТИЛ-1Н-1-БЕНЗОАЗЕПІН-1-ІЛ]МЕТИЛ]ЦИКЛОГЕКСАНКАРБОНОВА КИСЛОТА

(57) Реферат:

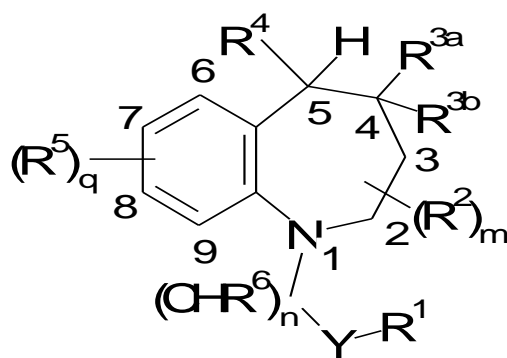
Описана сполука формули:



яка є транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил]-(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонвою кислотою,

UA 109409 C2

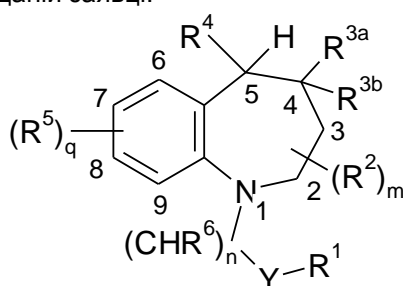
у вигляді вільної кислоти, її гідрату або кристалічної форми гідрату, фармацевтичні композиції та способи застосування.



Цей винахід стосується транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил]-(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти, її фармацевтично прийнятних солей та кристалічних форм цієї сполуки, а також їх приготування, і методів лікування із застосуванням цієї сполуки.

Із дисліпідемією пов'язаний неабиякий фактор ризику виникнення серцево-судинних захворювань (ССЗ). Низький вміст холестерину ліпопротеїнів високої густини (HDL-с) у плазмі крові поряд зі звичайним або підвищеним вмістом холестерину низької густини (LDL-с) становлять значний фактор ризику виникнення атеросклерозу та пов'язаної з цим ішемічної хвороби серця. Білок-носії складного ефіру холестерилу (або холестерину) (CETP) являє собою глікопротеїн, який сприяє обміну складних ефірів холестерилу у складі HDL на тригліцериди у складі ліпопротеїнів, багатих на тригліцериди. Кінцевий результат прояву активності CETP полягає у зменшенні рівня холестерину HDL і підвищенні натомість рівня холестерину LDL. За припущенням, цей ефект стосовно розподілу ліпопротеїнів є проатерогенним (таким, що сприяє розвитку атеросклерозу) – зокрема, для тих осіб, кого на підставі ліпідограми слід віднести до групи підвищеного ризику виникнення ССЗ.

В WO 2006/002342 розкриті деякі прийнятні для лікування серцево-судинних захворювань сполуки, структура яких відповідає наведеній нижче формулі, а замісники R^1 - R^6 розкриті у згаданій заявці.

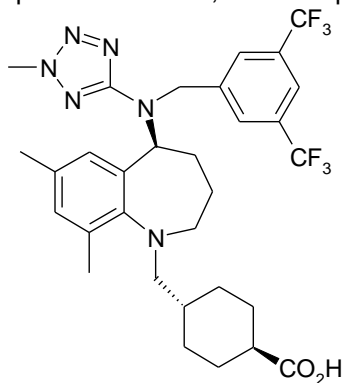


Незважаючи на наведене вище, зберігається велика потреба у ефективних сполуках, здатних лікувати серцево-судинні захворювання, зокрема атеросклероз та/або дисліпідемію.

Існує потреба у створенні сполук, ефективних у лікуванні серцево-судинних захворювань при пероральному введенні лікувальної дози, і стійких у кислому середовищі, яке існує, наприклад, у шлунку. Крім того, ці сполуки повинні мати достатньо високу біодосяжність та/або здатність завдавати впливу при пероральному застосуванні, щоб при однократному введенні до організму забезпечувати більш ефективне лікування.

Цей винахід спрямований на задоволення цих потреб і пропонує сполуку, придатну для лікування серцево-судинних захворювань, в тому числі, але без обмеження ними, дисліпідемії та атеросклерозу. Цим винаходом запропонована сполука, що виявляє надзвичайно корисні і непередбачені властивості. Фізичні та фармакологічні властивості сполуки, представленої у формулі винаходу, роблять її особливо прийнятною для введення до складу таблеток, призначених для перорального застосування. Згадані особливо сприятливі властивості охоплюють, але без обмеження ними, підвищену стійкість, розчинність та/або біодосяжність.

Цим винаходом запропонована сполука, яка являє собою транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил]-(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту (формула відповідає назві у вказівнику РЖ Chemical Abstracts), тут і надалі скорочено ВССА, яка має будову за формулою I, зображеною нижче, а також фармацевтично прийнятна сіль цієї сполуки.



I

Сполука, позначена як ВССА, може являти собою кислоту як таку (в цьому описі – вільна кислота ВССА) або її фармацевтично прийнятну сіль у формі сольвату (в цьому описі – сольват ВССА) та/або гідрату (в цьому описі – гідрат ВССА). До згаданих сольватів належать сольвати, утворені водою (це і є гідрат), метанолом, етанолом, мурашиною кислотою, оцтовою кислотою та ізопропанолом.

Цим винаходом запропонована сполука, що являє собою ВССА, її фармацевтично прийнятну сіль або гідрат та/або сольват. У одному з варіантів здійснення цього винаходу згадана сполука ВССА запропонована у формі вільної кислоти. У деяких інших варіантах здійснення цього винаходу ВССА запропонована у формі гідрату ВССА або сольвату ВССА (як у формі вільної кислоти, так і її солі) у кристалічній формі. У ще деяких варіантах здійснення винаходу запропонована ВССА у формі гідрату ВССА або сольвату ВССА в аморфному твердому стані.

Цим винаходом запропонована сполука, що являє собою кристалічну форму гідрату ВССА, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма від джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки: а) при 2θ 7,5, 9,2, 10,7 та $15,5 \pm 0,2$; б) при 2θ 7,5, 9,2, 10,7, 13,8, 15,0, 15,5 та $19,5 \pm 0,2$; або с) при 2θ 7,5, 9,2, 10,7, 13,8, 11,3, 15,0, 15,5, 17,7, 19,5 та $25,1 \pm 0,2$.

У іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована сполука, що являє собою кристалічну форму гідрату ВССА, яку характеризує ЯМР спектр у твердому стані, який включає такі піки відносно адамантану ($\delta=29,5 \text{ млн}^{-1}$): а) 175,6, 168,0, 61,1, 21,2 та $18,3 \pm 0,2 \text{ млн}^{-1}$; б) 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 61,1, 45,0, 21,2 та $18,3 \pm 0,2 \text{ млн}^{-1}$, або с) 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 139,9, 136,3, 61,1, 53,0, 49,8, 45,0, 21,2 та $18,2 \pm 0,2 \text{ млн}^{-1}$.

У ще деяких варіантах здійснення цього винаходу ВССА запропонована кристалічна форма гідрату ВССА, яку характеризує щонайменше одне з двох: а) порошкова рентгенодифрактограма від джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки: при 2θ 7,5, 9,2, 10,7 та $15,5 \pm 0,2$, або б) ЯМР спектр у твердому стані, який включає піки відносно адамантану ($\delta=29,5 \text{ млн}^{-1}$): 175,6, 168,0, 61,1, 21,2 та $18,3 \pm 0,2 \text{ млн}^{-1}$.

Цим винаходом запропонована сполука, що являє собою кристалічну форму напівсольвату із етанолом напівсолі ВССА з трет-бутиламином, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма від джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки: а) при 2θ 5,5, 9,0, 14,3, 22,0 та $22,5 \pm 0,2$, або б) при 2θ 5,5, 9,0, 14,3, 17,5, 18,2, 19,4, 20,6, 22,0 та $22,5 \pm 0,2$, або с) при 2θ 5,5, 9,0, 13,2, 13,6, 14,3, 15,2, 17,5, 18,2, 19,4, 19,8, 20,6, 22,0 та $22,5 \pm 0,2$.

Цим винаходом запропонована сполука, що являє собою кристалічну форму сольвату ВССА із мурашиною кислотою, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма від джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки: а) при 2θ 15,4, 16,9, 18,2 та $18,6 \pm 0,2$, або б) при 2θ 15,4, 15,7, 16,9, 18,2, 18,6, 19,5, 22,8, 25,7, та $25,5 \pm 0,2$, або с) при 2θ 13,0, 13,9, 15,4, 15,7, 16,9, 16,4, 18,2, 18,6, 19,5, 20,8, 22,8, 25,7 та $25,5 \pm 0,2$.

Цим винаходом запропонована сполука, що являє собою кристалічну форму сольвату ВССА із оцтовою кислотою у кристалічному стані, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма від джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки: а) при 2θ 12,9, 15,1, 18,4, 19,4 та $20,8 \pm 0,2$, або б) при 2θ 12,9, 13,8, 15,1, 16,4, 17,8, 18,4, 19,4, 20,1 та $20,8 \pm 0,2$, або с) при 2θ 11,00, 12,9, 13,8, 15,1, 15,6, 16,4, 17,8, 18,4, 19,4, 20,1, 20,8 та $21,7 \pm 0,2$.

Цей винахід пропонує сполуку, що являє собою кристалічну форму сольвату із ізопропанолом солі ВССА з трет-бутиламином, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма від джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки: а) при 2θ 5,6, 11,3, 12,6 та $17,9 \pm 0,2$, або б) при 2θ 5,6, 8,0, 11,3, 12,6, 17,9, 20,4 та $24,1 \pm 0,2$.

У іншому варіанті здійснення цього винаходу запропонована ВССА або її фармацевтично прийнятна сіль у вигляді сольвату, де сольват обраний з-поміж сольватів, утворених водою (відповідний сольват зветься також гідратом), метанолом, етанолом, ізопропанолом, мурашиною кислотою або оцтовою кислотою. Мольне співвідношення ВССА:сольват може становити від приблизно 1:0,3 до приблизно 1:1, за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно 1:0,5 до приблизно 1:1 $\pm 0,2$ (вказано співвідношення ВССА або сіль:сольват). До сольватів, яким віддається перевага, належать сольвати, утворені водою, ізопропанолом та етанолом.

У іншому варіанті здійснення винаходу запропонована ВССА або її фармацевтично прийнятна сіль. Катіони фармацевтично прийнятної солі, яким віддають перевагу, обирають з-поміж катіонів натрію, калію, магнію, кальцію, цинку та трет-бутиламіну (тобто трет-бутиламонію). Більшу перевагу віддають катіонам натрію, кальцію та трет-бутиламину.

Цей винахід пропонує по суті чисту ВССА у вигляді вільної кислоти ВССА або її фармацевтично прийнятних солей, гідрату ВССА, сольвату ВССА (або гідрату ВССА) та

кристалічної форми сольову солі ВССА (будь-яка з них позначається в описі як "згадана форма ВССА"). У контексті цього документу термін "практично чистий" означає композицію, яка містить більш ніж 80 % (мас.) згаданої форми ВССА, за варіантом, якому віддається перевага, композиція містить більш ніж 95 % (мас.) згаданої форми ВССА і за варіантом, якому віддають

5 найбільшу перевагу, композиція містить згаданої форми ВССА більш ніж 98 % (мас.). За варіантом, якому віддають особливу перевагу, цим винаходом запропонований у кристалічній формі практично чистий гідрат ВССА.

Цим винаходом запропонована фармацевтична композиція, яка містить ВССА або її фармацевтично прийнятну сіль, а також щонайменше один з фармацевтично прийнятних носіїв, наповнювачів або розріджувачів. У окремих варіантах здійснення винаходу фармацевтична композиція містить практично чисту ВССА у формі вільної кислоти ВССА або її фармацевтично прийнятної солі, сольову ВССА, сольову солі ВССА або кристалічної форми гідрату ВССА. За варіантом, якому віддають особливу перевагу, фармацевтична композиція містить кристалічну

10 форму практично чистого гідрату ВССА.

Цим винаходом запропонований метод лікування пацієнта, хворого на серцево-судинне захворювання, при цьому метод включає введення ефективної кількості ВССА до організму пацієнта. За варіантами, яким надається перевага, метод включає введення ВССА у вигляді гідрату ВССА. За іншими варіантами метод включає введення ВССА у вигляді кристалічної форми сольову ВССА або кристалічної форми гідрату ВССА.

15

Цим винаходом запропоновано застосування ВССА (у вигляді вільної кислоти ВССА або її фармацевтично прийнятної солі, сольову солі ВССА, кристалічної форми гідрату ВССА або кристалічної форми сольову ВССА), яка відповідає цьому винаходу, для виготовлення лікарського засобу для лікування серцево-судинних захворювань, у тому числі, але без обмеження ними, дисліпідемії та атеросклерозу.

20

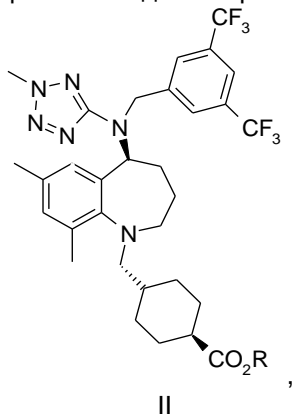
Цим винаходом запропонована ВССА (у вигляді вільної кислоти ВССА, сольову солі ВССА, гідрату ВССА або кристалічної форми сольову ВССА за цим винаходом) як лікарський засіб. Цим винаходом також запропоновано ВССА (у вигляді вільної кислоти ВССА, сольову солі ВССА, гідрату ВССА, кристалічної форми сольову ВССА та кристалічної форми за цим винаходом) для застосування у терапії.

25

Цим винаходом запропоновано ВССА (у вигляді вільної кислоти ВССА, гідрату ВССА, сольову солі ВССА або кристалічної форми сольову ВССА за цим винаходом) для застосування у лікуванні серцево-судинних захворювань, в тому числі, але без обмеження ними, дисліпідемії та атеросклерозу.

30

Цим винаходом запропонована сполука, яка має наведену нижче будову:



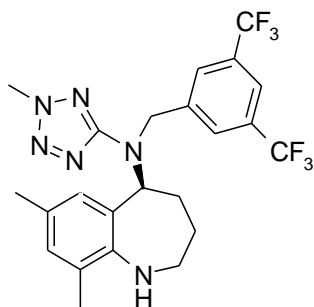
де R обирають з-поміж таких груп: C₁₋₄-алкіл; C₃₋₆-циклоалкіл; C₁₋₄-алкіл-C₃₋₆-циклоалкіл; феніл, а також C₁₋₅-алкілфеніл – для одержання сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі. За варіантом, якому віддається перевага, перелік груп R охоплює C₁₋₄-алкіл; C₁₋₄-галогеноалкіл; C₃₋₆-циклоалкіл; C₁₋₄-алкіл-C₃₋₆-циклоалкіл; феніл, а також C₁₋₅-алкілфеніл. За варіантом, якому віддається особлива перевага, перелік груп R охоплює метил, етил, феніл або бензил.

40

Термін "C₁₋₄-алкіл" або "C₁₋₅-алкіл" у контексті цього опису означає, зокрема, алкільний ланцюг прямої або розгалуженої будови, який містить відповідно 1-4 та 1-5 атомів вуглецю. Термін "галогеноалкіл" стосується алкільної групи, яка містить один або більшу кількість атомів галогену, приєднаних до одного або більшої кількості атомів вуглецю. Як зазначено вище, алкільна група може мати пряму або розгалужену будову ланцюга. До галогенів, яким віддається перевага, належать фтор, хлор та бром. Особлива перевага віддається фтору.

45

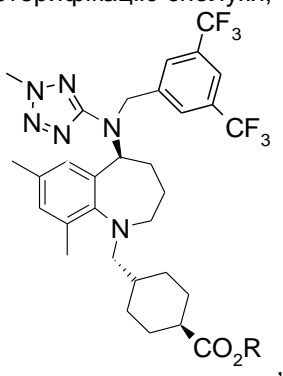
У іншому варіанті здійснення винаходу запропонована сполука, яка являє собою:



III

або її фармацевтично прийнятна сіль.

Цим винаходом запропонований спосіб одержання ВССА. Цей спосіб включає
 5 деестерифікацію сполуки, будову якої подано нижче формулою II:

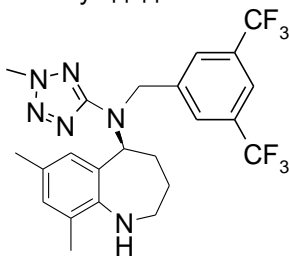


II

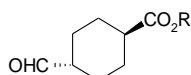
де R обирають з-поміж таких груп: C₁₋₄-алкіл; C₁₋₄-галогеноалкіл; C₃₋₆-циклоалкіл; C₁₋₄-алкіл-
 10 C₃₋₆-циклоалкіл; феніл, а також C₁₋₅-алкілфеніл - для одержання сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі, тобто для одержання ВССА, або її фармацевтично прийнятної солі. За варіантом, якому віддається перевага, перелік груп R охоплює C₁₋₄ алкіл, феніл, а також C₁₋₅-алкілфеніл. За варіантом, якому віддається особлива перевага, перелік груп R охоплює метил, етил, феніл або бензил.

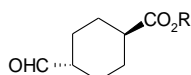
Спосіб може також включати відщеплення захисної групи від замісника (карбоксильної
 15 групи) біля циклогексильної групи. Приклади різноманітних функціональних груп для захисту органічних кислот, методи одержання захищених кислот, а також методи зняття захисту з кислот можна знайти у "Protecting Groups in Organic Synthesis" ("Захисні групи у органічному синтезі"), 3rd Ed. Greene T.W., Wuts P.G.M., Eds., John Wiley and Sons, New York, 1999. Фахівцю у цій галузі буде зрозуміло, що поряд із власне карбоною кислотою і захищеною карбоною
 20 кислотою, замість них можна використовувати також і інші функціональні групи, які можна легко перетворити на карбонову кислоту. Подібні функціональні групи, препаративні методики їх одержання і перетворення на карбонові кислоти можна знайти у "Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations" ("Вичерпний огляд модифікації структури у органічній хімії. Препаративні методи хімії функціональних груп: Довідник") by Larock
 25 R.C., Wiley VCH, 1999 та "March's Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure" ("Поглиблений курс органічної хімії. Реакції, механізми, структура"), Smith M.B., and March J., Wiley-Interscience, 6th Ed. 2007.

За ще одним варіантом, цим винаходом запропонований спосіб, який відповідає наведеному вище опису і додатково включає стадію конденсації сполуки за поданою нижче формулою III



III



зі сполукою , де R відповідає наведеному вище визначенню, для одержання сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі. Як зазначалося вище, карбонова кислота, складний ефір або захищена кислота, відображені як CO₂R в структурній формулі безпосередньо вище, можуть бути замінені на функціональні групи, які можуть бути перетворені в карбонову кислоту або захищену кислоту.

За варіантом, якому віддається перевага, сполука, яку використовують у ролі ефективного інгібітора SETP, має бути хімічно і термічно стійкою, достатньо розчинною для полегшення введення в композицію та полегшення введення до організму, та зберігати достатню активність. Крім того, такі сполуки повинні мати достатню високу біодосяжність для того, щоб забезпечувати у живих тканинах (in vivo) потрібну кількість сполуки для ефективного лікування. До цього часу невідомо про будь-які дослідження або прогнози стосовно наявності таких властивостей у ВССА.

Гідрат ВССА можна зберігати при температурі навколишнього середовища з незначним або дуже малим погіршенням властивостей. За даними калориметрії з диференційним скануванням, згадана кристалічна форма гідрату ВССА має початок десольватації та/або топлення при температурі вище ніж приблизно 50°C, що дає змогу застосовувати до згаданої речовини стандартні виробничі процеси, такі як розмелення. Крім того, сама ВССА, сольват із ізопропанолом солі ВССА з трет-бутиламином, напівсольват із етанолом напівсолі ВССА з трет-бутиламином та кристалічна форма гідрату ВССА не гігроскопічні за умови зберігання при температурі навколишнього середовища. До того ж фармацевтично прийнятні солі ВССА, такі як солі кальцію та цинку, практично не виявляють гігроскопічних властивостей в умовах зберігання при температурі навколишнього середовища.

ВССА у вигляді вільної кислоти, солі, сольвату або кристалічної форми гідрату можна одержати за наведеними нижче способами, які загалом проілюстровані на схемах 1-4, та більш конкретно викладені у наведених нижче препаративних методиках і Прикладах.

У цьому описі вжиті такі наведені нижче скорочення: ACN означає ацетонітрил; АсОН означає оцтову кислоту; (S)-BINAP означає S-(-)-2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-динафтил; CBZ-Cl означає бензилхлороформіат; "спол." означає сполуку; Вп означає бензил; DMF означає диметилформамід; Δ (велика "дельта") означає нагрівання; DI вода означає деіонізовану воду; екв. означає еквівалент; ербумін означає трет-бутиламін (або сіль трет-бутиламонію), 2,2-диметилетиламін або 2метил-2-пропіламін; IPA означає ізопропіловий спирт (ізопропанол); М означає моль/л; MTBE означає метил-трет-бутиловий простий ефір; н означає нормальний розчин (моль-екв/л), PPTS означає пірідинію п-толуолсульфонат; TFA означає трифторооцтову кислоту; THF означає тетрагідрофуран; КТ означає кімнатну температуру. Якщо не зазначено протилежне, поименовання і нумерацію сполук, які подано у прикладах, здійснено за допомогою прикладних пакетів CHEMDRAW ULTRA AUTONOM, версія 7.0.1 або Symyx® Draw, версія 3.2.

Схема 1

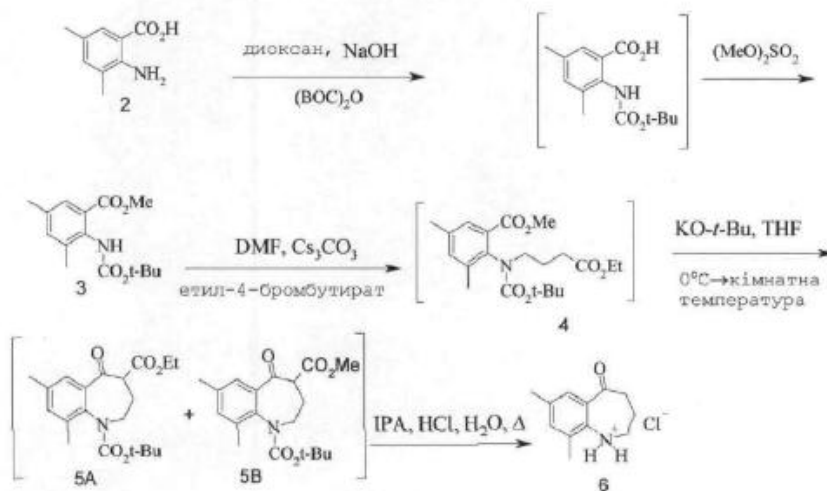
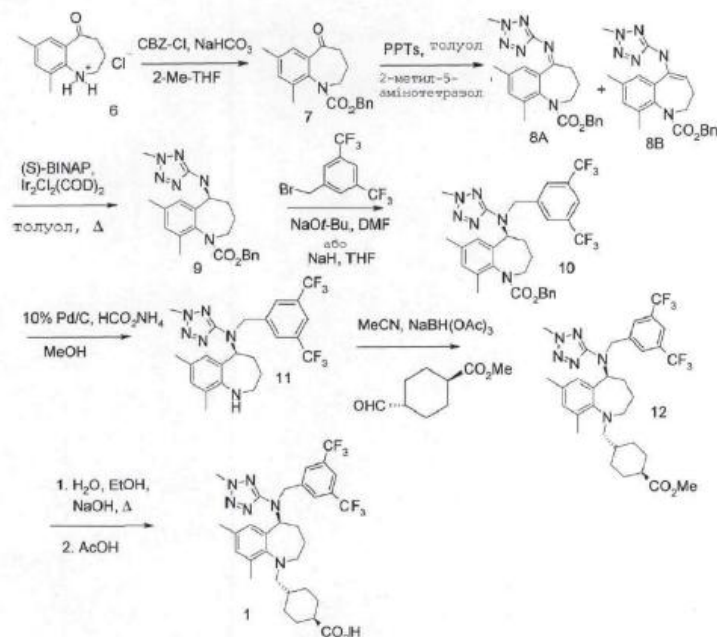


Схема 2



Препаративні методики

Всі реакції у неводному середовищі виконували у атмосфері сухого азоту, якщо не зазначено інше. Також, якщо не зазначено протилежне, використовували реагенти і зневоднені розчинники, які наявні у продажу, у тому вигляді як вони надходять від постачальників, без жодних спроб подальшого очищення або висушування. Видалення розчинників здійснювали за допомогою роторного випаровувача виробництва Buchi із залишковим тиском близько 28 мм.рт.ст. ($3,733 \cdot 10^3$ Па), який створювали за допомогою вакуум-насосу виробництва KNF із тефлоновим захистом робочих поверхонь. Колонкову флеш-хроматографію виконували на силікагелі "Kieselgel" 60 меш. Спектри протонного ЯМР одержували за допомогою спектрометру ядерного магнітного резонансу Bruker AC, 300 МГц, і одержували дані у вигляді хімічних зсувів ("дельта") у млн^{-1} відносно внутрішнього стандарту – тетраметилсилану. Мас-спектроскопічний аналіз із іонізацією при атмосферному тиску (API-MS) виконували на одному з мас-спектрометрів: Finnegan LCQ Duo Ion Trap або PESCiex API 150EX, застосовуючи іонізацію електророзпиленням (ESI) або хімічну іонізацію при атмосферному тиску (APCI). РХВЕ (рідинну хроматографію високої ефективності) здійснювали на колонці WAT046980 розміром $3,9 \times 150$ мм, заповненій носієм Waters Symmetry C18 фракції 5 мкм. Система елюенту передбачала градієнтне елюювання сумішшю складу (0,1 % TFA у H_2O)/(0,1 % TFA у CH_3CN) у пропорції від 95:5 до 0:100 впродовж 10 хв із подальшим ізократичним елююванням 0,1 %TFA у CH_3CN впродовж 15 хв. Витрата елюенту складала 1 мл/хв. Фракції реєстрували в УФ-світлі при довжині хвилі 254 нм або 220 нм. Вибрані фізичні властивості (згідно наведеного вище переліку), подані у препаративних методиках і Прикладах, порівнювали зі зразками відомого складу і будови з метою ідентифікації і оцінювання чистоти.

Препаративна методика 1

Метил-2-(трет-бутоксикарбоніламіно)-3,5-диметилбензоат (3)

До реакційної колби місткістю 22 л, спорядженої механічним перемішувачем, зворотним холодильником, обігрівальним кожухом, додавальною лійкою місткістю 5 л та насадкою для продування N_2 , завантажують 2-аміно-3,5-диметилбензолкарбонову кислоту (2) (705 г, 4,27 моль, 1,0 екв, виготовлену у відповідності до методик, викладених у Chemische Berichte 1992, 125(4), 849-855), та гідроксид натрію (8,08 кг, 8,46 моль). Темний розчин, що утворився, при перемішуванні нагрівають до 45°C . Завантажують у додавальну лійку розчин ди-трет-бутилдикарбонату (1,92 кг, 9,08 моль) у 1,4-діоксані (2,75 л, 22,7 моль). Додають розчин ди-трет-бутилдикарбонату у колбу, і перемішують протягом ночі, підтримуючи температуру реакції, приблизно 45°C . Завантажують у додавальну лійку додаткову порцію розчину ди-трет-бутилдикарбонату (0,961 кг, 4,27 моль) у 1,4-діоксані (500 мл), і при перемішуванні повільно додають вміст лійки у колбу, та підтримують температуру реакції, приблизно 45°C . По завершенні перебігу реакції додають краплями диметилсульфат (607,1 мл, 6,40 моль); перемішують протягом ночі, дозволяючи реакційній суміші охолонути до кімнатної температури. Суспензію, що утворилася, фільтрують, збираючи осад, і промивають його на фільтрі водою.

(2×2 л). Висушують у вакуумі (50°C), одержуючи сполуку, вказану у заголовку, у вигляді неочищеної речовини (748 г).

Препаративна методика 2

Метил-2-(трет-бутоксикарбоніл(4-етокси-4-оксобутил)аміно)-3,5-диметилбензоат (4)

- 5 До реакційної колби місткістю 22 л, спорядженої механічним перемішувачем, кожухом для обігріву, зворотним холодильником та насадкою для продування N_2 , завантажують DMF (10 л), етил-4-бромобутират (1,07 кг, 787,8 мл, 5,32 моль), карбонат цезію (2,92 кг, 22,5 моль) та метил-2-(трет-бутоксикарбоніламіно)-3,5-диметилбензоату (1000,0 г, 3,54 моль). Нагрівають суміш, що утворилася, приблизно до 55°C, і перемішують протягом 48 год. Охолоджують, осад
- 10 відфільтровують, і промивають на фільтрі МТВЕ (2×4 л). Поєднують фільтрат з МТВЕ, яким промивали осад, у колбі місткістю 50 л, і охолоджують до температури приблизно 5°C або нижче. Додають воду (6 л) аби щоб загасити реакцію. Розділяють шари, що утворилися. Водний шар промивають МТВЕ (3 л), органічні шари поєднують, і промивають одержаний органічний розчин насиченим розчином хлориду натрію (ропою) (2×3 л). Висушують органічний розчин
- 15 Na_2SO_4 , фільтрують, і твердий осад на фільтрі промивають МТВЕ, одержуючи 1,582 кг сполуки, вказаної у заголовку.

Препаративна методика 3

Трет-бутил-4-етил-7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1,4-дикарбоксилат (5A) та трет-бутил-4-метил-7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1,4-дикарбоксилат (5B)

- 20 До реакційної колби місткістю 22 л, спорядженої механічним перемішувачем, термopарою, додавальною лійкою місткістю 5 л, насадкою для продування N_2 і зануреної у баню для охолодження, завантажують метил-2-(трет-бутоксикарбоніл(4-етокси-4-оксобутил)аміно)-3,5-диметилбензоату (700 г, 1,78 моль), розчиненого у THF (3,5 л), і охолоджують до температури
- 25 приблизно 5°C або нижче. Завантажують у додавальну лійку 1 М розчин трет-бутоксиду калію у THF (KOt-Bu: 3,56 моль, 1 М), та додають його краплями до охолодженого розчину субстрату у THF, підтримуючи температуру реакційної суміші, приблизно 5°C. По додаванні всього розчину дозволяють реакційній суміші нагрітися до температури навколишнього середовища. По завершенні реакції охолоджують суміш до температури 10°C або нижче, і повільно додають 2,5
- 30 М розчин HCl до одержання суміші зі значенням pH 3 або нижче. Додають МТВЕ (4 л), і перемішують, після чого відокремлюють шар органічних продуктів від водного шару. Водний шар екстрагують МТВЕ (2 л). Поєднують органічні шари, і послідовно промивають двома порціями ропою (2×3 л). Висушують органічний шар Na_2SO_4 , фільтрують, і промивають твердий осад на фільтрі МТВЕ. Поєднані фільтрати згущують у вакуумі, одержуючи суміш сполук,
- 35 вказаних у заголовку, у вигляді помаранчевого рідкого масла (670 г).

Препаративна методика 4

7,9-Диметил-3,4-дигідро-1Н-бензо[b]азепін-5(2Н)-он гідрохлорид (6)

- 40 До реакційної колби місткістю 5 л, спорядженої механічним перемішувачем, кожухом для обігріву, термopарою, насадкою для продування N_2 і тефлоновою перепускною лінією, завантажують суміш трет-бутил-4-етил-7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1,4-дикарбоксилату та трет-бутил-4-метил-7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1,4-дикарбоксилату (1286 г, 3,56 моль), розчинених в IPA (2 л), і суміш, що утворилася, нагрівають до 50°C. До окремої реакційної колби місткістю 12 л, спорядженої механічним перемішувачем, кожухом для обігріву, термopарою, насадкою для продування N_2 із
- 45 газопромивною системою, додають 5Н розчин NaOH (1 л) і H_2O (3 л). Потім додають у колбу місткістю 12 л концентровану HCl (1,87 л, 21,8 моль), і нагрівають до 50°C. Переливають вміст колби 5 л до колби 12 л через перепускну лінію при продуванні колби струменем N_2 , який витісняє гази з реакційної суміші. По додаванні всіх розчинів реакційну суміш нагрівають до 80°C, та продовжують продувати систему N_2 . По завершенні реакції дозволяють реакційній
- 50 суміші охолонути до температури приблизно 20°C або нижче. Додають МТВЕ (4 л), і доводять значення pH до 7, додаючи водний розчин NaOH. Реакційну суміш, що утворилася, переносять до колби місткістю 22 л для розшарування, і розділяють шари. Водний шар екстрагують МТВЕ (2×2 л). Органічну промивну рідину поєднують, промивають ропою (2 л), висушують $MgSO_4$, фільтрують, і промивають осад на фільтрі МТВЕ. Фільтрат згущують до утворення темного
- 55 рідкого масла. Залишок розчиняють у IPA (беручи 8-разовий об'єм), і переносять до колби місткістю 12 л, спорядженої механічним перемішувачем, термopарою, додавальною лійкою місткістю 1 л і насадкою для продування N_2 . У додавальну лійку заливають концентровану HCl (765 мл), і додають краплями до розчину в IPA протягом принаймні 1 год. Суспензію, що утворилася, перемішують протягом 1-2 год., фільтрують, промивають осад на фільтрі

охолодженим IPA (3×500 мл), і висушують твердий продукт протягом ночі у сушильній шафі при температурі приблизно 50°C, одержуючи 561 г сполуки, вказаної у заголовку.

Препаративна методика 5

Бензил-7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1H-бензо[b]азепін-1-карбоксилат (7)

- 5 До реакційної колби місткістю 22 л, спорядженої механічним перемішувачем, термopарою, додавальною лійкою місткістю 3 л, захисним екраном, насадкою для продування N₂, яка занурена у баню для охолодження, завантажують 7,9-диметил-3,4-дигідро-1H-бензо[b]азепін-5(2H)-он гідрохлорид (1000 г, 4,43 моль). Додають 2-метилтетрагідрофуран (6 44 кг, 7,5 л, 74,5 моль), і перемішують не зовсім білу суспензію. Охолоджують до температури 5-15°C. У
- 10 додавальну лійку поміщують розчин Na₂CO₃ (1,12 кг, 3 моль) у воді (2,5 л, 138,8 моль), і додають цей розчин краплями до реакційної суміші протягом принаймні 25 хв. У додавальну лійку місткістю 2 л поміщують бензилхлороформіат (91,59 кг, 8 86 моль), і додають краплями до реакційної суміші, підтримуючи температуру приблизно 15°C або нижче. Переносять суміш, що утворилася, до колби, спорядженої зворотним холодильником, нагрівають до температури 25-
- 15 25°C, і перемішують протягом приблизно 50 год. Охолоджують приблизно до 15°C, потому додають розчин HCl (5 M), до рН приблизно 5. Розділяють шари, що утворилися. Водний шар екстрагують метилтетрагідрофураном (4 л); органічні шари поєднують, і промивають водою (4 л). Шар органічних продуктів згущують при температурі приблизно 40°C. Додають IPA (4 л), і згущують до об'єму 2 л. Залишок переносять до колби місткістю 12 л, спорядженої механічним
- 20 перемішувачем, термopарою, кожухом для обігріву, зворотним холодильником, додавальною лійкою місткістю 2 л та насадкою для продування N₂. Нагрівають вміст колби до 70-80°C, і додають гептан (5 л). Повільно охолоджують протягом ночі до КТ, і, якщо осад не з'явився, додають зародковий кристал, щоб стимулювати кристалізацію сполуки, вказаної у заголовку. Охолоджують суспензію, відділяють тверду речовину фільтруванням, промивають на фільтрі
- 25 холодним гептаном, і висушують у вакуумі при температурі 50°C, одержуючи 1,316 г сполуки, вказаної у заголовку.

Препаративна методика 6

Суміш (Z)-бензил-7,9-диметил-5-(2-метил-2H-тетразол-5-іліміно)-2,3,4,5-тетрагідро-1H-бензо[b]азепін-1-карбоксилату (8A) та (E)-бензил-7,9-диметил-5-(2-метил-2H-тетразол-5-іламіно)-2,3-дигідро-1H-бензо[b]азепін-1-карбоксилату (8B)

- 30 До реакційної колби місткістю 12 л, спорядженої механічним перемішувачем, кожухом для обігріву, термopарою, зворотним холодильником, насадкою Діна-Старка та насадкою для введення N₂, завантажують бензил-7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1H-бензо[b]азепін-1-карбоксилат (920 г, 2,84 моль) і толуол (400 мл). У насадку Діна-Старка додають толуол (500
- 35 мл), і розпочинають перемішування. Додають 2-метил-5-амінотетразол (563,8 г, 69 моль) і PPTS (364,8 г, 0,5 моль), і нагрівають реакційну суміш до кипіння зі зворотним холодильником. Додають холодну воду (5 л), і виливають реакційну масу в насичений водний розчин NaHCO₃ (850 г), контролюючи рН таким чином, щоб суміш не набувала кислій реакції. Розділяють два шари, і промивають водний шар толуолом (4 л). Органічні шари поєднують, і промивають водою
- 40 (2×4 л), висушують над Na₂SO₄, фільтрують, і промивають осад на фільтрі толуолом. Згущують фільтрат у вакуумі при температурі близько 55°C, одержуючи 1,186 кг суміші сполук, вказаних у заголовку.

Препаративна методика 7

(S)-бензил-7,9-диметил-5-(2-метил-2H-тетразол-5-іламіно)-2,3,4,5-тетрагідро-1H-бензо[b]азепін-1-карбоксилат (9)

- 45 До автоклаву вносять суміш (Z)-бензил-7,9-диметил-5-(2-метил-2H-тетразол-5-іліміно)-2,3,4,5-тетрагідро-1H-бензо[b]азепін-1-карбоксилату та (E)-бензил-7,9-диметил-5-(2-метил-2H-тетразол-5-іламіно)-2,3-дигідро-1H-бензо[b]азепін-1-карбоксилату (4,04 г, 10 ммоль), S-(-)-2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафтилу((S)-BINAP; 60 мг, 96,3 мкмоль), KI (415 мг, 24 ммоль, причому додавання KI не є обов'язковим), а також дихлоро-біс((1,2,5,6 ета)-1,5-циклооктадієн)діїрідій (Ir₂Cl₂(COD)₂; 927 мг, 40,2 мкмоль). Витісняють повітря з автоклаву струменем азоту. Підтримуючи всередині атмосферу азоту, додають знекиснений толуол (50
- 50 мл, 472,8 ммоль), і герметизують автоклав. Нагрівають до 100°C під тиском H₂ 500 фунт/кв.дюйм (3,45·10⁶ Па) протягом 66 год. Охолоджують реакційну суміш до КТ, і стравлюють тиск. Відфільтровують осад, і збирають органічний розчин. Промивають фільтрат водою (2×25 мл), висушують Na₂SO₄, і фільтрують. Збирають фільтрат, і згущують у вакуумі, одержуючи сполуку, вказану у заголовку (3,99 г, чистота (вміст основної речовини (OP)) 88,7 % {енантіомерний надлишок за даними PXBE/HPLC}).

Препаративна методика 8

(S)-бензил-5-((3,5-біс(трифторометил)бензил)(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно)-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1-карбоксилат (10)

У скляну посудину додають (S)-бензил-7,9-диметил-5-(2-метил-2Н-тетразол-5-іламіно)-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1-карбоксилат (100 мг, 246 мкмоль), NaN (23 мг, 60 % суспензія у мінеральній олії; 575,1 мкмоль) та THF (9,2 мл, 24,6 ммоль). (Як альтернативний варіант, замість NaN та THF можна застосувати розчин трет-бутоксиду калію у DMF). Перемішують реакційну суміш при КТ протягом 10 хв. Додають краплями протягом 30 хв 3,5-біс(трифторометил)бензилбромід (173,8 мг, 566,2 мкмоль). Зачекавши приблизно 19 год., додають NaN (10 мг, 60 % суспензія у мінеральній олії), і перемішують ще протягом 1 год. Для розшарування додають EtOAc (50 мл) та ропу (2×25 мл), і збовтують. Збирають органічні шари, і висушують Na₂SO₄. Розчин фільтрують, і згущують фільтрат, одержуючи рідке масло. Для розшарування продуктів додають ACN (50 мл) та гептан (2×25 мл), і збовтують. Збирають шар CAN, висушують, і згущують, одержуючи сполуку, вказану у заголовку (189 мг), у вигляді рідкого масла.

Препаративна методика 9

(S)-N-(3,5-біс(трифторометил)бензил)-7,9-диметил-N-(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-5-амін (11)

До реакційної колби місткістю 1 л вносять форміат амонію (39,0 г, 618,0 ммоль) та 10 % Pd/C (3,91 г), а також (S)-бензил-5-((3,5-біс(трифторометил)бензил)(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно)-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1-карбоксилат (39,1 г, 61,8 ммоль), розчиненого у MeOH (391 мл, 966 моль). Суспензію, що утворилася, перемішують при КТ, контролюючи перебіг реакції за допомогою PXBE. По завершенні реакції масу фільтрують, збираючи осад, і промивають його на фільтрі MeOH (100 мл). Поєднують фільтрат і органічні промивальні розчини, і висушують Na₂SO₄. Потому фільтрують, і згущують фільтрат до сухого залишку. Залишок розчиняють у MeOH (92 мл), і вносять зародкові кристали сполуки, вказаної у заголовку. Охолоджують, і залишають на ніч, одержуючи 14,03 г (45,5 % від теорії) сполуки, вказаної у заголовку, із чистотою (вмістом ОР) 99,92 % (ЕН {енантіомерний надлишок} за даними PXBE).

Препаративна методика 10

(Транс)-метил-4-(((S)-5-((3,5-біс(трифторометил)бензил)(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно)-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1-іл)метил)циклогексанкарбоксилат (12)

До реакційної колби, спорядженої механічним перемішувачем, термпарою або термометром і насадкою для введення N₂, завантажують (S)-N-(3,5-біс(трифторометил)бензил)-7,9-диметил-N-(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-5-амін (5 г, 10,03 ммоль), а також триацетоксиборогідрид натрію (3,19 г, 15,05 ммоль) та ацетонітрил (40 мл). Колбу з суспензією, що утворилася, занурюють у баню з льодом для охолодження до температури припблизно 5°C або нижче, і потім додають (транс)-метил-4-формілциклогексанкарбоксилат (2,99 г, 17,57 ммоль; виготовлений по суті за методиками, викладеними у: Houpis I.N. et al, Tetrahedron Let. 1993, 34(16), 2593-2596, та JP49048639), розчинений у THF (10 мл); останній розчин додають за допомогою шприца, підтримуючи температуру реакційної суміші приблизно 5°C або нижче. Потім дозволяють реакційній масі нагрітися до КТ, і перемішують протягом ночі. Додають NH₄Cl у вигляді насиченого 50 % водного розчину (25 мл), збовтують, і відділяють водний шар від органічного шару. рН органічного шару має становити приблизно 5,5. Підігрівують органічний розчин приблизно до 45°C, і додають воду (16 мл). Вносять зародковий кристал сполуки, вказаної у заголовку, і охолоджують приблизно до 35°C. Одержану тверду речовину відділяють фільтрацією, і промивають ACN. Висушують, одержуючи 5,80 г сполуки, вказаної у заголовку.

Схема 3. Альтернативний спосіб синтезу ВССА

Схема 3. Альтернативний спосіб синтезу ВССА

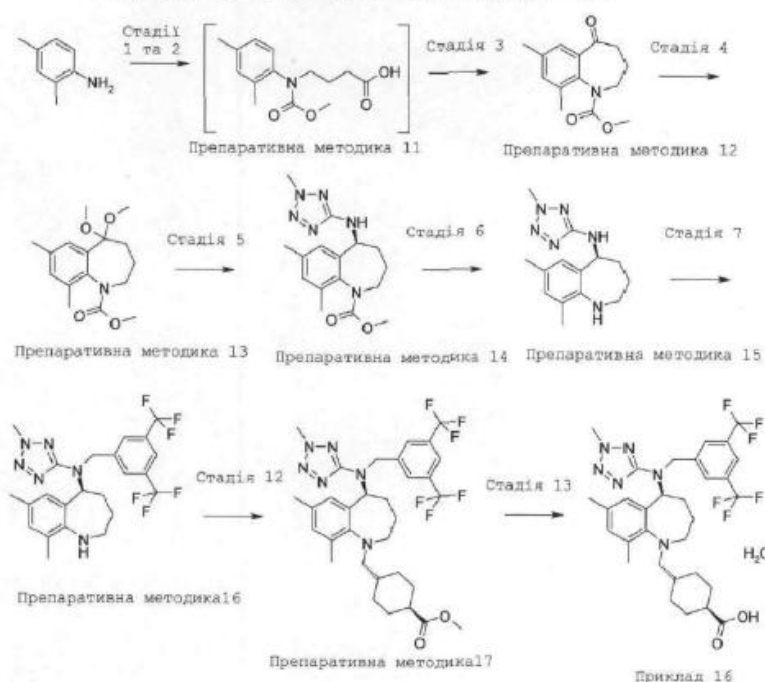
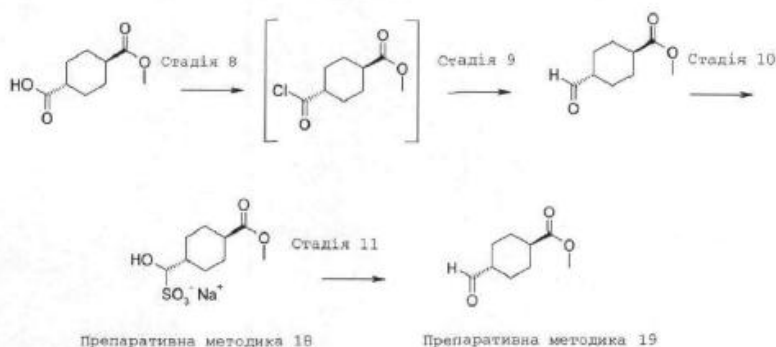


Схема 4



Препаративна методика 12

Метил-7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1H-1-бензоазепін-1-карбоксилат

- 5 Стадія 1. Викачують повітря з реактора місткістю 3000 л, вкритого зсередини склом, до залишкового тиску -0,08 МПа або менше, потім заповнюють N_2 до нормального атмосферного тиску, і так повторюють тричі. В атмосфері N_2 при перемішуванні завантажують до реактора 2,4-диметиланілін (300,0 кг) і триетиламін (873,0 кг). Підігрівають суміш до температури 70-75°C, після чого додають етил-4-бромобутират (604,0 кг) зі швидкістю 20-25 кг/год., використовуючи як
- 10 додатковий проміжний резервуар бак місткістю 500 л, підтримуючи температуру суміші 70-75°C. Перемішують реакційну суміш при 70-75°C протягом 2 год., після чого розпочинають контроль ступеня перебігу реакції за допомогою газової хроматографії (ГХ). Реакцію вважають завершеною, якщо вміст 2,4-диметиланіліну у двох послідовно забраних пробах не перевищує 3 %, і при цьому вміст побічного продукту (етил-4-((2,4-диметилфеніл)(3-
- 15 (пропіонілокси)пропіл)аміно)-бутаноату) не перевищує 10 %.

П'ятдесят шість годин по тому вміст побічного продукту вже є меншим за 10 %, але вміст 2,4-диметиланіліну все ще залишається вищим за 3 %, і до реакційної суміші додають додаткову порцію етил-4-бромобутирату (6,0 кг); втім, ще 17,5 год. по тому вміст 2,4-диметиланіліну все ще залишається вищим за 3 %, однак реакцію зупиняють.

- 20 Охолоджують реакційну суміш до 15-25°C, і перекачують у два реактори місткістю по 5000 л, вкриті зсередини склом. До кожного реактору додають воду (1200,0 кг) і толуол (1044,0 кг). Перемішують суміш протягом однієї години, і витримують ще годину, перш ніж розшаровувати продукти. Поеднують органічні фази, відібрані з обох реакторів, і двічі промивають їх водою (2×1200,0 кг). Забирають пробу органічної фази, щоб пересвідчитись, що вміст триетиламіну не

перевищує 23 %.

Згущують органічну фазу при 50-60°C під зниженим тиском (залишковий тиск -0,08 МПа або менше) доти, доки летка фракція вже не відходитиме і ваговий відсоток триетиламіну знизиться до менш ніж 0,1 %, а вміст води за Фішером (KF) не перевищуватиме 1 %. Охолоджують суміш до 20-30°C, і продукт, що утворився (етил-4-[(2,4-диметилфеніл)аміно]бутаноат), безпосередньо вводять у стадію 2.

Обладнання для газової хроматографії (ГХ). Колонка: НР-5, розміри 30 м (довжина)×0,32 мм (внутрішній діаметр, ВД)×0,25 мкм (товщина плівки), або еквівалентна колонка; газ-носії: гелій; об'ємна витрата 1,90 мл/хв; тривалість циклу: 22,5 хв; Програма: початкова температура 50°C (при вмиканні); час початку відліку 2,00 хв; Градієнти: №1 – Швидкість набору температури 20; кінцева температура 260°C; час кінця відліку 10,00; градієнт №2: 0,0 (при вимиканні); температура на вході 250°C; температура реєстрації 300°C.

Час утримання: 1) (13,56 хв) етил-4-[(2,4-диметилфеніл)аміно]бутаноат; 2) (17,40 хв) етил-4-[(2,4-диметилфеніл)(3-(пропіонілокси)пропіл)аміно]бутаноат; 3) (8,38 хв) 2,4-диметиланілін.

Стадія 2. До реактора місткістю 2000 л, вкритого зсередини склом, завантажують толуол (742,0 кг) та етил-4-[(2,4-диметилфеніл)аміно]бутаноат (171,0 кг). Перемішуючи, додають порціями карбонат натрію (77,0 кг). Встановивши і підтримуючи температуру 20-25°C, додають метилхлороформіат (96,2 кг) зі швидкістю 18 кг/год. Перемішують реакційну суміш при 20-25°C принаймні одну годину, і контролюють ступінь перебігу реакції за допомогою ГХ. Реакцію вважають завершеною, якщо вміст етил-4-[(2,4-диметилфеніл)аміно]бутаноату менше ніж 1 %. Перекачують суміш до реактора місткістю 5000 л, вкритого зсередини склом, і промивають реактор місткістю 2000 л толуолом (75 кг). Додають розчин, що містить NaOH (87,2 кг), метанол (934,0 кг) і воду (1482,0 кг), зі швидкістю 360-400 кг/год., підтримуючи температуру 20-25°C. Після цього нагрівають суміш до 55-65°C, і перемішують, підтримуючи температуру 55-60°C. Годину по тому здійснюють контроль проби за допомогою РХВЕ для визначення рівня вмісту етил-4-[(2,4-диметилфеніл)аміно]бутаноату. Охолоджують суміш до 20-30°C, витримують годину, і розділяють шари. Водну фазу згущують при 40-50°C під зниженим тиском (залишковий тиск 0,09 МПа або менше) до припинення відходження фракції метанолу (загалом 929 кг).

Охолоджують суміш до 15-25°C, додають воду (256,5 кг), і перемішують протягом 0,5 год., після чого екстрагують дихлорометаном (2×342,0 кг). Охолоджують до 0-5°C і, підтримуючи температуру на цьому рівні, додають концентровану HCl (269,0 кг) зі швидкістю 40-50 кг/год. до встановлення рН 1-2. Нагрівають суміш до 15-25°C, і перемішують протягом 1 год., підтримуючи температуру на цьому рівні. Розділяють шари, екстрагують водну фазу дихлорометаном (2×684,0 кг), і поєднують органічні шари. Органічну фазу двічі промивають 0,5 % розчином HCl (2×342,0 кг) і згодом конц. HCl (2×3,4 кг). Органічну фазу згущують зі зниженим тиском (залишковий тиск -0,08 МПа або менше; 40-50°C) доти, доки летка фракція вже не відходитиме. До залишку (4-[(2,4-диметилфеніл)-метоксикарбоніламіно]бутанової кислоти) (Препаративна методика 11) додають дихлорометан, і безпосередньо вводять продукт у подальшу стадію. Вихід 190,0 кг (407,4 кг розчину), або 98,5 % від теорії; чистота (вміст ОР) 97,8 %.

РХВЕ. Колонка: Waters XTerra MS C18; розмір 4,6×150 мм, фракція 3,5 мкм; реєстрація 230 нм; об'ємна витрата елюенту 1,0 мл/хв; темп. 25°C; ізократична рухома фаза: А – ACN; В – H₂O+0,1 % H₃PO₄ (мас.). Час утримання: (13,86 хв) 4-[(2,4-диметилфеніл)-метоксикарбоніламіно]бутанова кислота.

Стадія 3. Викачують повітря з реактора місткістю 3000 л, вкритого зсередини склом, до залишкового тиску -0,08 МПа або менше, потім заповнюють N₂ до нормального атмосферного тиску, і так повторюють тричі. Завантажують всередину дихлорометан (1900,0 кг), 4-[(2,4-диметилфеніл)-метоксикарбоніламіно]бутанову кислоту (190,0 кг) та DMF (11,4 кг), і все перемішують. Охолоджують суміш до температури від 0°C до -5°C і, підтримуючи цю температуру, додають тіонілхлорид (85,3 кг) зі швидкістю 18 кг/год. Реакційну суміш перемішують при температурі від 0°C до -5 С. Годину по тому контролюють ступінь перебігу реакції за допомогою РХВЕ, щоб перевірити, що вміст 4-[(2,4-диметилфеніл)метоксикарбоніламіно]бутанової кислоти не перевищує 1 %. Протягом відбору проб пробу змішують з метанолом, і піддають аналізу методом РХВЕ. Згущують реакційну суміш при температурі 40-45°C при нормальному атмосферному тиску доти, доки летка фракція вже не відходитиме, і охолоджують до 15-25°C. Після цього згущують залишок при температурі 40-45°C зі зниженим тиском (залишковий тиск -0,08 МПа або менше) до припинення відходження леткої фракції. Залишок розводять дихлорометаном (1031,0 кг). Додають дрібними порціями розчин безводного гексагідрату хлориду алюмінію (287,2 кг) у дихлорометані (1030,0 кг) при температурі 30-35°C. Перемішують при 35-45°C ще протягом 2 год., після чого

розпочинають контроль ступеня перебігу реакції за допомогою РХВЕ доти, доки вміст метил-7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-1-карбоксилату перевищить 80 %. (Забирають пробу, змішують її з метанолом і піддають аналізу методом РХВЕ). Реакцію гасять сумішшю води (1140,0 кг) і льоду (570,0 кг), і перемішують протягом 1 год., підтримуючи температуру 0-10°C. Підігрівують суміш до 15-25°C, перемішують 0,5 год., витримують ще 0,5 год., і розділяють шари. Органічну фазу промивають водою (2×814,0 кг). До органічної фази додають силікагель (380,0 кг), і перемішують протягом 1 год. Суміш фільтрують, шар осаду на фільтрі промивають дихлорометаном (339,0 кг), і поєднують фільтрати. Згущують одержаний фільтрат при температурі 40-45°C під зниженим тиском (залишковий тиск -0,08 МПа або менше) до одержання залишку об'ємом 150-200 л.

До залишку додають гептан (190,0 кг), охолоджують суміш до 15-20°C проточною водою, і потім охолоджують ропою до температури 0-5°C. Для кристалізації перемішують масу при цій температурі. Суспензію фільтрують; твердий осад з фільтру висушують при 35-40°C у сушильній камері, одержуючи 80,9 кг майже білої з сірим відтінком речовини. Чистота (вміст ОР за даними РХВЕ) 97,9 %. Зберігають у сухому місці, захищеному від впливу повітря, в атмосфері азоту.

Порядок роботи при РХВЕ: той самий, що для стадії 2. Час утримання: 14,71 хв (метил 7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-1-карбоксилат).

Препаративна методика 13

Метил-5,5-диметокси-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-1-карбоксилат

Стадія 4. До розчину метил-7,9-диметил-5-оксо-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-1-карбоксилату (1000 г; 1,00 екв.; 4,04 моль) у метанолі (2,50 л) і триметоксиметану (965,55 г; 995,42 мл; 9,10 моль), у реакційній колбі, спорядженій механічним перемішувачем, при температурі навколишнього середовища, у атмосфері азоту додають катіоніт Amberlyst™ 15 (100 г). Нагрівають реакційну суміш до 50°C, і підтримують цю температуру протягом 1 год. За годину реакція завершується.

Реакційну масу охолоджують до температури навколишнього середовища, відфільтровують бісер катіоніту Amberlyst, і промивають метанолом (500 мл). За допомогою перепускної трубки додають розчин до 0,1 М розчину КОН (1 л) при механічному перемішуванні, із подальшим розведенням H₂O (1500 мл). Перемішують суспензію протягом 20 хв, і фільтрують крізь поліпропіленову тканину на керамічному фільтрі діаметром 32 см. Шар осаду на фільтрі промивають водою (4×1 л), і віджимають на фільтрі до сухого стану. Осад висушують у вакуумній сушильній шафі протягом ночі при 60°C. Потім подрібнюють грудки, і продовжують сушити при 60°C протягом ще однієї ночі. Вихід неочищеного продукту після висушування 1235 г. Цей продукт розчиняють у 5 об'ємах гептану (6 л), нагрівають до 70°C, і перемішують протягом 15 хв при 70°C. Охолоджують розчин до 55°C; при цій температурі вносять зародкові кристали. Продовжують повільне охолодження; кристалізація продукту розпочинається при приблизно 45°C. Продовжують повільне охолодження до кімнатної температури, потім залишають суспензію на ніч, не припиняючи перемішування. Суспензію продукту фільтрують крізь поліпропіленову тканину. Шар осаду на фільтрі промивають гептаном (2×500 мл), і віджимають на фільтрі до сухого стану, після чого витримують у вакуумній сушильній шафі при 45°C до повного висушування (~4 діб). Вихід 766 г, чистота (вміст ОР за даними РХВЕ) 99,9 %.

РХВЕ. Колонка: Zorbax Bonus-RP, розмір 50×4,6 мм, фракція 1,8 мкм; об'ємна витрата елюенту 2 мл/хв, 40°C; градієнт: 10-30 % ACN впродовж 12 хв, до 95 % при 14 хв, витримка 2 хв, повторне врівноваження системи елюенту – 10 ммоль/л розчин ацетату NH₄. Час утримання: 13,77 хв.

Препаративна методика 14

Метил-(5S)-7,9-диметил-5-[(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-1-карбоксилат

Стадія 5. Забезпечують сухість реактора для гідрогенізації сушкою сухим N₂ впродовж 1-2 год. До реактора завантажують 2-метил-2Н-тетразол-5-амін (52,0 г), метил-5,5-диметокси-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-1-карбоксилат (140,0 г), Ir₂Cl₂(COD)₂ (0,080 г), TBAI (1,76 г), (1S)-(+)-10-камфорсульфонову кислоту (2,2 г), а також (S)-дифторфос (difluorophos) (0,163 г). Подають до реактора азот під тиском 5 фунт/кв.дюйм (3,45·10⁴ Па). Протягом 75 хв додають 600 мл толуолу крізь систему введення азоту, розпорскуючи його струменем N₂. Двічі продувають реактор азотом під тиском 20 фунт/кв.дюйм (1,38·10⁵ Па), не дозволяючи тиску впасти нижче за 5 фунт/кв.дюйм (3,45·10⁴ Па). Подають до реактора водень під тиском 500 фунт/кв.дюйм (3,45·10⁶ Па), і повільно нагрівають до 115°C. Витримують при цій температурі протягом ночі. Охолоджують до 50°C, і забирають пробу на аналіз РХВЕ. Для виконання аналізу

PBXE у хоральному варіанті пробу розводять толуолом, промивають розчином бікарбонату натрію, висушують над Na_2SO_4 , і розводять гептаном з домішкою етанолу.

Виливають толуольний розчин у ділильну лійку, і додають 140 мл етилацетату, маючи на меті кількісне перенесення реакційної суміші у ділильну лійку, і утримання речовин у розчиненому стані в протязі всіх маніпуляцій. Промивають розчин 420 мл 1 М розчину NaOH (шар органічних продуктів при цьому виглядає каламутним, натомість водний шар прозорий). Розділяють шари, і промивають органічний шар водою (420 мл). Відгоняють з органічного розчину при атмосферному тиску до 1,5 об'ємів толуолу (при загальній кількості кубового розчину у 2,5 об'єми). Охолоджують розчин до 60°C , і повільно протязі 3 хв додають 700 мл гептану (~5 об'ємів), підтримуючи температуру 60°C ; прозорий розчин, що утворився, гріють при 60°C протязі ночі при механічному перемішуванні (150 об/хв). Вже за 15 хв утворюється суспензія. Зранку суспензію охолоджують, фільтрують, збирають осад, і висушують у вакуумній сушильній шафі при 60°C протязі 3 год. Вихід 126,97 г; чистота (вміст ОР за даними PXBE) 99,4 %; EH (за даними хіральної PXBE) 94,6 %.

PXBE. Колонка: Zorbax Bonus-RP, розмір $50 \times 4,6$ мм, фракція 1,8 мкм; об'ємна витрата елюенту 2 мл/хв, 40°C ; градієнт: 10-30 % ACN впродовж 12 хв, до 95 % при 14 хв, витримка 2 хв, повторне врівноваження системи елюенту – 10 ммоль/л розчин ацетату NH_4 . Час утримання: 11,36 хв.

Хіральна PXBE. Колонка: Chiralpak IA, розмір $250 \times 4,6$ мм, об'ємна витрата елюенту 2 мл/хв, 40°C ; градієнт: 5 % IPA впродовж 11 хв, до 50 % IPA при 12 хв, витримка до 15 хв, повернення до 5 % IPA при 15,1 хв, витримка протязі 20 хв. Час утримання: 11,48 хв.

Препаративна методика 15

(5S)-7,9-диметил-N-(2-метил-тетразол-5-іл)-2,3,4,5-тетрагідро-1H-1-бензоазепін-5-амін

Стадія 6. До тефлонової колби місткістю 250 мл при механічному перемішуванні вносять метил-(5S)-7,9-диметил-5-[(2-метил-2H-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-1H-1-бензоазепін-1-карбоксилат (20,1 г), NaOH (12,10 г) та етанол (80 мл). Суміш у колбі барботують азотом протязі 10 хвилин, нагрівають до кипіння (85°C), і кип'ятять близько 5,5 год. Охолоджують до кімнатної температури у бані з холодною водою. Повільно при кімнатній температурі додають розведену водою оцтову кислоту (17,5 мл кислоти/53 мл води), і переносять до колби місткістю 500 мл приблизно посередині додавання кислоти (все додавання потребує ~30 хв). Вносять зародок (5S)-7,9-диметил-N-(2-метил-тетразол-5-іл)-2,3,4,5-тетрагідро-1H-1-бензоазепін-5-аміну (приблизно 5 мг). Нагрівають до 50°C (поступово підвищуючи температуру протязі приблизно 15 хвилин). Додають 54 мл води протязі 30 хвилин. Наступного дня охолоджують у водяній бані, фільтрують, і промивають водним розчином метанолу (суміш метанол:вода 1:1; 2×30 мл). Вологий шар осаду висушують у вакуумі при 60°C , одержуючи 13,99 г (5S)-7,9-диметил-N-(2-метил-тетразол-5-іл)-2,3,4,5-тетрагідро-1H-1-бензоазепін-5-аміну. Аналіз PXBE: вміст ОР 99,4 %, час утримання 4,84 хв. Хіральна PXBE: енантімерна чистота 98,5 %.

PXBE. Колонка: Zorbax SB-C8, розмір $75 \times 4,6$ мм, фракція 3,5 мкм, об'ємна витрата елюенту 2 мл/хв, 40°C ; реєстрація при 225 нм; градієнт: від 5 % ацетонітрилу (ACN) впродовж 2 хв, до 95 % ACN за 10 хв, витримка 1 хв.

Хіральна PXBE. Колонка: Chiralpak AD-H, розмір $150 \times 4,6$ мм, фракція 5 мкм, об'ємна витрата елюенту 1 мл/хв, 30°C ; ізократичне елюювання сумішшю 50 % етанолу в гептані.

Препаративна методика 16

(5S)-N-[3,5-біс(трифторометил)бензил]-7,9-диметил-N-(2-метил-2H-тетразол-5-іл)-2,3,4,5-тетрагідро-1H-1-бензоазепін-5-амін

Стадія 7. Всі розчини, що беруть участь у цій стадії, перш ніж додати до реакційної суміші знекиснюють введенням під поверхню кожного розчину N_2 . До колби місткістю 250 мл, спорядженої насадкою для введення азоту, вносять (5S)-7,9-диметил-N-(2-метил-тетразол-5-іл)-2,3,4,5-тетрагідро-1H-1-бензоазепін-5-амін (5,00 г, 18,36 ммоль) і толуол (15,00 мл). Протязі 30 хвилин додають краплями 0,5 М толуоловий розчин калію гексаметилдисилазиду (38,55 мл, 19,28 ммоль). При цьому температура підвищується до $21,5^\circ\text{C}$. Перемішують реакційну масу протязі 30 хвилин. Протязі ще 30 хвилин додають 1 М толуоловий розчин 1-(хлорометил)-3,5-біс(трифторометил)бензолу (25,7 мл, 25,71 ммоль). При цьому температура підвищується до $25,5^\circ\text{C}$. Перемішують реакційну масу при кімнатній температурі протязі 16 год. Реакційну суміш промивають водою (2×20 мл). Водні шари поєднують, і екстрагують толуолом (1×25 мл). Поєднують толуолові шари, згущують до сухості, і рекристалізують залишок із 92 мл 60 % водного розчину 1-пропанолу. Кристалічний продукт, що утворився, перемішують протязі 2 год. при 0°C , фільтрують, і промивають на фільтрі 10 мл 50 % водного

розчину 1-пропанолу. Одержаний продукт висушують у вакуумі при 45 °С. Вихід 7,735 г; чистота (вміст ОР за даними PXBE) 98,3 %; час утримання: 10,62 хв.

PXBE за градієнтною схемою. Колонка: Zorbax Bonus RP, розмір 4,6×150 см, фракція 5 мкм, об'ємна витрата елюенту 2 мл/хв; реєстрація при 225 нм; темп. колонки 40°C; розчинник А – вода; розчинник В – ACN; градієнт: старт (0 хв) – 85 % А, 15 % В; 12 хв – 10 % А, 90 % В; 13 хв – 10 % А, 90 % В; 13,5 хв – 85 % А, 15 % В.

Препаративна методика 17

Метил-транс-4-{[(5S)-5-{[3,5-біс(трифторометил)бензил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно}-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил}циклогексанкарбоксилат

Стадія 12. Суспензію (5S)-N-[3,5-біс(трифторометил)бензил]-7,9-диметил-N-(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-5-аміну (3,40 г, 6,82 ммоль), натрію триацетоксиборогідрату (3,01 г, 13,64 ммоль) у ACN (28 мл) охолоджують до температури від -10°C до -12°C у бані з суміші льоду і ацетону, і протягом 30 хв додають розчин (транс)-4-формілциклогексанкарбоксилату (2,03 г, 11,93 ммоль) у толуолі (18,5 мл), використовуючи для цього шприц-насос (0,66 мл/хв). Перемішування реакційної маси на бані з сумішшю льоду і ацетону продовжують протягом 2 год. До реакційної суміші додають 44 мл 10 % (мас.) водного розчину NH₄Cl, і перемішують 30 хв при кімнатній температурі. Зупиняють перемішувач, при цьому утворюються два шари. Їх розділяють, і згущують органічний шар до певного об'єму. До залишку додають 24 мл етанолу, і згущують до сухого стану (або до певного об'єму). Додають 24 мл етанолу, 2 мл води, і нагрівають до 60 °С (суспензія при цьому ще не розчиняється). Додають по краплинах 2 мл води, дозволяють суспензії охолонуть до кімнатної температури. Перемішують впродовж ночі при кімнатній температурі, охолоджують суспензію до -10 °С протягом 0,5 год., і фільтрують. Осад на фільтрі промивають 3 мл водного розчину етанолу (EtOH:вода = 4:1) при температурі -10°C. Твердий продукт висушують протягом ночі у вакуумній сушильній шафі при 50°C; одержують 4,24 г метил-транс-4-{[(5S)-5-{[3,5-біс(трифторометил)бензил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно}-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил}циклогексанкарбоксилату у вигляді безбарвної твердої речовини. Чистота (вміст ОР за даними PXBE) 99,75 %.

Аналіз PXBE. Колонка: Zorbax Bonus RP, розмір 150 мм×4,6 мм, фракція 3,5 мкм; 30°C; УФ реєстрація при 260 нм; об'ємна витрата елюенту 2,0 мл/хв, градієнт: А – 0,05 % TFA у H₂O; В – 0,05 % TFA у ACN; старт (0 хв) 95 % А до 0 % А (30 хв); 95 % А (30,5 хв – 35 хв). Метил-транс-4-{[(5S)-5-{[3,5-біс(трифторометил)бензил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно}-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил}циклогексанкарбоксилат виходить із часом утримування 23,33 хв; цис-ізомер – із часом утримування 23,05 хв.

Препаративна методика 18

Адукт бісульфіту натрію і (транс)-метил-4-формілциклогексанкарбоксилату

Стадія 8. Круглодонну колбу місткістю 12 л із трьома горловинами, занурену у охолоджувальну ванну, споряджають механічним перемішувачем, термopарою з цифровим індикатором, насадкою для введення азоту і хлоркальцієвою трубкою. До колби завантажують (транс)-4-метоксикарбонілциклогексанкарбонову кислоту (450 г). Слідом завантажують до колби дихлорометан (2,25 л), і перемішують в атмосфері азоту. З додавальної лійки у колбу додають оксалілхлорид (364 г), розведений CH₂Cl₂ (100 мл), при температурі навколишнього середовища. Реакційну масу перемішують протягом 10 хвилин при кімнатній температурі. При тій самій температурі додають у колбу з додавальної лійки каталітичну кількість DMF (1,82 г), розчинену у CH₂Cl₂ (10 мл). Перемішують реакційну масу при температурі 20°C або нижче протягом 2 год. Перебіг реакції контролюють за допомогою ГХ [(колонка: DBI, 30 м×0,25 мм, плівка 0,5 мм); пробу забирають з перемішувального розчину при температурі 20°C або нижче. Час утримання (Retention time, Rt) (транс)-4-хлорокарбонілциклогексанкарбоксилату = 7,3 хв; Rt (транс)-4-метоксикарбонілциклогексанкарбонової кислоти = 7,75 хв]. Реакцію вважають завершеною, коли у реакційній суміші залишиться менш ніж 3,0 % вихідного реагенту – (транс)-4-метоксикарбонілциклогексанкарбонової кислоти.

Стадія 9. Згущують реакційну суміш під зниженим тиском при температурі 35°C або нижче. Поряд із легкою фракцією дистилляту збирають надлишок оксалілхлориду; щоб уникнути потрапляння кислотних випарів у вакуумну систему, застосовують уловлювач із їдким лугом. До залишку додають THF (2×900 мл), і випаровують разом. Залишок розводять THF (4,5 л), і додають 2,6-лутидин (321 г). Розчин переносять у автоклав для гідрогенізації. До реакційної суміші вносять 5 % Pd на активованому вугіллі (45 г) у вигляді суспензії у THF (500 мл). Подають до реактора азот під тиском 20-30 фунт/кв.дюйм (1,38·10⁵-2,07·10⁵ Па), повторюючи операцію двічі або тричі. Подають до реактора водень під тиском 20-30 фунт/кв.дюйм (1,38·10⁵-2,07·10⁵

Па), повторюючи операцію двічі або тричі. Перемішують реакційну масу у атмосфері водню (під тиском 50-60 фунт/кв.дюйм ($3,45 \cdot 10^5$ - $4,14 \cdot 10^5$ Па)) при температурі 30-35 °С протягом 15 год. Коли 15 год. спливають, випускають водень назовні (у місцеву вентиляційну систему), і подають до реактора азот під тиском 20-30 фунт/кв.дюйм ($1,38 \cdot 10^5$ - $2,07 \cdot 10^5$ Па), повторюючи операцію двічі або тричі. Перебіг реакції контролюють за допомогою ГХ [Rt (транс)-метил-4-формілциклогексанкарбоксилату = 6,46 хв; Rt (транс)-4-хлорокарбонілциклогексанкарбоксилату = 7,3 хв]. Реакцію вважають завершеною, коли у реакційній суміші залишиться менш ніж 1,0 % (транс)-4-хлорокарбонілциклогексанкарбоксилату.

Реакційну суміш фільтрують крізь шар целіту у атмосфері азоту. Згущують, випаровуючи більшу частину розчинника (THF) зі зниженим тиском при температурі 35°C або нижче. Залишок розводять MTBE (1,8 л), і переносять у ділільну лійку. Промивають органічний розчин водою (2,25 л), і розділяють шари. Водну фазу екстрагують MTBE (2×1,8 л), і всі органічні фази поєднують. Промивають 0,5н водним розчином соляної кислоти (1×2,25 л). Промивають органічну фазу насиченим водним розчином бікарбонату натрію (1×2,5 л). Промивають органічну фазу ропою (1×2,5 л). Після цього висушують органічну фазу сульфатом магнію, і фільтрують суміш крізь фільтр із скловолоконною набивкою. Фільтрат згущують зі зниженим тиском при температурі бані 35°C або нижче. Одержують цільову речовину у вигляді безбарвного рідкого масла, яке використовують надалі без очищення.

Стадія 10. До скляної посудини, що містить 0,49 г бісульфіту натрію, додають 1 мл води. Ставлять посудину всередину ультразвукової ванни для розчинення бісульфіту натрію. Додають у посудину 5 мл THF; утворюється система з двох рідких фаз, без осаду. Цю двофазну систему з THF та водного розчину бісульфіту натрію переносять у колбу місткістю 50 мл, що містить (транс)-4-формілциклогексанкарбоксилат (1 г, 5,88 ммоль), із стрижнем для магнітного перемішувача всередині. (Примітка: (транс)-4-формілциклогексанкарбоксилат містить лише близько 80 % основної речовини – саме тому використовують лише 0,8 еквівалентів NaHSO_3). Розводять реакційну суміш додатково 5 мл THF, і не пізніше як за хвилину утворюється дуже густа кристалічна маса. Кристалічну масу, що утворилася, нагрівають до кипіння. Розводять суміш THF порціями 3×5 мл. Кристали за структурою дуже пухкі. Суспензію перемішують при кімнатній температурі декілька годин, потім фільтрують, промивають 20 мл THF, і підсушують на фільтрі протягом години (вихід 1,27 г). Висушують протягом ночі у вакуумній сушильній шафі при 40°C, одержуючи 1,19 г адукту бісульфіту натрію і (транс)-метил-4-формілциклогексанкарбоксилату у вигляді безбарвної твердої речовини.

Препаративна методика 19

(Транс)-4-формілциклогексанкарбоксилат

Стадія 11. До суміші карбонату натрію (5,06 г, 47,72 ммоль), толуолу (17 мл) і води (33 мл) додають адукт бісульфіту натрію і (транс)-метил-4-формілциклогексанкарбоксилату (3,92 г, 11,93 ммоль), і перемішують при кімнатній температурі. Після перемішування протягом 1 год. при кімнатній температурі розділяють шари, і промивають шар толуолу 15 мл води. Цей толуоловий розчин, що містить (транс)-4-формілциклогексанкарбоксилат, використовують на стадії 12.

Приклад 1

Транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонова кислота, аморфна тверда речовина

У колбу вносять (транс)-метил-4-(((S)-5-((3,5-біс(трифторометил)бензил)(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно)-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1-іл)метил)циклогексанкарбоксилат (149 мг). Додають MeOH (6 мл) та 1,0н розчин NaOH (3,0 мл). Суміш, що утворилася, нагрівають до приблизно 60°C. Перебіг реакції контролюють методом хроматографії у тонкому шарі (ХТШ). По закінченні 7 год. з початку реакції, або ж коли увесь вихідний складний ефір зазнає перетворення, охолоджують реакційну суміш приблизно до 0°C, і гасять реакцію, додаючи 1н розчин HCl. Розводять суміш EtOAc (60 мл), послідовно промивають водою (20 мл), ропою (20 мл), і висушують Na_2SO_4 . Фільтрують, і згущують фільтрат. Залишок очищують флеш-хроматографією (елюент – CH_2Cl_2). Розчинник видаляють, одержуючи сполуку, вказану у заголовку (125 мг), у вигляді білої твердої речовини.

Приклад 2

Транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонова кислота, аморфна тверда речовина

До тригорлої колби місткістю 500 мл, спорядженої механічним перемішувачем, додавальною лійкою і термopарою, вливають воду (265 мл), і охолоджують у бані з льодом. У другій колбі розчиняють ВССА (22,0 г) у 40 мл ацетону, і додають цей розчин з додавальною лійкою до тригорлої колби. Колбу споліскують ще 4 мл ацетону, і додають у додавальну лійку змивний ацетон. Краплями додають вміст додавальної лійки до колби, і потім одержану суміш перемішують, підтримуючи температуру в межах 0-1°C. Відділяють осад, що утворився, двічі промивають на фільтрі водою, і висушують протягом ночі при 40°C, одержуючи 22,3 г сполуки у вигляді білого порошку.

Приклад 3

Гідрат транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти

З колби, спорядженої механічним перемішувачем, термopарою або термометром і насадкою для введення N₂, витісняють повітря азотом; слідом за цим, підтримуючи всередині колби надлишковий тиск азоту, додають (транс)-метил-4-(((S)-5-((3,5-біс(трифторометил)бензил)(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно)-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1-іл)метил)циклогексанкарбоксилат (1,0 кг, 1,53 моль), MeOH (10 л) та 2 М розчин NaOH (1,53 л, 3,06 моль). Суміш, що утворилася, нагрівають до кипіння (близько 68°C). Після 4-годинного кип'ятіння дозволяють реакційній масі охолонути до КТ, і залишають перемішуватися протягом ночі. Суміш фільтрують, збираючи фільтрат. Додають водний розчин метанолу (MeOH:вода=1:1 (за вагою); 500 мл), і потім повільно додають оцтову кислоту (260 мл), щоб ініціювати осаджування продукту. Відділяють тверду речовину, що утворилася у вигляді суміші, яка складається з ВССА, гідрату ВССА та сольвату ВССА з метанолом. Висушують тверду речовину у сушильній шафі при 40°C.

До колби місткістю 2 л, спорядженої зворотним холодильником, термopарою, нагрівальним кожухом і механічним перемішувачем, вносять ВССА у вигляді твердої речовини (109 г), MeOH (900 мл) і воду (10 мл). Суспензію, що утворилася, нагрівають до кипіння у атмосфері азоту. Після повного розчинення твердої речовини вимикають обігрів, і дозволяють реакційній масі охолонути до температури навколишнього середовища. Якщо це бажано, можна додати зародковий кристал гідрату ВССА. Відділяють тверду речовину. Промивають послідовно водним розчином метанолу (MeOH:вода=9:1 (за об'ємом); 100 мл) і водою (1 л). Тверду речовину висушують у вакуумі при температурі приблизно 40°C, одержуючи 100 г білої твердої речовини. Надалі знов збовтують речовину з сумішшю ізопропанол-вода (1:1 (за об'ємом); 1 л). Відділяють тверду речовину, що утворилася, промивають водою (500 мл), і висушують протягом ночі у вакуумі при 40 °C, одержуючи 60 г сполуки, вказаної у заголовку. Результати аналізу: вода 2,53 % (за Фішером); елементний аналіз: C₃₁H₃₆F₆N₆O₂·H₂O; обчислено (%): С 56,70; Н 5,83; N 12,80; знайдено (%): С 56,59; Н 5,28; N 12,55.

ЯМР у твердому стані

Спектри ЯМР¹³C кристалічного гідрату ВССА у твердому стані одержано за допомогою техніки твердофазного ЯМР (solid-state NMR, або SSNMR) із крос-поляризацією та/або обертанням під "магічним кутом" (ЯМР CP/MAS) і записано на ЯМР спектрометрі Bruker Avance II, 400 МГц, що працює на частоті атомів вуглецю, яка становить 100,622 МГц, і обладнаний зондом подвійного резонансу Bruker 4 мм (K299552). Застосовували повне пригнічення побічних смуг (TOSS) разом із крос-поляризацією: схему розрізнення SPINAL64 (95,4 ват) та імпульс КП протонів модельного профілю а RAMP100. Параметри накопичування сигналу були такими: ширина РЧ імпульсу протона (90°) 2,50 мкс, час контакту 1,5 мс, період повторення імпульсів 20 с, частота обертання (MAS) 5 кГц, спектральна ширина 30 кГц, тривалість накопичування 34 мс, кількість проходжень спектром 3844. Одержано такий набір резонансних частот ¹³C SSNMR гідрату ВССА: 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 143,5, 139,9, 136,3, 132,8, 132,1, 129,2, 127,3, 126,2, 122,7, 121,0, 61,1, 53,0, 49,8, 45,0, 40,2, 38,7, 31,4, 30,4, 29,0, 27,8, 27,0, 21,2, 18,3; ±0,2 млн⁻¹. Хімічні зсуви відліковували від сигналу адамантану (δ=29,5 млн⁻¹), одержаного у окремому експерименті.

Приклад 4

Кристалічна форма транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти·гідрату та сольвату із етанолом

До посудини завантажують (транс)-метил-4-(((S)-5-((3,5-біс(трифторометил)бензил)(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно)-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1-іл)метил)циклогексанкарбоксилат (12,95 кг), EtOH (129,5 л) та 2 М розчин NaOH (9,9 л, 2 екв.). Перемішують суспензію, що утворилася, приблизно 10 хв, потім нагрівають реакційну суміш до

приблизно 40-45°C, і витримують 6 год. Перебіг реакції контролюють за допомогою РХВЕ. Додають оцтову кислоту (3,75 кг), після цього воду (15,5 л), і насамкінець вносять зародок кристалічної форми гідрату ВССА. Після перемішування протягом приблизно 2 год. охолоджують реакційну суміш до КТ, і перемішують ще протягом 2 год. Відділяють тверду речовину, що утворилася, промивають водним етанолом (EtOH:вода=1:1, 2×26 л), і висушують протягом ночі, одержуючи сполуку, вказану у заголовку (15,87 кг, маса вологої речовини), у вигляді суміші сольвату з етанолом і гідрату.

Приклад 5

Кристалічна форма гідрату транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти

До посудини завантажують транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту (15,87 кг) і воду (158,8 л). Перемішують суспензію, що утворилася, протягом 2 год. при КТ. Потім фільтрують суспензію, що утворилася, для відділення твердої речовини. Висушують тверду речовину протягом ночі. Тверду речовину, що утворилася, розчиняють у MeOH при нагріванні до 65-70°C впродовж 2 год. до утворення прозорого розчину. Прозорий розчин фільтрують, і фільтрат охолоджують до температури 0-5°C, щоб ініціювати кристалізацію. Відділяють кристали, що утворилися, і висушують протягом ночі. Кристалічну речовину збовтують із водою (158,8 л), і перемішують при КТ протягом приблизно 2 год. Відділяють кристалічну речовину; висушують у глибокому вакуумі при 40-45°C, одержуючи тверду речовину із відсотком вологості від 2,7 до 3,1 (за даними метода Фішера).

Приклад 6

Кристалізація гідрату транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти

До колби місткістю 250 мл, спорядженої механічним перемішувачем, вносять етанол (100 мл), (транс)-метил-4-[[[(S)-5-((3,5-біс(трифторометил)бензил)(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно)-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[b]азепін-1-іл)метил]циклогексанкарбоксилат (10,0 г, 15,32 ммоль) та 2 М розчин NaOH (15,0 мл, 30,0 ммоль). Суспензію, що утворилася, нагрівають приблизно до 40°C, і перемішують при цій температурі протягом приблизно 4 год. Дозволяють реакційній суміші охолонути до КТ. Додають оцтову кислоту (2,7 мл, 45,4 ммоль), і підігрівують до 40°C. Протягом 2,5 год. повільно додають воду (40 мл) для утворення густої білої суспензії. Нагрівання продовжують ще протягом 1,5 год., і дозволяють суспензії охолонути до КТ. Відділяють тверду речовину фільтруванням, і послідовно промивають водним етанолом (EtOH:вода=1:1, 20 мл) і водою (20 мл). Суспендують тверду речовину у воді (70 мл); відділяють тверду речовину фільтруванням, і промивають водою (2×20 мл). Операцію завішування у воді і відмивання повторюють ще двічі. Відділяють тверду сполуку, що утворилася, і висушують при 60°C, одержуючи сполуку, вказану у заголовку, у вигляді білої твердої речовини (6,1 г).

Приклад 7

Кристалізація гідрату транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти

До сцинтиляційного флакона вносять ВССА (60 мг), і додають 1,5 мл MeOH. Нагрівають прозорий розчин приблизно до 45°C. Додають 1,5 молярних еквіваленти мурашиної кислоти у 100 мкл води; при цьому утворюється біла суспензія. До суспензії дають 0,5 мл MeOH, і обережно нагрівають до приблизно 55°C. Зачекавши декілька годин, охолоджують суспензію до КТ, відділяють білу кристалічну речовину вакуум-фільтруванням, і висушують його на повітрі. ЯМР аналіз розчину цієї кристалічної твердої речовини не виявляє присутності вільної мурашиної кислоти. Подальший аналіз кристалічної форми можливий методом диференційної термографії (термогравіметричного аналізу), яким виявлено, що кристалічна форма характеризується вмістом летких речовин (втратою ваги при нагріванні від 38°C до 133°C) 2,6%; за даними термогравіметрії з мас-спектром (TGA-MS), легкою речовиною є вода, а втрата ваги відбувається при 81°C.

Диференційна термографія / Термогравіметричний аналіз

Диференційну термографію / термогравіметричний аналіз (DTA/TGA) здійснювали на установці Mettler Toledo (моделі TGA/SDTA 851). Проби нагрівали у герметичних алюмінієвих посудинах з малим отвором; температуру підіймали від 25°C до 300-350°C зі швидкістю 10°C/хв, проганяючи крізь посудину струмінь азоту з об'ємною швидкістю 50 мл/хв. Термопару для

TGA градували за допомогою еталонних індій-алюмінієвих сплавів (Т. топл. = 156,6°C та 660,3°C). Градування терезів і гир здійснювали за допомогою еталонів, наданих постачальником обладнання, і перевіряли контрольною дегідратацією дигідрату цитрату натрію.

Рентгеноструктурний спектральний аналіз (XRD)

- 5 Дифрактограми XRD (дебаєграми) реєстрували за допомогою рентгенівського дифрактометра Bruker-AXS D4 Endeavor, використовуючи джерело рентгенівських променів CuK ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$, живлення: 40 кВ, 50 мА), і детектор Vantec. Сигнал накопичували у діапазоні кутів 2θ 4-40° з інкрементом 2θ у 0,009° і періодом кроку накопичення 0,5 секунд. Обробка даних: метод "універсальної обробки сигналів" (Universal Signal Processing, USP);
- 10 застосовували поправку на зсув сигналу, обравши за реперні сигнали піки 2θ 8,853° та 17,759° внутрішнього еталону.

Нижче у таблиці 1 подані головні піки 2θ .

Таблиця 1

Кут (2θ), °	Інтенсивність I/I_0 , %	Відстань d, ангстрем
7,5	28,7	11,83
9,2	20,6	9,62
10,7	50,7	8,28
10,9	24,5	8,09
11,3	43,5	7,82
12,2	13,8	7,26
12,4	21,9	7,11
12,7	17,6	6,95
13,8	49,8	6,41
15,0	64,7	5,90
15,5	100,0	5,70
16,5	22,6	5,37
16,7	25,7	5,32
17,7	33,1	5,00
18,5	32,9	4,80
18,7	33,2	4,75
19,0	28,0	4,66
19,5	54,5	4,54
20,5	12,8	4,32
20,7	13,6	4,30
21,0	23,7	4,23
21,7	18,8	4,09
21,8	15,1	4,08
22,1	23,7	4,02
22,7	12,4	3,92
25,1	32,6	3,55
26,9	10,6	3,31

- 15 Загальновідомим у кристалографії є той факт, що для будь-якої певної кристалічної форми відносні інтенсивності дифракційних піків варіюють залежно від переважної орієнтації, яка, у свою чергу, обумовлена певними факторами, такими як морфологія кристалу. За наявності переважної орієнтації інтенсивності піків змінюються, проте координати характеристичних піків певної поліморфної модифікації залишаються незмінними. (Див., наприклад, The United States Pharmacopeia (Державна Фармакопея США) #23, National Formulary #18, pages 1843-1844, 1995).
- 20 Крім того, відомим у кристалографії є той факт, що для будь-якої певної кристалічної форми кутові положення дифракційних максимумів так само можуть дещо варіювати. Наприклад, кутові положення максимумів здатні зазнавати зсуву під впливом коливань температури, при якій здійснюється аналіз проби, фізичного зсуву самого матеріалу проби, а також залежно від того, наявний чи відсутній внутрішній еталон. У даному випадку слід зважати
- 25 на коливання кутового положення максимуму (2θ) в межах $\pm 0,2^\circ$, і усвідомлювати, що такі

можливі варіації не є перешкодою для однозначної ідентифікації кристалічних солей за цим винаходом.

Одним із загальновідомих з літератури і загальноновживаних методів відшукування кристалічних форм є так званий "метод Фінка". Згідно з алгоритмом Фінка, для первинного пошуку використовують чотири найінтенсивніші лінії, згодом чотири найближчі за інтенсивністю лінії і так далі.

Приклад 8

Транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової

кислоти-сольват із метанолом

Суспендують ВССА (4 грами) у 4 мл метанолу, і доводять до кипіння. Додають ще приблизно 50 мл метанолу, доки залишиться незначна суспензія. Охолоджують суміш до кімнатної температури, і витримують протягом доби. Твердий продукт відділяють вакуум-фільтруванням, і зберігають у герметичній посудині разом із метанолом, щоб захистити метастабільну кристалічну форму від впливу вологи.

Приклад 9

Сольват транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти- із етанолом

Суспендують ВССА (3 грами) у 10 мл етанолу протягом декількох годин. Твердий продукт відділяють вакуум-фільтруванням, і зберігають у герметичній посудині разом із етанолом, щоб захистити метастабільну кристалічну форму від впливу вологи.

Приклад 10

Сольват транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти- із мурашиною кислотою

Розчиняють ВССА у 7 мл ізопропанолу. До розчину додають мурашину кислоту (3 мл). Згодом додають воду (4 мл) при кімнатній температурі до появи легкої каламуті. Суспензію нагрівають до 70°C, і витримують протягом 6 год. із подальшим охолодженням до кімнатної температури. Твердий продукт відділяють вакуум-фільтруванням, і висушують на повітрі. Реєструють спектр XRD (дебаєграму) відповідно до опису, наведеного у прикладі 7. Нижче у таблиці 2 подано перелік піків, одержаних із дебаєграми.

Таблиця 2

Кут (2-θ), °	Інтенсивність I/I ₀ , %	Відстань d, ангстрем
6,3	3,5	13,94968
9,3	17,7	9,51672
9,9	16,5	8,88574
10,7	8,5	8,26542
11,1	16	7,96996
11,5	4,9	7,66788
12,2	11,6	7,26781
12,7	5,7	6,9724
13,0	30,5	6,79403
13,9	32,7	6,34956
14,4	1,3	6,15366
14,9	13,2	5,93156
15,4	94,8	5,73681
15,7	51,8	5,64135
16,4	33,8	5,40178
16,9	69,1	5,25235
18,2	62,3	4,86504
18,6	100	4,76188
19,5	39,9	4,54984
19,9	22,2	4,46884
20,3	84	4,37738
20,8	34,3	4,25735

Таблиця 2

Кут (2-θ), °	Інтенсивність I/I ₀ , %	Відстань d, ангстрем
21,2	25,3	4,18
21,8	28,9	4,0714
22,1	21,7	4,02645
22,3	12,9	3,98942
22,8	42,2	3,89217
23,5	1,6	3,78509
23,9	10,5	3,72471
24,4	26,9	3,64202
25,7	54,3	3,46701
26,3	13,3	3,38649
26,9	28,1	3,31071
27,4	3	3,25174
27,7	7,9	3,21293
28,1	18,9	3,17584
28,8	0,3	3,09618
29,3	4,7	3,04676
29,6	9,5	3,01312
30,1	9,9	2,97021
30,5	2,2	2,92929
31,1	17,2	2,87149
31,5	6	2,83836
32,1	3	2,78284
32,8	1,4	2,725
33,3	8,4	2,68817
33,7	2,4	2,65549
34,1	1,9	2,62877
35,0	3,6	2,56476
35,2	5,2	2,54651
36,2	8,8	2,4816
37,1	5,3	2,41971
37,6	4,4	2,38904
38,1	1	2,35966
38,5	1,8	2,33689
38,8	4,4	2,31826
39,1	6,1	2,30101
39,5	0,5	2,27748
25,5	47,3	3,49258

Приклад 11

Транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової

кислоти·сольват із оцтовою кислотою

Суспендують транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту (1,5 г) у 10 мл гептану. Нагрівають суспензію до 50°C. Додають 1 мл оцтової кислоти, при цьому суспензія перетворюється на прозорий розчин. Додають ще 10 мл гептану, і охолоджують до кімнатної температури. Твердий продукт відділяють вакуум-фільтруванням, і висушують на повітрі. Реєструють спектр XRD (дебаєграму) відповідно до опису, наведеного у прикладі 7. Нижче у таблиці 3 подано перелік піків, одержаних із дебаєграми.

Таблиця 3

Кут(2- θ), °	Інтенсивність I/I_0 , %	Відстань d, ангстрем
6,1	13,9	14,44535
7,4	5,5	11,91759
7,7	3,9	11,43266
9,1	36,1	9,71543
9,5	7,2	9,26358
10,3	7,2	8,56123
10,6	9,9	8,35606
11,0	49,7	8,03505
11,3	9,4	7,85127
12,0	17,1	7,34832
12,3	8,7	7,15849
12,6	11,4	6,99570
12,9	69,1	6,84536
13,8	59,9	6,42263
14,1	12,0	6,28300
14,6	18,4	6,04828
14,9	42,7	5,93036
15,1	64,5	5,85341
15,6	47,5	5,68615
16,1	25,3	5,48924
16,4	60,8	5,40742
16,6	15,5	5,33346
17,8	62,9	4,99156
18,4	100,0	4,82513
18,6	25,0	4,75791
19,0	22,8	4,67246
19,4	70,3	4,57246
19,6	36,3	4,51720
20,1	54,0	4,40286
20,8	68,0	4,26852
21,1	42,1	4,19902
21,4	17,2	4,15565
21,7	52,5	4,08624
22,2	31,5	3,99752
22,7	40,3	3,90975
23,3	14,1	3,81432
24,2	23,9	3,66935
24,9	33,2	3,56724
25,5	40,1	3,49233
25,8	10,4	3,44753
26,2	19,8	3,39235
26,6	29,0	3,34914
26,9	8,1	3,31407
27,6	9,9	3,23104
27,9	11,3	3,19103
28,9	8,0	3,08812
29,6	5,4	3,01802
30,2	5,4	2,95795
30,6	4,3	2,91735
31,3	5,5	2,85866
32,1	6,1	2,78825
32,7	5,2	2,73423
33,0	7,2	2,71300

Таблиця 3

Кут(2-θ), °	Інтенсивність I/I ₀ , %	Відстань d, ангстрем
33,9	5,1	2,63900
34,3	3,5	2,61366
35,0	7,1	2,56146
35,7	3,2	2,51192
36,1	3,9	2,48827
36,3	3,8	2,47610
36,7	3,4	2,44761
37,0	4,4	2,42813
37,3	3,3	2,40594
37,7	4,2	2,38107
38,5	4,6	2,33422
39,3	4,1	2,28755

Приклад 12

Транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти·сіль натрію

До пляшки місткістю 500 мл додають гідрат транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти (20,16 г) та етанол SDA 3А (4,5 % метанолу) (200,94 мл). Перемішують стрижнем магнітної мешалки, повільно додаючи 1н розчин гідроксиду натрію (31,95 г). Повинен утворитися прозорий розчин.

Використовують сушильну установку з розпилюванням (Niro SD Micro Spray Dryer), і застосовують газ-осушувач із об'ємною витратою до 32,5 кг/год., тиск 2,8 бар, газ-розпилювач із об'ємною витратою до 2,0 кг/год., тиск 0,3 бар, із авторегульованою температурою на вході 115°C. Як тільки встановиться температура на вході 115°C, і відповідна температура на виході (109°C), розпочинають подавати суміш етанолу з водою (83:17 за вагою). При встановленому у положення 3.0 перемикачі "pump setting" на стінки і на вихід камери не повинно потрапляти жодних краплин. Вичікують до встановлення термічної рівноваги, тобто температури на виході 104°C. Перемикають систему з режиму впорску водно-етанольної суміші (при кімнатній температурі) у режим сушіння зразку з впорском розчину у водно-етанольній суміші. Після висушування розпилюванням вага зразку становить 13,51 г.

Приклад 13

Транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти·сіль магнію

Розчиняють транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти сіль натрію (2 грами) у 5 мл метанолу. Розчиняють ацетат магнію (335 мг) у 20 мл води. Розчин ацетату магнію додають краплями до розчину натрієвої солі ВССА із енергійним перемішуванням при кімнатній температурі, а потім підвищують температуру до 65°C. При цьому випадає осад. При підвищеній температурі додають ще 10 мл води. Охолоджують суспензію до кімнатної температури, відділяють твердий продукт вакуум-фільтруванням, і промивають водою. Висушують продукт у вакуумній сушильній шафі при кімнатній температурі.

Сіль кальцію і цинку ВССА можна одержати за методикою, подібною до методики одержання магнієвої солі ВССА. Сіль калію можна одержати за методикою, подібною до методики одержання натрієвої солі ВССА.

Приклад 14

Транс -4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти· із трет-бутиламіном, сольват із ізопропиловим спиртом (1:1:1)

Круглодонну колбу з трьома горловинами місткістю 1 л споряджають механічним перемішувачем, терморегулятором, подавальною лійкою і кожухом для обігріву. Суспендують транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти гідрат (50

- г) у гептані (500 мл). Нагрівають суспензію до 69,1°C, і додають трет-бутиламін (5,57 г) у вигляді розчину в ізопропіловому спирті (70 мл), після чого ополіскують ще 5 мл ізопропілового спирту. Одразу після додавання утворюється розчин. Під час додавання температура знижується до 63°C, однак знов підвищується до 69°C, як тільки додавання буде завершено. Додають на кінчику шпатлі зародкові кристали солі транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти з трет-бутиламином. Розпочинається утворення суспензії, при цьому перемішування при 69°C триває. Розпочинають охолодження реакційної маси до 55°C. Приблизно за годину утворюється густа суспензія. Охолодження продовжують до температури 45°C. За годину температуру суспензії знижують до 35°C. Приблизно 2 год. по тому вимикають обігрів, і дозволяють масі охолотитися до температури навколишнього середовища. Приблизно 3 год. по тому суспензію фільтрують (температура при цьому дорівнює 21°C), і промивають 100 мл гептану. Осад висушують у вакуумі протягом приблизно 1,5 год. Сушать протягом уїк-енду у вакуумі при 33°C. Одержують вихід 55,9 г. Реєструють спектр XRD (дебаєграму) відповідно до опису, наведеного у прикладі 7. Нижче у таблиці 4 подано перелік піків, одержаних із дебаєграми.

Таблица 4

Кут (2-θ), °	Інтенсивність I/I ₀ , %	Відстань d, ангстрем
5,6	44,1	15,66139
8,0	25,8	11,06129
8,9	14,1	9,90002
10,9	7,3	8,08475
11,3	49,2	7,84359
11,5	2,6	7,67967
12,3	1,9	7,19816
12,6	50,1	7,01593
12,8	2,2	6,88749
13,5	5,5	6,52796
14,4	9,4	6,14491
15,2	3,5	5,81628
15,7	1,7	5,62539
16,0	3,0	5,54451
16,2	6,6	5,45377
16,5	9,5	5,38135
16,9	1,4	5,22767
17,3	1,7	5,11298
17,9	100,0	4,95461
19,0	2,6	4,67047
19,4	9,2	4,56973
19,8	18,4	4,47579
20,0	4,3	4,43314
20,4	31,4	4,34849
20,6	10,7	4,30398
20,9	7,4	4,25624
21,2	2,6	4,18059
21,6	16,3	4,11389
22,5	15,6	3,94560
22,7	10,1	3,92057
22,9	4,9	3,88729
23,4	14,3	3,79936
24,1	32,8	3,69727
24,4	2,7	3,64309
25,4	17,6	3,50430
25,7	2,8	3,46139
26,2	2,2	3,40048

Таблиця 4

Кут (2- θ), °	Інтенсивність I/I ₀ , %	Відстань d, ангстрем
26,5	3,9	3,36314
27,4	1,7	3,25294
27,7	3,4	3,21470
28,4	2,2	3,13589
28,8	1,9	3,09670
29,0	10,9	3,07330
30,0	1,7	2,97494
30,3	2,2	2,94722
30,7	3,6	2,91172
31,1	2,7	2,87130
31,5	1,8	2,83951
32,0	1,6	2,79091
32,3	1,8	2,77270
32,5	3,5	2,74970
33,3	2,7	2,69165
34,2	2,5	2,62286
34,5	1,7	2,59477
34,8	1,6	2,57771
35,9	1,4	2,49750
36,2	2,0	2,48053
36,6	2,7	2,45071
37,1	1,2	2,42094
37,3	1,7	2,40638
37,7	1,2	2,38295
38,0	1,5	2,36721
38,3	2,0	2,34975
38,8	2,8	2,31827
40,0	1,4	2,25835

Приклад 15

Напівсіль транс -4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової

5

кислоти із трет-бутиламіном, напівсольват із етанолом (2:1:1) у кристалічній формі

Суспендують транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової

кислоти гідрат (50,5 г) у гептані (404,00 мл) при механічному перемішуванні. Додають етанол (25,25 мл), і нагрівають до 55°C. Утворюється прозорий розчин. Додають трет-бутиламін (2,81 г)

при 55°C. Для того, щоб спонукати систему до кристалізації, вносять зародок транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-

диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти напівсолі з трет-бутиламіном напівсольвату із етанолом (2:1:1). Підтримують температуру, яка становить 50°C. За лічені хвилини утворюється вельми густа суспензія, при цьому температура підвищується до

60°C. Перемішування продовжують, при цьому охолоджують знов до 50°C. Приблизно 5,5 год. по тому вимикають обігрів, і дозволяють масі охолотитися до температури навколишнього середовища. Приблизно 3 год. по тому суспензію фільтрують, споліскують колбу порцією маточного розчину, і промивають шар осаду 100 мл гептану. Висушують протягом ночі у вакуумі при 45°C. Вихід 50,9 г. Реєструють спектр XRD (дебаєграму) відповідно до опису, наведеного у

прикладі 7. Нижче у таблиці 5 подано перелік піків, одержаних із дебаєграми.

20

Таблиця 5

Кут (2- θ), °	Інтенсивність I/I_0 , %	Відстань d, ангстрем
4,4	7,9	19,89438
5,5	100,0	15,98834
7,0	11,1	12,56184
9,0	68,2	9,80480
10,5	2,8	8,37905
11,0	6,7	8,03163
13,2	14,6	6,72015
13,6	15,4	6,51691
14,3	91,3	6,16773
14,7	6,5	6,03809
15,2	19,3	5,81709
16,4	7,7	5,38980
17,1	8,5	5,16503
17,5	47,8	5,06441
18,2	56,5	4,87353
19,4	42,7	4,58173
19,8	13,6	4,47894
20,0	16,8	4,44358
20,6	36,0	4,31170
21,3	4,7	4,16561
22,0	66,4	4,04259
22,5	60,2	3,95496
22,8	8,5	3,89683
23,6	10,5	3,76398
24,2	8,0	3,66760
24,5	9,1	3,63014
25,2	3,0	3,53057
25,5	11,9	3,48459
26,0	4,9	3,42535
26,5	10,1	3,36294
26,8	8,5	3,32729
27,4	7,4	3,24977
28,2	3,6	3,16032
29,0	10,2	3,07299
29,8	2,6	2,99108
30,3	1,7	2,94967
30,8	2,8	2,90463
31,3	1,8	2,85529
31,6	2,2	2,83127
31,9	2,0	2,80658
32,2	1,3	2,77693
32,5	2,1	2,75134
32,8	2,8	2,72867
33,1	2,6	2,70617
33,4	4,0	2,68312
33,6	2,1	2,66202
33,9	1,3	2,64016
34,3	2,6	2,61178
34,9	1,9	2,57048
35,3	3,5	2,54278
35,9	1,6	2,50187
36,2	1,2	2,47774
36,6	2,0	2,45291

Таблиця 5

Кут (2-θ), °	Інтенсивність I/I ₀ , %	Відстань d, ангстрем
37,1	3,7	2,42008
37,5	1,6	2,39905
37,9	2,0	2,37147
38,5	2,5	2,33798

Приклад 16

Гідрат транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти

Стадія 13 зі схеми 3. До (транс)-метил-4-(((S)-5-((3,5-біс(трифторометил)бензил)(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно)-7,9-диметил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-бензо[б]азепін-1-іл)метил)циклогексанкарбоксилату (12,95 кг) при кімнатній температурі додають 2 М розчин NaOH (9,9 л), і перемішують реакційну масу протягом 10 хвилин. Надалі перемішують при температурі 40-45°C впродовж 6 год. Перебіг реакції контролюють за допомогою РХВЕ. До реакційної суміші додають спочатку оцтову кислоту (3,75 кг), за нею воду (1,2 об'єми), вносять зародок гідрату ВССА, і перемішують протягом 2 год. при температурі 40-45°C. До реакційної суміші додають воду (2,8 об'ємів), і перемішують ще протягом 2 год. при температурі 40-45 °С. Охолоджують реакційну масу до кімнатної температури, перемішують протягом 2 год., і фільтрують. Тверду речовину на фільтрі промивають водним етанолом (EtOH:вода=1:1, 2×2 об'єми), і висушують протягом ночі на фільтр-пресі. Одержують 15,87 кг твердої речовини, яку використовують на стадії 2.

До твердої речовини, одержаної на стадії 1, додають метанол, і перемішують протягом 2 год. при температурі 65-70°C до одержання прозорого розчину. Освітлюють до повної прозорості, фільтруванням розчину крізь прес-фільтрувальний елемент, і переносять до другого реактора, перемішують протягом 2 год. при температурі 0-5°C, відділяють осад фільтруванням, і висушують протягом ночі на фільтр-пресі. Збовтують рекристалізовану тверду речовину у воді (10 об'ємів) при кімнатній температурі протягом 2 год., відділяють осад фільтруванням, і висушують на фільтр-пресі. Висушують у сушильному шкафу у глибокому вакуумі при 40-45°C, одержуючи тверду речовину із відсотком вологи від 2,7 до 3,1 (за даними метода Фішера). Таким чином одержують 11,80 кг продукту.

Вміст вологи (аналіз методом Фішера): 3,16 %.

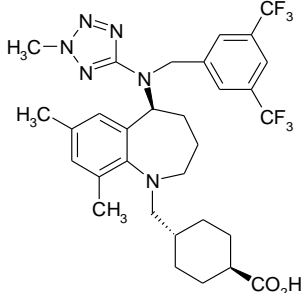
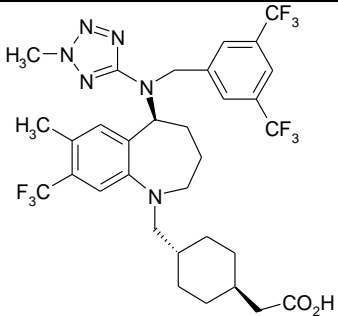
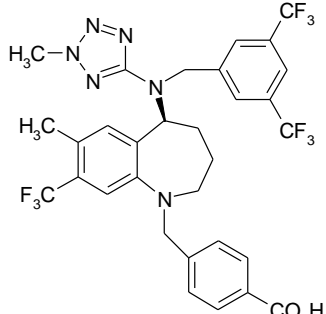
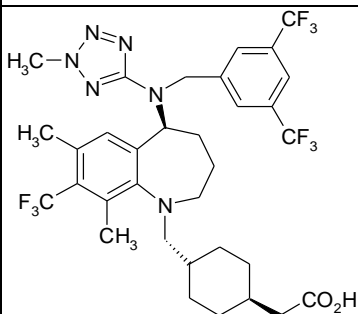
Мас-спектр (ES-API): у режимі реєстрації позитивних йонів – 639,30; у режимі реєстрації негативних йонів – 637,20.

Хімічна стійкість

Нижче у таблиці 5 подано перелік відомостей про хімічну стійкість вільної кислоти ВССА, а також зразків, одержаних за відібраними прикладами 31, 89, 153 та 175, наведеними у WO 06/002342, які нижче наведені як сполуки 13, 14, 15 та 16 відповідно. Подані нижче дані свідчать, що вільна кислота ВССА має сприятливі властивості, а саме відзначається підвищеною стійкістю у кислому водному середовищі – значно вищою, ніж у сполук 13, 14 та 16. Така підвищена стійкість вільної кислоти ВССА досі не була предметом дослідження; її також неможливо передбачити з розгляду даних WO 06/002342.

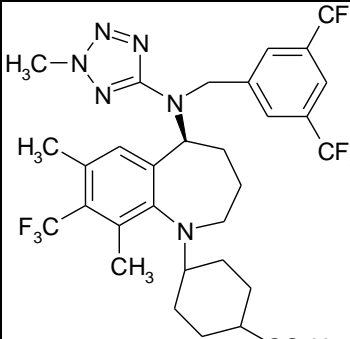
Таблиця 6

Стійкість до дії кислот

Спол.	Хімічна будова	Назва	Залишок у 0,1н НСl, 40°C†	
			8 год.	24 год.
Прикл. 1		ВССА, вільна кислота	97,3	91,3
13		(4-{5-[(3,5-біс-трифторометил-бензил)-(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-7-метил-8-трифторометил-2,3,4,5-тетрагідро-бензо[б]азепін-1-ілметил}-циклогексил)оцтова кислота	14,5	0
14		(S)-4-{5-[(3,5-біс-трифторометил-бензил)-(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-7-метил-8-трифторометил-2,3,4,5-тетрагідро-бензо[б]азепін-1-ілметил}бензен-карбонова кислота	52	13,4
15		(S)-(4-{5-[3,5-біс-трифторометил-бензил)-(2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-7,9-диметил-8-трифторометил-2,3,4,5-тетрагідро-бензо[б]азепін-1-ілметил}циклогексил)оцтова кислота	100,4	99,1

Таблиця 6

Стійкість до дії кислот

Спол.	Хімічна будова	Назва	Залишок у 0,1н HCl, 40°C†	
			8 год.	24 год.
16		(S)-4-{5-[(3,5-біс-трифторметилбензил)-2-метил-2Н-тетразол-5-іл]аміно}-7-метил-8-трифторометил-2,3,4,5-тетрагідро-бензо[б]азепін-1-іл}циклогексан-карбонова кислота	37,8	13,4*

† Відсоток речовини, яка зберігається незмінною; кожну сполуку досліджували окремо, згідно методики, наведеної безпосередньо нижче.

* Відсоток, який зберігається після контакту протягом 16 год.

Приготування проби: 1) Концентрат сполуки: 0,9 мг/мл у ACN; 2) 100 мкл концентрату + 700 мкл ACN+1 мл активного середовища (0,1н HCl, 50 ммоль/л фосфатного буферу (PO₄), pH 8, і 0,3 % H₂O₂); 3) Пробірки поміщують у нагрітий (40°C) автоматичний прилад для вводу проб, вводять проби з інтервалом у 4 год. протягом 16 год. або 24 год.

Робочі характеристики автоматичного приладу для вводу проб і умови проведення хроматографії

Колонка: Alltech Alltima Phenyl, 3 мкм, розмір 4,6×150 мм, або Waters XTerra MS C18, 3,5 мкм, розмір 4,6×150 мм; температура колонки: 50°C, об'єм впорску проби: 10 мкл. Реєстрація: УФ, 226, 254 або 266 нм (залежно від сполуки) Об'ємна витрата елюенту: 1,5 мл/хв. Рухома фаза: 0,1 % TFA у суміші 50 % води/50 % ACN (% ACN може потребувати уточнення, щоб час утримання сполуки складав ~5 хв); кінцева конц. сполуки у пробі 0,05 мг/мл; вміст ACN 44 %.

Порівняльне дослідження фармакокінетики сполук-інгібіторів CETP при внутрішньовенному (ВВ) та пероральному (ПО) надходженні на самцях щурів лінії Sprague Dawley

Це дослідження мало на меті визначення фармакокінетичних параметрів, в тому числі біодосяжності при пероральному надходженні, після введення одного внутрішньовенного болюсу (доза 1 мг/кг) або введення пероральної дози (3 мг/кг) досліджуваної сполуки до організму щурів-самців лінії Sprague Dawley (n=4) в умовах перехресного плану експерименту. Основою при внутрішньовенному введенні є 20 % мікроемulsія ПАП сольотолу (Solutol HS 15) у дистильованій воді (80 %). Основою при пероральному введенні є розчин: розчин такого складу: Повідон USP 10 % /лаурилсульфат натрію (SLS) 0,5 % /стандартизована (QS) дистильована вода. У групі тварин, які одержували дозу внутрішньовенно, забирали зразки крові у моменти часу 0,08 год., 0,25 год., 0,5 год., 1 год., 2 год., 5 год., 8 год., 12 год. та 24 год. після введення дози. У групі тварин, які одержували дозу перорально, забирали зразки крові у моменти часу 0 год., 0,25 год., 0,5 год., 1 год., 2 год., 5 год., 8 год., 12 год. та 24 год. після надходження дози. Плазму готували центрифугуванням зразків крові, охолоджували, заморожували доти, доки настане час відсилати зразки у пакунку з "сухим льодом" на біоаналітичний аналіз до лабораторії Bioanalytical Systems, Inc. (BASi; West Lafayette, шт. Індіана, США). Концентрації ВССА у плазмі визначали за даними рідинної хроматографії з тандемною мас-спектрометрією (PX/MC/MC); фармакокінетичні параметри обчислювали за допомогою атестованої для цієї мети прикладної програми (Watson, версія 7.1). При оцінюванні біодосяжності ВССА можна використовувати також і інші основи, такі як 1 % (маса/об'єм) натрієвої солі карбоксиметилцелюлози, 0,25 % (маса/об'єм) полісорбату 80 (Tween 80) та 0,05 % піногасника Dow Corning Antifoam 1510-US (0,05 % розчин у дистильованій воді) або 1 % (маса/об'єм) натрієвої солі карбоксиметилцелюлози, 0,5 % (маса/об'єм) розчин лаурилсульфат натрію і

0,05 % піногасника Dow Corning Antifoam 1510-US (0,05 % розчин у дистильованій воді) у вигляді розчину у дистильованій воді; кожну із яких можна використовувати із застосуванням ультразвукової ванни (яка сприяє розчиненню досліджуваних сполук) або без застосування такої.

- 5 Результати, подані нижче у таблиці 7, свідчать, що вільна кислота ВССА забезпечує суттєві переваги порівняно зі сполукою 15 (приклад 153 у WO 06/002342): біодосяжність ВССА вчетверо вища. Така підвищена біодосяжність досі не була предметом дослідження; її також неможливо передбачити з розгляду даних WO 06/002342.

Таблиця 7

Результати дослідження фармакокінетики (PK)

Спол. або №	C _{max} , ПО (нг/мл) ± cd	T _{max} , ПО (год.) ± cd	F, % (AUC, екстрап.) ± cd †
ВССА, вільна кислота	208±41	3,5±1,7	38±4
15	85±43	5,0±0	8±3

cd – стандартне відхилення; AUC – площа під кривою;

† доза при пероральному введенні 3 мг/кг (об'єм 2 мл/кг), доза при внутрішньовенному введенні 1 мг/кг (об'єм 1 мл/кг)

10

Тестування

Наведені нижче протоколи і результати біохімічних тестів, які свідчать про корисність і ефективність сполуки та/або способів за цим винаходом, наведені тут лише як ілюстрації і не призначені для обмеження обсягу цього винаходу.

- 15 Тест In Vitro на здатність до інгібування CETP: ТЕСТ SPA

Один із тестів у штучно створених умовах (in vitro), а саме сцинтиляційний аналіз наближення (Scintillation Proximity Assay, SPA) застосований тут для оцінювання здатності сполук за цим винаходом до інгібування переносу складних ефірів холестерину, позначених радіоізотопним індикатором, між ліпопротеїнами HDL та LDL. Цей тест дає змогу спостерігати інгібування переносу складних ефірів [³H]холестерину ([³H]cholesterol esters) від HDL (виробник – Amersham) на біотинильований LDL (Amersham), здійснюваного за посередництва джерела CETP. Джерело CETP для цього тесту може бути продукowane клітинами лінії AV-12, які були створені для експресії CETP людини. Складний ефір холестерину, позначений радіоізотопним індикатором, зазнає переносу у буферному розчині на основі HEPES-NaCl; після інкубації протягом тридцяти хвилин реакцію зупиняють, при цьому біотинильований LDL зв'язується із бісером SPA, вкритим стрептавідином та сцинтилятором (Amersham). Сигнал радіоактивного індикатора вимірюють за допомогою пристрою TopCounter виробництва Packard для реєстрації сцинтиляцій 96-лункових мікро планшетів, при цьому апертурні отвори повністю відкривають. Спадання радіоактивного сигналу LDL відносно еталонного сигналу свідчить про здатність досліджуваних сполук інгібувати дію CETP.

30 Як альтернативний варіант, у цьому тесті можуть бути застосовані інші джерела CETP, здатні виконувати роль посередника у перенесенні складного ефіру холестерину, позначеного радіоізотопним індикатором. Наприклад, джерелом CETP у цьому тесті може слугувати ендогенний CETP плазми людини, CETP миші, який здатен до експресії CETP людини, а також ендогенний CETP хом'ячка.

35 Поряд із буфером на основі HEPES-NaCl, у цьому тесті можна використовувати також і інші буферні системи – наприклад, плазма людини, плазма миші або буферний розчин на основі тріс(гідроксиметил)амінометану (Tris-buffer), збагачений альбуміном.

40 Фахівцю у цій галузі буде зрозуміло, що для спостереження активності CETP у цьому тесті можна використовувати також і інші джерела радіоактивності.

Крім того, у цьому тесті можна використовувати LDL, позначений радіоізотопним індикатором.

45 Активність ВССА як інгібітора перенесення складних ефірів холестерину, позначених радіоізотопним індикатором, між ліпопротеїнами HDL та LDL, визначена за цим тестом, наведена нижче у таблиці 8.

Тест in vivo на здатність впливати на активність CETP

Для кількісного оцінювання активності досліджуваних сполук у живому організмі (in vivo) можна використовувати сирійських золотавих хом'ячків, які експресують ендогенний CETP.

Досліджувані сполуки, розведені у носії, що складається з 79,5 % кукурудзяної олії, 20 % олеїнової кислоти та 0,5 % синтетичної олії типу Lubrafil M, вводять перорально, дозою 30 мг/кг, лінії трансгенних мишей, здатних до експресії CETP людини (CETP "жіночого" або "чоловічого" типу, а також мишей-гетерозигот Apo A1, яких одержано від Taconic, Germantown, шт. Нью-Йорк, США). У різні моменти часу, а саме у проміжку від 4 до 48 год. після надходження дози, забирають зразки крові або плазми на аналіз. Активність CETP можна визначити методом, подібним до методу оцінювання активності CETP, описаного вище для тесту *in vitro*, з тією різницею, що як джерело CETP у цьому тесті використовують плазму крові тварин, які одержали дозу препарату.

Активність BCCA *in vivo*, визначена за цим тестом, наведена нижче у таблиці 8.

Тест *in vivo* впливу на вміст ліпідів у плазмі

Активність сполук за цим винаходом *in vivo* може бути кількісно оцінена порівнянням міри підвищення рівня холестерину HDL (HDL-C) відносно контролю, яке спостерігається у особин тварин-носіїв CETP під впливом певної кількості активної сполуки. Досліджувані сполуки вводять так само, як описано вище для аналізу активності CETP *in vivo*. У різні моменти часу, а саме у проміжку від 4 год. до 48 год. після надходження дози, забирають зразки крові на аналіз. Після того як кров згорнеться, з неї центрифугуванням видобувають сироватку. Рівні вмісту холестерину HDL у сироватці можна визначити за допомогою відомих методик, із використанням HDL-C і допоміжних реагентів (виробник – Roche/Hitachi, Indianapolis, шт. Індіана, США), а також пристрою для біохімічного клінічного аналізу (виробник – Roche/Hitachi, Indianapolis, шт. Індіана, США). Вміст інших ліпідів у сироватці можна визначити методами імуноферментного аналізу. Ліпіди у складі фракцій VLDL, LDL та HDL визначають методами імуноферментного аналізу після поділу на фракції осаджувальною хроматографією або гель-фільтрацією. Приклади підвищення рівнів холестерину HDL через 8 год. після надходження дози аморфної BCCA подано нижче у таблиці 8.

Таблиця 8

Спол. або №	CETP людини у плазмі, CEBODIP CEC (RWS)	Інгіб. CETP, % (через 8 год.)†	Підвищення рівня вмісту холестерину HDL, % (через 8 год.)†
BCCA	26	98,6	129,7

79,5 % кукурудзяної олії, 20 % олеїнової кислоти та 0,5 % синтетичної олії типу Lubrafil M, доза 30 мг/кг, миші з CETP "жіночого" або "чоловічого" типу, а також миші-гетерозиготи Apo A1 (Taconic).

Метод лікування

У контексті цього опису термін "ефективна кількість" означає кількість сполуки за цим винаходом, наприклад, аморфної BCCA, сольвату BCCA або сольвату солі BCCA та/або кристалічну форму гідрату BCCA, або їх комбінації, здатної полегшувати симптоми різних патологічних станів, пов'язаних із перебігом серцево-судинних захворювань. Приклади серцево-судинних захворювань охоплюють (без обмеження): коронарна хвороба, інсульт, артеросклероз, дисліпідемія, низький вміст ліпопротеїнів високої густини (HDL), гіперхолестеринемія, а також захворювання периферійних судин.

Конкретна доза тієї чи іншої сполуки, яку слід застосовувати відповідно до цього винаходу, визначатиметься конкретними умовами, які стосуються хворого або хвороби, в тому числі, наприклад (але без обмеження ними), сполука, що застосовується, шлях введення, стан хворого та патологічний стан, який підлягає лікуванню за призначенням лікаря-терапевта. Типова добова доза сполуки за цим винаходом становитиме від приблизно 10 мг/доба до приблизно 750 мг/доба. Перевагу віддають добовій дозі, яка становитиме від приблизно 30 мг/доба до приблизно 600 мг/доба, а ще більшу перевагу віддають дозі – від приблизно 50 мг/доба до приблизно 300 мг/доба.

Сполуки за цим винаходом можуть бути введені до організму різноманітними шляхами. За варіантом, якому віддається перевага, сполуки за цим винаходом вводять до складу таблеток, вмісту твердих або желатинових капсул, порошків, розчинів або суспензій.

Фармацевтичні композиції за цим винаходом можуть бути виготовлені за методиками, відовими фахівцям у галузі, використовуючи добре відомі і легко доступні інгредієнти. Термін "фармацевтично прийнятний" у контексті цього документу стосується одного або більшої кількості носіїв, розріджувачів, наповнювачів та солей, сумісних із іншими інгредієнтами композиції і не шкідливих для особи або особини, яка вживає рецептуру. Фармацевтичні композиції і технологія їх виготовлення добре відомі у галузі та приклади можна знайти у

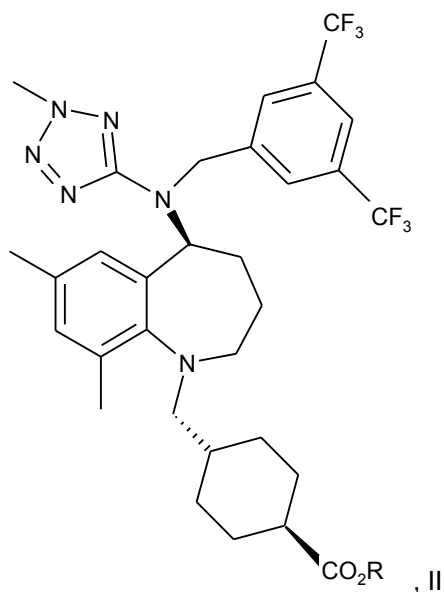
Remington, "The Science and Practice of Pharmacy" (Теоретичні засади і практика фармації) (A. Gennaro, et al. eds. 19th ed. Mack Publishing Co.). Необмежувальними прикладами фармацевтично прийнятних носіїв, наповнювачів або розріджувачів, прийнятних для таких композицій, є крахмал, цукристі речовини, маніт, похідні кремнезему; в'язучі речовини, такі як карбоксиметилцелюлоза та інші похідні целюлози, альгінати, желатин та полівінілпіролідон; зволожувачі, такі як гліцерин; розпушувачі, такі як карбонат кальцію та бікарбонат натрію; сполуки, що уповільнюють розчинення, такі як парафін; прискорювачі резорбції, такі як сполуки четвертинного амонію; поверхнево-активні речовини, такі як цетиловий спирт та моностеарат гліцерину; адсорбенти-носії, такі як каолін, бентоніт тощо, а також змащувальні речовини, такі як тальк, стеарати кальцію і магнію, тверді поліетилгліколи тощо. За одним з варіантів здійснення цього винаходу фармацевтична композиція містить маніт, лаурилсульфат натрію, колоїдний диоксид кремнію, натрію крос-карбоксиметилцелюлоза (крос-кармелоза), мікрокристалічна целюлоза і стеарат магнію, і може містити як лікарський засіб, ВССА, вільну кислоту ВССА, гідрат ВССА або кристалічну форму гідрату ВССА, у масовій кількості від приблизно 2 % до приблизно 21 %.

Отже, іншим аспектом цього винаходу є фармацевтично прийнятна сіль сполуки за цим винаходом. Приклади фармацевтично прийнятних солей можна знайти у роботах S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts" ("Соли у фармації") J. Phar. Sci., 66: 1-19 (1977) і "A Handbook of Pharmaceutical Salts Properties, Selection, and Use" ("Соли у фармації – властивості, асортимент, критерії добору і застосування"), Wermuth C.G. and Stahl P.H. (eds.) Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002, які включені в цей опис шляхом посилання.

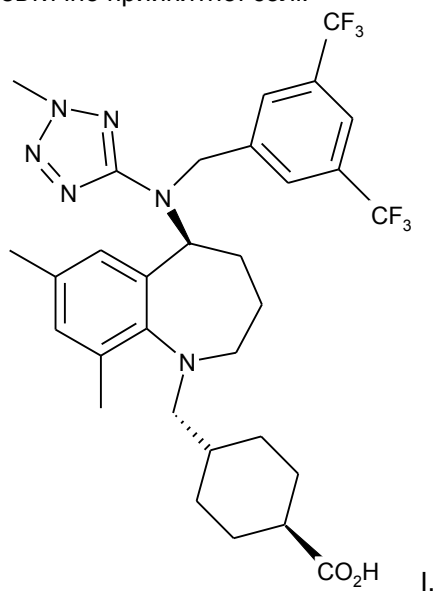
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука, яка являє собою транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту, або гідрат чи фармацевтично прийнятна сіль згаданої сполуки.
2. Сполука за п. 1, яка являє собою гідрат транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти.
3. Сполука, яка являє собою кристалічну форму гідрату транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма, одержана із застосуванням джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), що включає такі піки:
 а) при 2θ 7,5, 9,2, 10,7 та $15,5\pm0,2$; або
 б) при 2θ 7,5, 9,2, 10,7, 13,8, 15,0, 15,5 та $19,5\pm0,2$; або
 с) при 2θ 7,5, 9,2, 10,7, 13,8, 11,3, 15,0, 15,5, 17,7, 19,5 та $25,1\pm0,2$.
4. Сполука, яка являє собою кристалічну форму гідрату транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти, яку характеризує спектр ЯМР у твердому стані, який включає такі піки відносно адамантану ($\delta=29,5 \text{ млн}^{-1}$):
 а) 175,6, 168,0, 61,1, 21,2 та $18,3\pm0,2 \text{ млн}^{-1}$; або
 б) 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 61,1, 45,0, 21,2 та $18,3\pm0,2 \text{ млн}^{-1}$; або
 с) 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 139,9, 136,3, 61,1, 53,0, 49,8, 45,0, 21,2 та $18,2\pm0,2 \text{ млн}^{-1}$.
5. Сполука, яка являє собою транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту, або фармацевтично прийнятна сіль згаданої сполуки.
6. Композиція, яка містить транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту або її фармацевтично прийнятну сіль та молекулу для утворення сольвату, вибрану з-посеред води, метанолу, етанолу, ізопропанолу, мурашиної кислоти або оцтової кислоти.
7. Композиція за п. 6, яка **відрізняється** тим, що транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонова кислота або її фармацевтично прийнятна сіль та згадана молекула для утворення сольвату містяться у молярному співвідношенні від приблизно 1:0,3 до приблизно 1:1 \pm 0,2 (кислота або сіль:молекула для утворення сольвату).

8. Сполука, яка являє собою транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту у вигляді кристалічної форми напівсольвату з етанолом напівсолі з трет-бутиламином, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма, одержана із застосуванням джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки:
- а) при 2θ 5,5, 9,0, 14,3, 22,0 та $22,5\pm 0,2$; або
 - б) при 2θ 5,5, 9,0, 14,3, 17,5, 18,2, 19,4, 20,6, 22,0 та $22,5\pm 0,2$; або
 - в) при 2θ 5,5, 9,0, 13,2, 13,6, 14,3, 15,2, 17,5, 18,2, 19,4, 19,8, 20,6, 22,0 та $22,5\pm 0,2$.
9. Сполука, яка являє собою транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту у вигляді кристалічної форми сольвату з мурашиною кислотою, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма, одержана із застосуванням джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки:
- а) при 2θ 15,4, 16,9, 18,2 та $18,6\pm 0,2$; або
 - б) при 2θ 15,4, 15,7, 16,9, 18,2, 18,6, 19,5, 22,8, (25,7 та 25,5) $\pm 0,2$; або
 - в) при 2θ 13,0, 13,9, 15,4, 15,7, 16,9, 16,4, 18,2, 18,6, 19,5, 20,8, 22,8, (25,7 та 25,5) $\pm 0,2$.
10. Сполука, яка являє собою транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту у вигляді кристалічної форми сольвату з оцтовою кислотою, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма, одержана із застосуванням джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки:
- а) при 2θ 12,9, 15,1, 18,4, 19,4 та $20,8\pm 0,2$; або
 - б) при 2θ 12,9, 13,8, 15,1, 16,4, 17,8, 18,4, 19,4, 20,1 та $20,8\pm 0,2$; або
 - в) при 2θ 11,0, 12,9, 13,8, 15,1, 15,6, 16,4, 17,8, 18,4, 19,4, 20,1, 20,8 та $21,7\pm 0,2$.
11. Сполука, яка являє собою транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонову кислоту у вигляді кристалічної форми сольвату з етанолом солі з трет-бутиламином, яку характеризує порошкова рентгенодифрактограма, одержана із застосуванням джерела $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), яка включає такі піки:
- а) при 2θ 5,6, 11,3, 12,6 та $17,9\pm 0,2$; або
 - б) при 2θ 5,6, 8,0, 11,3, 12,6, 17,9, 20,4 та $24,1\pm 0,2$.
12. Сполука за п. 1, фармацевтично прийнятна сіль якої утворена із катіоном, вибраним з-поміж катіонів натрію, калію, магнію, кальцію, цинку або трет-бутиламонію.
13. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку за будь-яким із пп. 1-5 та пп. 10-12, а також щонайменше один із фармацевтично прийнятних носія, наповнювача або розріджувача.
14. Застосування сполуки за будь-яким із пп. 1-5 та пп. 10-12 для виготовлення лікарського засобу для лікування дисліпідемії.
15. Застосування сполуки за будь-яким із пп. 1-5 та пп. 10-12 для виготовлення лікарського засобу для лікування атеросклерозу.
16. Спосіб синтезу транс-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-біс(трифторометил)феніл]метил](2-метил-2Н-тетразол-5-іл)аміно]-2,3,4,5-тетрагідро-7,9-диметил-1Н-1-бензоазепін-1-іл]метил]циклогексанкарбонової кислоти або її фармацевтично прийнятної солі, в якому здійснюють деестерифікацію сполуки формули II:

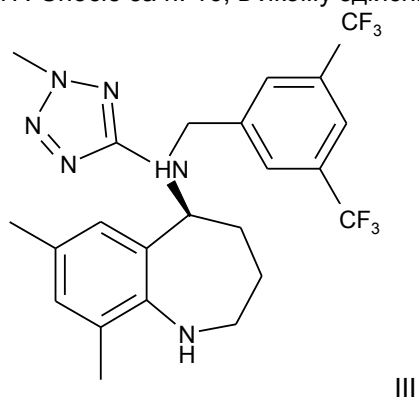


де R вибирають з групи, яку складають C_{1-4} -алкіл, C_{1-4} -галогеноалкіл, C_{3-6} -циклоалкіл, C_{1-4} -алкіл- C_{3-6} -циклоалкіл, феніл та C_{1-5} -алкілфеніл, із одержанням сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі:

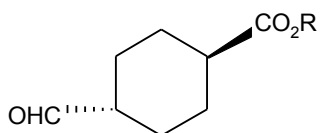


5

17. Спосіб за п. 16, в якому здійснюють конденсацію сполуки формули III

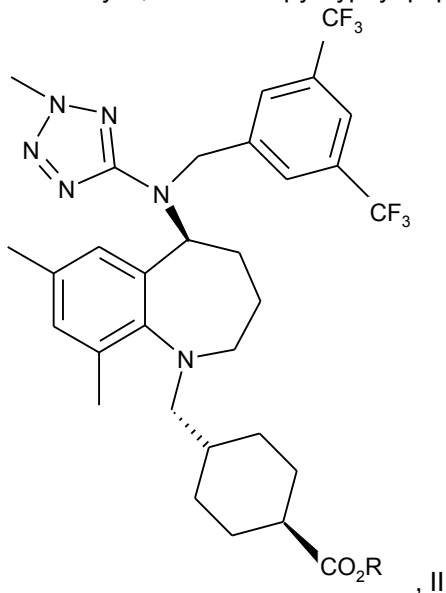


зі сполукою



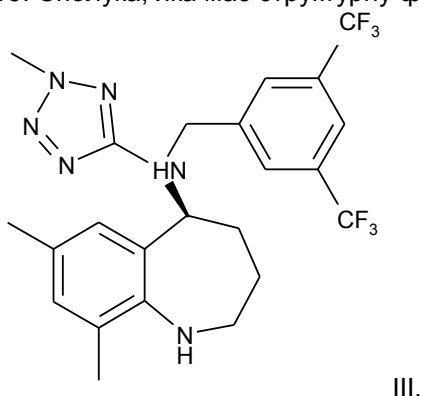
, з одержанням сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі.

18. Сполука, яка має структурну формулу:



5 де R вибирають з групи, яку складають C₁₋₄-алкіл, C₁₋₄-галогеноалкіл, C₃₋₆-циклоалкіл, C₁₋₄-алкіл-C₃₋₆-циклоалкіл, феніл та C₁₋₅-алкілфеніл.

19. Сполука, яка має структурну формулу



III.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601