

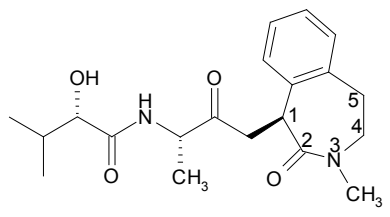


УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77165** (13) **C2**
(51) **МПК****A61K 31/55** (2006.01)**A61P 25/28** (2006.01)**A61P 43/00** (2006.01)**C07D 223/00** (2006.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**(54) ДИГІДРАТ (N)-((S)-2-ГІДРОКСИ-3-МЕТИЛБУТИРИЛ)-1-(L-АЛАНІНІЛ)-(S)-1-АМІНО-3-МЕТИЛ-2,3,4,5-ТЕТРАГІДРО-1Н-3-БЕНЗАЗЕПІН-2-ОНУ, СПОСІБ ЙОГО ОДЕРЖАННЯ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ НА ЙОГО ОСНОВІ**

1

- (21) 2003054406
(22) 02.11.2001
(24) 15.11.2006
(86) PCT/US01/27795, 02.11.2001
(31) 60/249,656
(32) 17.11.2000
(33) US
(46) 15.11.2006, Бюл. № 11, 2006 р.
(72) Кьоніг Томас Мітчелл, US, Одіа Джеймс Едмунд, US, Мітчелл Дейвід, US, Макденіел Стейсі Л., US, Буччіллі Лінн Енн, US, Інджел Гарі Лоуелл, US, Ейкінз Джеймз Ейбрахам, US
(73) ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ, US
(56) WO, 98/28268, A1, 1998
WO, 01/34571, A1, 2001
WO, 99/67219, A1, 1999
XP002047919, REIFFEN M; ET AL, JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. Vol.33, Nr.5, P. 1496-1504
(57) 1. Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону



дигідрат.

2. Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону за п. 1, який додатково характеризується порошковою рентгенодифрактограмою, яка включає пік при 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 або 20,63 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
3. Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону за п. 1, який додатково характеризується порошковою

2

рентгенодифрактограмою, яка включає піки при 8,36 та 15,34 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).

4. Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону за п. 1, який додатково характеризується порошковою рентгенодифрактограмою, яка включає піки при 8,36 та 12,43 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).

5. Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону за п. 1, який додатково характеризується порошковою рентгенодифрактограмою, яка включає піки при 8,36, 12,43 та 15,34 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).

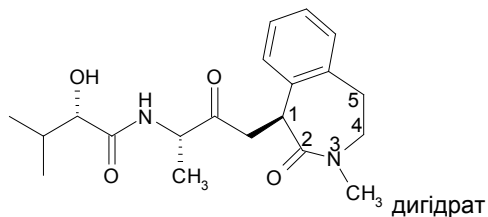
6. Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону за п. 1, який додатково характеризується порошковою рентгенодифрактограмою, яка включає піки при 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 та 20,63 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).

7. Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону за п. 2, який додатково характеризується спектром ядерного магнітного резонансу ^{13}C у твердому стані, який включає значення хімічних зсувів (у млн^{-1}) 75,6, 35,3, 21,4 або 16,6.

8. Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону за п. 2, який додатково характеризується спектром ядерного магнітного резонансу ^{13}C у твердому стані, який включає значення хімічних зсувів (у млн^{-1}) 75,6, 35,3, 21,4 та 16,6.

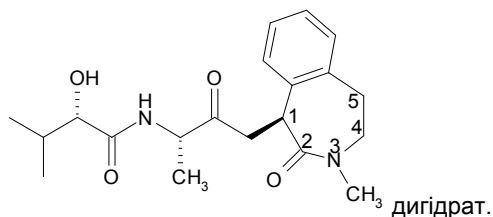
9. Фармацевтична композиція, яка містить дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону

(13) **C2**(11) **77165**(19) **UA**

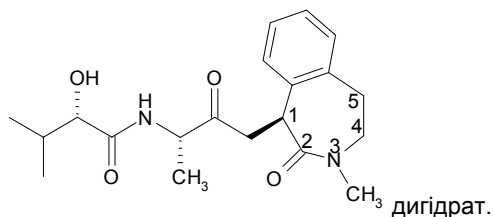


та фармацевтично прийнятний розріджувач.

10. Спосіб інгібування вивільнення β -амілоїдного пептиду та/або його синтезу, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такого інгібування, ефективної кількості дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону

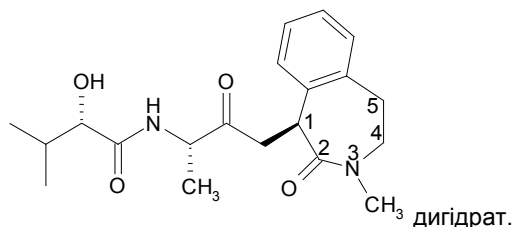


11. Спосіб лікування хвороби Альцгеймера, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такого лікування, ефективної кількості дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону



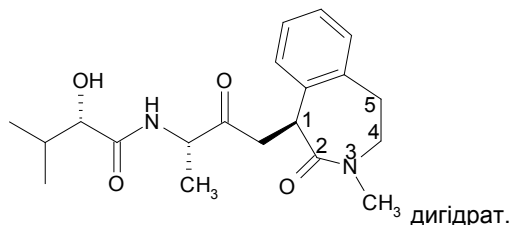
12. Спосіб лікування хвороби Альцгеймера, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такого лікування, ефективної кількості дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону за будь-яким із пп. 2, 3, 4, 5, 6 або 7.

13. Спосіб профілактики хвороби Альцгеймера, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такої профілактики, ефективної кількості дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону



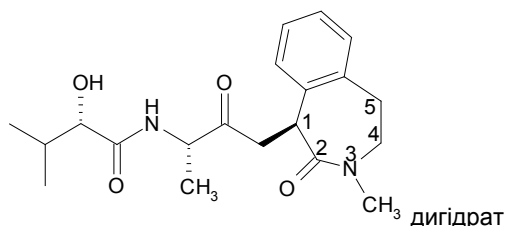
14. Спосіб профілактики хвороби Альцгеймера, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такої профілактики, ефективної кількості дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону за будь-яким із пп. 2, 3, 4, 5, 6 або 7.

15. Спосіб інгібування розвитку хвороби Альцгеймера, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такого інгібування, ефективної кількості кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону



16. Спосіб інгібування розвитку хвороби Альцгеймера, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такого інгібування, ефективної кількості дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону за будь-яким із пп. 2, 3, 4, 5, 6 або 7.

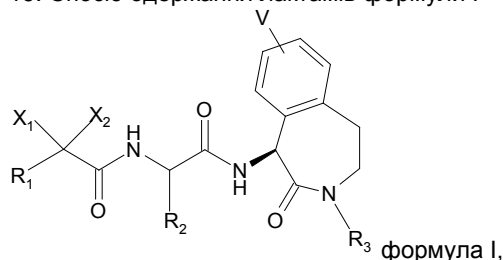
17. Спосіб одержання кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, що додатково характеризується порошковою рентгенодифрактограмою, яка включає піки при 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 або 20,63 ($2\theta \pm 0,2^\circ$), який включає кристалізацію (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону



з водного розчинника.

18. Спосіб за п. 17, де згаданий водний розчинник містить ацетон та воду.

19. Спосіб одержання лактамів формули I



де

R_1 є алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, циклоалкеніл, заміщений алкіл, заміщений алкеніл, заміщений алкініл, заміщений циклоалкіл, заміщений циклоалкеніл, арил, гетероарил і гетероциклі;

R_2 є алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, арил, гетероарил і гетероциклі;

R_3 є алкіл;

X_1 є водень, гідроксил або фтор;

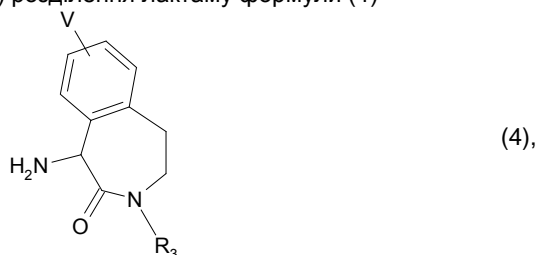
X_2 є водень, гідроксил або фтор, або

X_1 і X_2 спільно утворюють оксогрупу; і

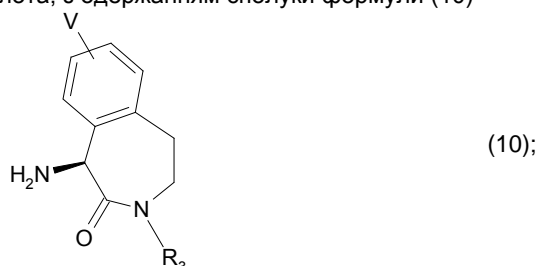
V є від 1 до 3 груп, вибраних незалежно одна від одної із групи, до якої входять водень, гідроксил, ацил, ацилосигрупа, алкіл, заміщений алкіл, алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, аміногрупа, аміноацил, алкаріл, арил, арилоксигрупа, карбоксил, карбоксилалкіл, ціан, галоїд, нітрогрупа, гетероарил, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа та тригалоїдметил;

який включає:

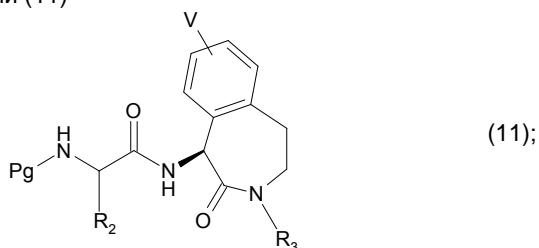
(a1) розділення лактаму формули (4)



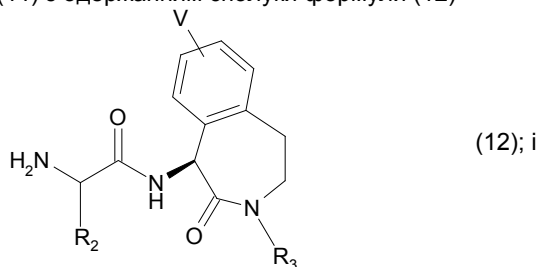
де R₃ та V відповідають визначенням, поданим при описі сполуки формули I, шляхом кристалізації його солі з кислотою, вибраною із групи, до якої входять ди-*п*-толіл-*L*-винна кислота, (R)-(-)-10-камфорасульфенова кислота і (D)-(-)-мигдалева кислота, з одержанням сполуки формули (10)



(b) сполучення сполуки формули (10) із придатною амінокислотою із захищеною аміногрупою формули PgNH-CHR₂-C(O)-A, де R₂ відповідає визначенню, поданому при описі сполуки формули I, а A є активуюча група, наприклад, -OH, -Br або -Cl, і Pg є група захисту аміну, з одержанням сполуки формули (11)



(c) відщеплення групи захисту від сполуки формули (11) з одержанням сполуки формули (12)



(d) сполучення сполуки формули (12) із відповідною сполукою формули R₁CX₁X₂-C(O)A₁, де R₁, X₁

і X₂ відповідають визначенням, поданим при описі сполуки формули I, і A₁ є активуюча група, наприклад, -OH, -Br або -Cl; або

(a2) сполучення сполуки формули (10) зі сполукою формули

R₁CX₁X₂-C(O)NH-CHR₂-C(O)-A, де R₁, R₂, X₁ і X₂ відповідають визначенням, поданим при описі сполуки формули I, і A є активуюча група, наприклад,

-OH, -Br або -Cl.

20. Спосіб за п. 19, де V є водень і R₃ є нижчий алкіл.

21. Спосіб за п. 19, де згадана сіль є сіллю з кислотою, вибраною із групи, до якої входять ди-*п*-толіл-*L*-винна кислота, (R)-(-)-10-камфорасульфенова кислота і (D)-(-)-мигдалева кислота.

22. Спосіб за п. 21, де згаданою кислотою є ди-*п*-толіл-*L*-винна кислота.

23. Спосіб за п. 21, де згаданою кислотою є (D)-(-)-мигдалева кислота.

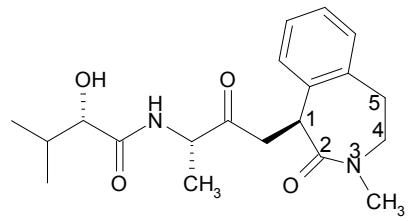
24. Спосіб за п. 21, де згаданою кислотою є (R)-(-)-10-камфорасульфенова кислота.

25. Спосіб за будь-яким із пп. 17, 18, 19, 20 або 21, де процес проводять у присутності альдегіду.

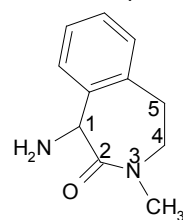
26. Спосіб за п. 25, де згаданим альдегідом є саліциловий альдегід.

27. Спосіб за п. 26, де згаданий саліциловий альдегід вибраний із групи, до якої входять саліциловий альдегід, 5-нітросаліциловий альдегід та 3,5-дихлорсаліциловий альдегід.

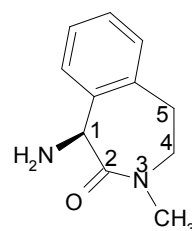
28. Спосіб одержання (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(*L*-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону



який включає: кристалізацію 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону

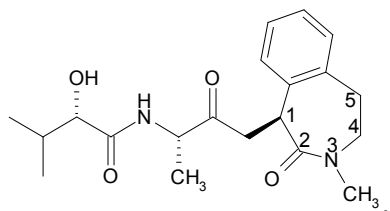


у формі солі з кислотою, вибраною із групи, до якої входять ди-*п*-толіл-*L*-винна кислота, (R)-(-)-10-камфорасульфенова кислота і (D)-(-)-мигдалева кислота; сполучення (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону

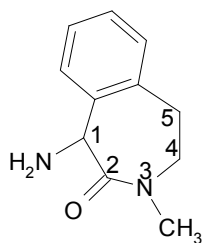


із залишком L-аланіну із захищеною аміногрупою з одержанням захищеного по аміногрупі 1-(L-аланініл)-(S)-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону; відщеплення групи захисту з одержанням 1-(L-аланініл)-(S)-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону; і сполучення його з (S)-2-гідрокси-3-метилмасляною кислотою.

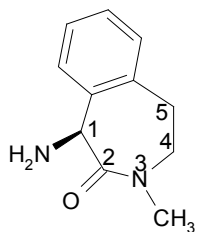
29. Спосіб одержання (N)-((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону



який включає: кристалізацію 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону

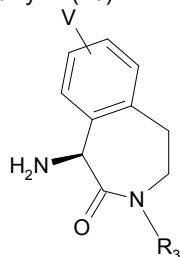


у формі солі з кислотою, вибраною із групи, до якої входять ди-*p*-толіл-L-винна кислота, (R)-(-)-10-камфорасульфенова кислота і (D)-(-)-мигдалева кислота; сполучення (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону



із залишком, який являє собою ((S)-2-гідрокси-3-метилбутирил)-1-(L-аланініл).

30. Спосіб одержання практично чистих лактамів формули (10)



(10),

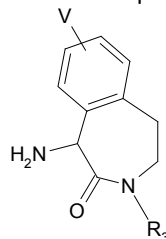
де

R_3 є алкіл і

V є від 1 до 3 груп, вибраних незалежно одна від одної із групи, до якої входять водень, гідроксил, ацил, ацилоксигрупа, алкіл, заміщений алкіл, алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, аміногрупа, аміноацил, алкаріл, арил, арилоксигрупа, карбоксил, карбоксилалкіл, ціан, галоїд, нітрогру-

па, гетероарил, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа та тригалоїдметил;

який включає: кристалізацію сполуки формули (4)



(4),

з одержанням сполуки формули (10) у формі її солі з кислотою, вибраною із групи, до якої входять ди-*p*-толіл-L-винна кислота, (R)-(-)-10-камфорасульфенова кислота і (D)-(-)-мигдалева кислота.

31. Спосіб за п. 30, де V є водень і R_3 є нижчий алкіл.

32. Спосіб за п. 30, де згадана сіль є сіллю з кислотою, вибраною із групи, до якої входять ди-*p*-толіл-L-винна кислота, (R)-(-)-10-камфорасульфенова кислота і (D)-(-)-мигдалева кислота.

33. Спосіб за п. 32, де згаданою кислотою є ди-*p*-толіл-L-винна кислота.

34. Спосіб за п. 32, де згаданою кислотою є (D)-(-)-мигдалева кислота.

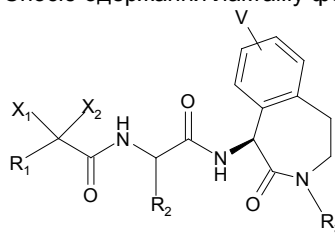
35. Спосіб за п. 32, де згаданою кислотою є (R)-(-)-10-камфорасульфенова кислота.

36. Спосіб за будь-яким із пп. 29, 30, 31 або 32, де процес проводять у присутності альдегіду.

37. Спосіб за п. 36, де згаданим альдегідом є саліциловий альдегід.

38. Спосіб за п. 37, де згаданий саліциловий альдегід вибраний із групи, до якої входять саліциловий альдегід, 5-нітросаліциловий альдегід та 3,5-дихлорсаліциловий альдегід.

39. Спосіб одержання лактаму формули I



формула I,

де

R_1 є алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, циклоалкеніл, заміщений алкіл, заміщений алкеніл, заміщений алкініл, заміщений циклоалкіл, заміщений циклоалкеніл, арил, гетероарил і гетероциклі;

R_2 є алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, арил, гетероарил і гетероциклі;

R_3 є алкіл;

X_1 є водень, гідроксил або фтор;

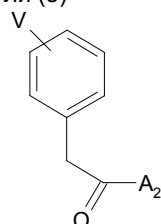
X_2 є водень, гідроксил або фтор, або

X_1 і X_2 спільно утворюють оксогрупу; і

V є від 1 до 3 груп, вибраних незалежно одна від одної із групи, до якої входять водень, гідроксил, ацил, ацилоксигрупа, алкіл, заміщений алкіл, алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, аміногрупа, аміноацил, алкаріл, арил, арилоксигрупа, карбоксил, карбоксилалкіл, ціан, галоїд, нітрогру-

па, гетероарил, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа та тригалоїдметил; який включає:

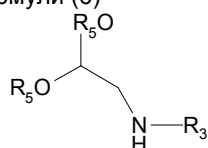
а) сполучення похідної фенілоцтової кислоти формули (5)



(5),

де

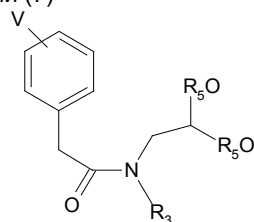
V відповідає визначенню, поданому при описі сполуки формули I, а A₂ є активуюча група, вибрана із групи, до якої входять -OH, -Cl або -Br, з ацеталем формули (6)



(6),

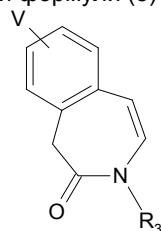
де

R₃ має значення, яке бажано одержати у формулі I, і R₅ є C₁-C₄-алкіл, з одержанням сполуки формули (7)



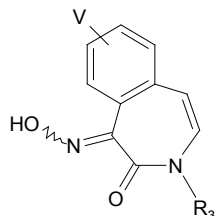
(7);

б) циклізацію сполуки формули (7) у кислоті, вибраній із групи, до якої входять сірчана кислота і трифторметансульфо кислота, з одержанням сполуки формули (8)



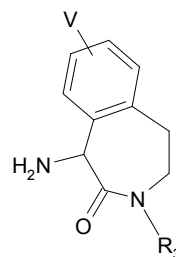
(8);

с) проведення реакції утворення оксиму зі сполукою формули (8) з одержанням сполуки формули (9)



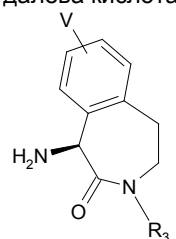
(9);

д) відновлення сполуки формули (9) з одержанням сполуки формули (4)



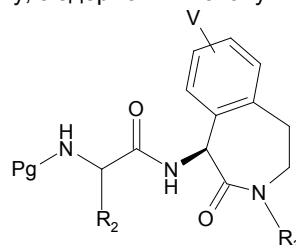
(4);

е) розділення лактаму формули (4) шляхом фракційної кристалізації з одержанням сполуки формули (10) у формі її солі з кислотою, вибраною із групи, до якої входять ди-*л*-толіл-*L*-винна кислота, (R)-(-)-10-камфорасульфонова кислота і (D)-(-)-мигдалева кислота



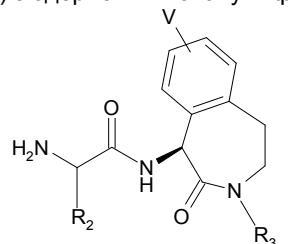
(10);

ф) сполучення із придатною амінокислотою із захищеною аміногрупою формули PgNH-CH(R₂)-C(O)-A, де R₂ відповідає визначенню, поданому при описі сполуки формули I, а A є активуюча група, наприклад, -OH, -Br або -Cl, і Pg є група захисту аміну, з одержанням сполуки формули (11)



(11);

г) відщеплення групи захисту від сполуки формули (11) з одержанням сполуки формули (12)



(12); i

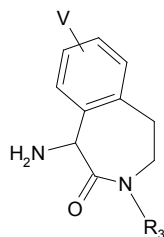
h) сполучення сполуки формули (12) із придатною сполукою формули R₁CX₁X₂-C(O)A₁, де R₁, X₁ і X₂ відповідають визначенням, поданим при описі сполуки формули I, і A₁ є активуюча група, наприклад, -OH, -Br або -Cl; або

i) сполучення сполуки формули (10) зі сполукою формули

R₁CX₁X₂-C(O)NH-CH(R₂)-C(O)-A, де R₁, R₂, X₁ і X₂ відповідають визначенням, поданим при описі сполуки формули I, і A є активуюча група, наприклад, -OH, -Br або -Cl.

40. Спосіб одержання лактаму формули (4)

11



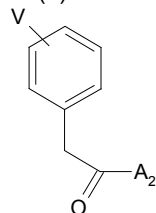
де

R₃ є алкіл; і

V є від 1 до 3 груп, вибраних незалежно одна від одної із групи, до якої входять водень, гідроксил, ацил, ацилоксигрупа, алкіл, заміщений алкіл, алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, аміногрупа, аміноацил, алкаріл, арил, арилоксигрупа, карбоксил, карбоксилалкіл, ціан, галоїд, нітрогрупа, гетероарил, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа та тригалоїдметил;

який включає:

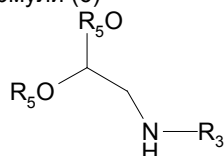
а) сполучення похідної фенілоцтової кислоти формули (5)



(5),

де

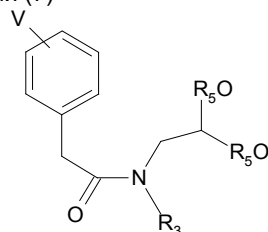
V відповідає визначенню, поданому при описі сполуки формули I, а A₂ є активуюча група, вибрана із групи, до якої входять -OH, -Cl або -Br, з ацеталем формули (6)



(6),

де

R₃ має значення, яке бажано одержати у формулі I, і R₅ є C₁-C₄-алкіл, з одержанням сполуки формули (7)

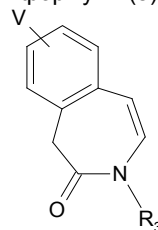


(7);

77165

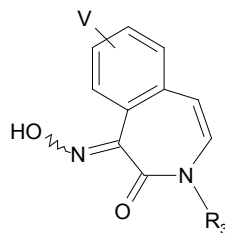
12

b) циклізацію сполуки формули (7) у кислоті, вибраній із групи, до якої входять сірчана кислота і трифторметансульфо кислота, з одержанням сполуки формули (8)



(8);

с) проведення реакції утворення оксиму зі сполукою формули (8) з одержанням сполуки формули (9)



(9);

d) відновлення сполуки формули (9).

41. Сполука за будь-яким із пп. 1-8 для застосування як лікарського засобу.

42. Сполука за будь-яким із пп. 1-8 для застосування при лікуванні хвороби Альцгеймера.

43. Сполука за будь-яким із пп. 1-8 для застосування при профілактиці хвороби Альцгеймера.

44. Сполука за будь-яким із пп. 1-8 для застосування при інгібуванні виділення β-амілоїдного пептиду та/або його синтезу.

45. Сполука за будь-яким із пп. 1-8 для застосування при інгібуванні розвитку хвороби Альцгеймера.

46. Застосування сполуки за будь-яким із пп. 1-8 для виготовлення лікарського засобу для інгібування виділення β-амілоїдного пептиду та/або його синтезу, в тому числі для лікування хвороби Альцгеймера.

47. Застосування сполуки за будь-яким із пп. 1-7 для виготовлення лікарського засобу для профілактики хвороби Альцгеймера та/або для інгібування розвитку хвороби Альцгеймера.

Цей винахід належить до галузі фармацевтичної та органічної хімії і стосується сполуки, яка інгібує вивільнення β-амілоїдного пептиду та/або його синтез.

Певні лактами, які інгібують вивільнення β-амілоїдного пептиду та/або його синтез і, відповідно, є корисними для лікування хвороби Альцгей-

мера, описані в патентній заявці PCT/US97/22986.

Цей винахід пропонує новий кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, його композиції, способи його застосування та способи його одержання, а також способи одержання проміжних продуктів для

нього. Кристалічний дигідрат згідно з цим винаходом є корисним для інгібування вивільнення β -амілоїдного пептиду та/або його синтезу і, відповідно, є корисним при лікуванні хвороби Альцгеймера.

Оскільки (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он є корисним при лікуванні хвороби Альцгеймера, існує потреба у виготовленні його в чистій стабільній кристалічній формі з метою задоволення суворих фармацевтичних вимог та технічних умов. Новий кристалічний дигідрат згідно з цим винаходом має властивості, придатні для зручного виготовлення лікарських форм у промислових масштабах у вигляді, наприклад, таблеток для перорального застосування.

Існує також потреба в способі виготовлення (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, який був би придатним для реалізації у промислових умовах. Крім того, згаданий продукт має бути одержаний у формі, яка легко піддається фільтруванню та сушінню і є зручною для зберігання. Кристалічний дигідрат згідно з цим винаходом, крім того, має властивості, сприятливі з точки зору переробки та зберігання.

Виявлено, що (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он може бути одержаний у формі дигідрату, яка має сприятливі властивості, і спосіб виготовлення цієї нової форми відповідає бажаним характеристикам, вказаним вище.

Цей винахід пропонує дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону.

Згідно з іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує фармацевтичну композицію, яка містить дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону та фармацевтично прийнятний розріджувач.

Згідно з одним із аспектів щодо способів, цей винахід стосується способу інгібування вивільнення β -амілоїдного пептиду та/або його синтезу, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такого інгібування, ефективної кількості дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону. Згідно з конкретним варіантом здійснення цього способу, цей винахід пропонує спосіб лікування хвороби Альцгеймера, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такого лікування, ефективної кількості дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону. Цей винахід пропонує також спосіб профілактики або інгібування розвитку хвороби Альцгеймера, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такої профілактики або інгібування, ефективної кількості дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону.

Таким чином, цей винахід передбачає засто-

сування дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону при виготовленні лікарського засобу для інгібування вивільнення β -амілоїдного пептиду та/або його синтезу, в тому числі для лікування хвороби Альцгеймера.

Згідно з іншим варіантом, цей винахід пропонує спосіб одержання дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону.

Згідно з ще одним варіантом, цей винахід пропонує спосіб одержання лактамів, в тому числі (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, та способи одержання проміжних продуктів для лактамів.

Терміни, вживані в цьому описі, мають значення, вказані нижче.

Термін "еє", або "енантімерний надлишок", стосується надлишку процентного вмісту одного енантіомера, E_1 , в суміші обох енантіомерів ($E_1 + E_2$), обчисленого за рівнянням $((E_1 - E_2) / (E_1 + E_2)) \times 100 = \text{еє}$. Як добре відомо в практиці, енантімерний надлишок можна визначити методом капілярного електрофорезу та рідинної хроматографії високої ефективності (PXBE) згаданих сполук або їхніх похідних на хіральній нерухомій фазі.

В цьому описі для позначення стереохімічної конфігурації окремих ізомерів застосовано позначення (R)- та (S)- за Каном-Прелогом-Інгольдом (Cahn-Prelog-Inhold) та символи L- і D-.

Цей винахід пропонує дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону і, зокрема, кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону.

Існують численні методи визначення характеристик кристалічних форм органічних сполук. До таких способів належать, наприклад, диференційна сканувальна калориметрія, ЯМР-спектроскопія у твердому стані, інфрачервона спектроскопія та порошкова рентгенографія. Серед цих методів особливо корисними для ідентифікації та розрізнення кристалічних форм є порошкова рентгенографія та ЯМР-спектроскопія у твердому стані.

Структурний аналіз методом порошкової рентгенодифрактографії виконували, як описано нижче. Пробу неподрібненої або злегка подрібненої в агатовій ступці агатовим товкачиком речовини завантажували в тримач проби для вимірювання дифракції рентгенівського проміння на порошок. Порошкові рентгенограми знімали на порошковому дифрактометрі D5000 фірми "Сіменс" (Siemens), обладнаному джерелом випромінювання CuK_α ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$), яке працювало при 50кВ і 40мА, застосовуючи ширину вихідної щілини 1мм, ширину приймальної щілини 1мм і ширину щілини детектора 0,1мм. Кожну пробу сканували в межах кута 2θ від 4° до 35° із кроком $0,02^\circ$ і максимальною швидкістю сканування 3с/крок. Дані збирали, використовуючи твердотільний кремнієво-літєвий детектор "Кевекс" (Kevex). Для перевірки настройки

приладу найкращим способом є проведення вимірювання звичайним способом із застосуванням кремнієвого стандарту.

У практиці кристалографії добре відомо, що значення відносної інтенсивності та ширини дифракційних піків для даної кристалічної форми можуть дещо змінюватися під впливом численних факторів, в тому числі ефектів переважної орієнтації та/або розміру частинок. В разі присутності ефектів переважної орієнтації та/або розміру частинок значення інтенсивності піків можуть змінюватися, але положення піків, характерні для певної поліморфної модифікації, залишаються незмінними. Дивись, наприклад, [The United States Pharmacopoeia #24, National Formulary #19, pp.1843-1844, 2000].

Для мінімізації варіацій інтенсивності деяких піків на представленій у цьому описі дифрактограмі застосовували подрібнення. Проте в разі, якщо подрібнення викликає значні зміни дифрактограми або спричиняє зміну кристалічного стану проби, то слід використовувати дифрактограму неподрібне-

ної проби. Подрібнення виконували в невеликій агатовій ступці агатовим товкачиком. При подрібненні ступку притримували, а до товкачика прикладали незначний натиск.

Одержували характеристики положення піків (значення 2θ) і вимірювали інтенсивність найбільш характерних рефлексів (відносні інтенсивності понад 20%), застосовуючи метод ідентифікації піків за другою похідною.

Відповідно, цей винахід стосується кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, який характеризується порошковою дифрактограмою, представленою в Таблиці 1, де перелічені значення 2θ і відносні інтенсивності (I_0/I_{100}), вищі ніж 20%, виміряні для неподрібненої проби і для проб, подрібнених протягом 5хв і 10хв, із застосуванням вищеописаної методики і джерела випромінювання $\text{CuK}\alpha$.

Таблиця 1

Неподрібнена проба		5-хвилинне подрібнення		10-хвилинне подрібнення	
2θ (°)	I_0/I_{100} (%)	2θ (°)	I_0/I_{100} (%)	2θ (°)	I_0/I_{100} (%)
8361	100	8,349	87,6	8,367	88,7
12,433	51,4	12,429	78,5	12,424	91,6
		13,24	27,9	13,254	30,4
15,344	49,8	15,336	100	15,352	100
		16,858	28,5	16,88	28,3
19,224	27,9	19,233	47,8	19,24	52
20,495	27,5	20,48	44,4		
20,63	38,8	20,644	43	20,601	48,9
		22,254	19,5	22,045	21,6
		22,63	27,6	22,654	34,9
		24,388	26,4	23,388	19,7
				24,387	28,2
				27,744	19
				22,237	21,2

Інтенсивності піків для проб, подрібнених протягом 5хв і 10хв, є більш характерними для дифрактограм, де було зроблено спроби звести до мінімуму впливи переважної орієнтації та/або розміру частинок. Слід також зазначити, що в таблиці подано неокруглені цифри, одержані за допомогою комп'ютера.

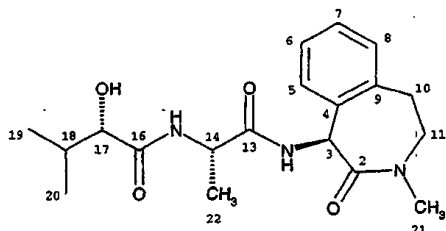
Таким чином, правильно підготовлена проба кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону може бути охарактеризована рентгенівською дифрактограмою, знятою в режимі 2θ із використанням джерела випромінювання $\text{CuK}\alpha$, яка включає піки, представлені в Таблиці 1, і, зокрема, пік із значенням 2θ 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 або 20,63; більш конкретно, пік із значенням 2θ 8,36, 12,43 або 15,34; піки зі значеннями 2θ 8,36 і 12,43; 8,36 і 15,34; 8,36, 12,43 і 15,34; або 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 і 20,63.

Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-

2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону може бути охарактеризований також методом ЯМР-спектроскопії у твердому стані. Хімічні зсуви ^{13}C у твердому стані характеризують не тільки структуру молекули, але й електронне оточення молекули в кристалі.

Аналіз ЯМР (^{13}C) можна виконати, застосовуючи поперечну поляризацію ^{13}C та обертання на магічний кут (CP/MAS). Спектри ЯМР (ЯМР у твердому стані, або SSNMR) одержували із застосуванням спектрометра фірми "Varian" (Varian Unity 400MHz), який працював на частоті вуглецю 100,580МГц, обладнаного комплектом пристроїв для роботи із твердими пробами та 7-мм зондом VT CP/MAS фірми "Varian". Параметри збирання даних були такі: ширина височастотного імпульсу для повороту протона на 90° 4,0мкс, тривалість контакту 1,0мс, частота повторення імпульсів 5с, частота MAS 7,0кГц, спектральна ширина 50кГц, тривалість збирання даних 50мс. Хімічні зсуви вимірювали відносно металічної групи зовнішнього стандарту - гексаметилбензолу ($\delta=17,3\text{млн}^{-1}$), тобто шляхом заміни проби на гексаметилбензол.

Характеристики хімічних зсувів для дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону (базовані на ідентифікації піків) подано в Таблиці 2.



Положення	Розчин у ДМСО	Дигідрат (твердий)
2, 13, 16	169,27, 171,73, 172,89	169,9*, 174,1*, 176,7*
3, 11, 14	51,45, 47,05, 47,72	46,9, 51,3
4	134,14	134,8*
5,6	124,18, 125,99	124,0
7	127,19	127,9, 128,9
8	130,38	132,1
9	135,32	136,9*
10, 18	30,73, 31,29	31,1
17	75,01	75,6
19, 20, 22	15,99, 18,66, 19,13	16,6*, 21,4*
21	34,18	35,3*

Зірочками (*) позначено піки, які з'являються в переривчастому спектрі розв'язування.

Таким чином, кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону може бути охарактеризований спектром ядерного магнітного резонансу ^{13}C у твердому стані, який включає значення хімічних зсувів (у млн. $^{-1}$): 16,6; 176,7, 174,1, 169,9, 136,9, 134,8, 132,1, 127,9, 128,9, 124,0, 75,6, 51,3, 46,9, 35,3, 31,1, 21,4 або 16,6; більш конкретно, 75,6, 35,3, 21,4 або 16,6; будь-які два значення з 75,6, 35,3, 21,4 та 16,6; 75,6, 35,3, 21,4 та 16,6; або 176,7, 174,1, 169,9, 136,9, 134,8, 132,1, 127,9, 128,9, 124,0, 75,6, 51,3, 46,9, 35,3, 31,1, 21,4 та 16,6.

Згідно з іншим аспектом, цей винахід пропонує спосіб одержання дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, який включає кристалізацію (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону з водних розчинників в умовах, які забезпечують утворення дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону.

Точні умови утворення дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону можна визначити емпіричним шляхом, і можливо лише вказати кілька способів, які визнано придатними для практики.

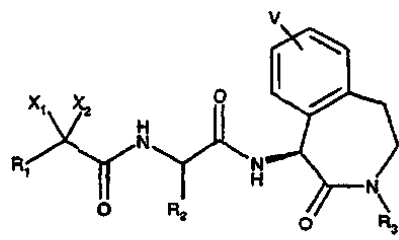
Так, наприклад, дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону можна

одержати шляхом кристалізації в контрольованих умовах. Мається на увазі, що кристалізація з розчину та способи суспендування охоплюються обсягом згаданого способу. Дигідрат згідно з цим винаходом можна одержати, зокрема, шляхом кристалізації з водного розчинника. Придатним розчинником є розчинник, здатний містити при застосовуваних концентраціях воду в кількості, достатній для утворення згаданого дигідрату. Перевага віддається розчинникам, які змішуються з водою, наприклад, ацетону, нижчим спиртам (наприклад, метанолу, етанолу та ізопропанолу), оцтовій кислоті та ацетонітрилу. На практиці виявлено, що перевагу слід віддати водному ацетону. Для даного водного розчинника кількість застосовуваної води залежить від відношення розчинності (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону в розчиннику і у воді і від застосовуваного способу (кристалізації або суспендування).

Кристалізацію, як правило, проводять шляхом розчинення (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону у водному розчиннику, після чого дають розчину охолоджуватися (із додаванням або без додавання додаткової кількості води) для утворення твердої речовини. В типових випадках кристалізацію проводять при початкових температурах приблизно від 40°C до кипіння (із зворотним холодильником) вибраного водного розчинника. Потім суміш охолоджують, причому утворюється кристалічний дигідрат. Може бути доцільним застосування затравки. Кристалізаційний розчин переважно охолоджують повільно. Найбільш зручно виконувати кристалізацію при охолодженні до температур у межах від температури навколишнього середовища до приблизно -20°C.

Згідно з ще одним аспектом, цей винахід пропонує способи одержання лактамів, в тому числі (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, та способи одержання проміжних продуктів для цих речовин.

Більш конкретно, згідно з одним варіантом здійснення способу, цей винахід пропонує спосіб одержання лактамів формули I



формула I

де

R₁ є алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, циклоалкеніл, заміщений алкіл, заміщений алкеніл, заміщений алкініл, заміщений циклоалкіл, заміщений циклоалкеніл, арил, гетероарил і гетероцикліл;

R₂ є алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміще-

ний алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, арил, гетероарил і гетероцикліл;

R_3 є алкіл;

X_1 є водень, гідроксил або фтор;

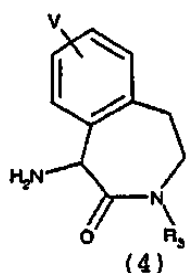
X_2 є водень, гідроксил або фтор, або

X_1 і X_2 спільно утворюють оксогрупу; і

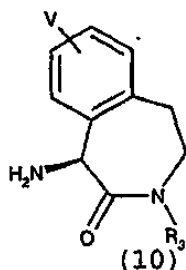
V є від 1 до 3 груп, вибраних незалежно одна від одної із групи, до якої входять водень, гідроксил, ацил, ацилоксигрупа, алкіл, заміщений алкіл, алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, аміногрупа, аміноацил, алкарил, арил, арилоксигрупа, карбоксил, карбоксилалкіл, ціан, галоїд, нітрогрупа, гетероарил, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа та тригалоїдметил;

який включає:

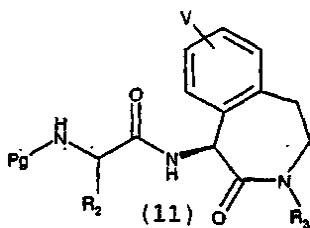
(a1) розділення лактаму формули (4)



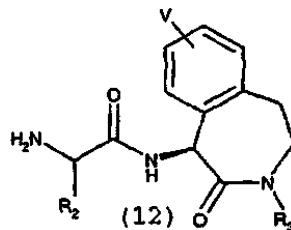
де R_1 та V відповідають визначенням, поданим при описі сполуки формули I, шляхом фракційної кристалізації його дибензоїлтарtrate, солей з (R)-(-)-10-камфорасульфоновіою кислотою і (D)-(-)-мигдалевою кислотою з одержанням сполуки формули (10)



(b) сполучення з відповідною амінокислотою із захищеною аміногрупою формули $PgNH-CHR_2-C(O)-A$, де R_2 відповідає визначенню, поданому при описі сполуки формули I, а A є активуюча група, наприклад, $-OH$, $-Br$ або $-Cl$, і Pg є група захисту аміну, з одержанням сполуки формули (11)



(c) відщеплення групи захисту від сполуки формули (11) з одержанням сполуки формули (12); і



(d) сполучення сполуки формули (12) із відповідною сполукою формули $R_1CX_1X_2-C(O)A_1$, де R_1 , X_1 і X_2 відповідають визначенням, поданим при описі сполуки формули I, і A_1 є активуюча група, наприклад, $-OH$, $-Br$ або $-Cl$; або

(a2) сполучення сполуки формули (10) зі сполукою формули $R_1CX_1X_2-C(O)NH-CHR_2-C(O)-A$, де R_1 , R_2 , X_1 і X_2 відповідають визначенням, поданим при описі сполуки формули I, і A є активуюча група, наприклад, $-OH$, $-Br$ або $-Cl$.

Терміни, вживані в цьому описі, мають значення, вказані нижче.

Термін "алкіл" стосується одновалентних алкільних груп, які містять у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 10 вуглецевих атомів, у варіанті, якому віддається більша перевага, від 1 до 6 вуглецевих атомів. Прикладами груп, які охоплюються цим терміном, є метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил, н-гексил тощо.

Термін " C_1 - C_4 -алкіл" стосується одновалентних алкільних груп, які містять у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 4 вуглецевих атомів. Прикладами груп, які охоплюються цим терміном, є метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил, втор-бутил і трет-бутніл.

Термін "заміщений алкіл" стосується алкільної групи, яка містить у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 10 вуглецевих атомів, яка має від 1 до 5 замісників, у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 3 замісників, вибраних із групи, до якої входять алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, циклоалкеніл, заміщений циклоалкеніл, ацил, ациламіногрупа, ацилоксигрупа, аміногрупа, аміноацил, аміноацилоксигрупа, ціан, галоїд, гідроксил, карбоксил, кетогрупа, тіокетогрупа, карбоксил алкіл, тіол, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа, арил, арилоксигрупа, гетероарил, гетероарилоксигрупа, гетероцикліл, гідроксіаміногрупа, алкоксіаміногрупа, нітрогрупа, $-SO$ -алкіл, $-SO$ -заміщений алкіл, $-SO$ -арил, $-SO$ -гетероарил, $-SO_2$ -алкіл, $-SO_2$ -заміщений алкіл, $-SO_2$ -арил, $-SO_2$ -гетероарил, і моно- та діалкіламіногрупа, моно- та ди-(заміщений алкіл)аміногрупа, моно- та діариламіногрупа, моно- та дигетероариламіногрупа, і несиметричні дво-заміщені аміни, які містять різні замісники, вибрані із групи, до якої входять алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл.

Термін "алкілен" стосується двовалентних алкіленових груп, які містять у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 10 вуглецевих атомів, у варіанті, якому віддається більша перевага, від 1 до 6 вуглецевих атомів. Прикладами груп, які охоплюються цим терміном, є метилен ($-CH_2-$), етилен ($-CH_2CH_2-$), ізомери пропілену (наприклад, $-CH_2CH_2CH_2-$ та $-CH(CH_3)CH_2-$) тощо.

Термін "заміщений алкілен" стосується алкіленової групи, яка містить у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 10 вуглецевих атомів, яка має від 1 до 3 замісників, вибраних із групи, до якої входять алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, ацил, ациламіногрупа, ацилоксигрупа, аміногрупа, аміноацил, аміноацилоксигрупа, ціан, галоїд, гідроксил, карбоксил, кетогрупа, тіокетогрупа, карбоксил алкіл, тіол, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа, арил, гетероарил, гетероцикліл, нітрогрупа, і моно- та діалкіламіногрупа, моно- та ди-(заміщений алкіл)аміногрупа, моно- та діариламіногрупа, моно-та дигетероариламіногрупа, моно- та дигетероцикліламіногрупа, і несиметричні двозаміщені аміни, які містять різні замісники, вибрані із групи, до якої входять алкіл, замінений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл. Крім того, до таких замінених алкіленових груп належать групи, в яких два замісники при алкіленовій групі конденсовані й утворюють одну або кілька циклоалкільних, арильних, гетероциклічних або гетероарильних груп, конденсованих з алкіленовою групою. Такі конденсовані циклоалкільні групи у варіанті, якому віддається перевага, містять від 1 до 3 конденсованих циклічних структур.

Термін "алкенілен" стосується двовалентних алкеніленових груп, які містять у варіанті, якому віддається перевага, від 2 до 10 і більше вуглецевих атомів, у варіанті, якому віддається більша перевага, від 2 до 6 вуглецевих атомів. Прикладами груп, які охоплюються цим терміном, є етенілен ($-\text{CH}=\text{CH}-$), ізомери пропенілену (наприклад, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$ та $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$) тощо.

Термін "заміщений алкенілен" стосується алкеніленової групи, яка містить у варіанті, якому віддається перевага, від 2 до 10 вуглецевих атомів, яка має від 1 до 3 замісників, вибраних із групи, до якої входять алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, ацил, ациламіногрупа, ацилоксигрупа, аміногрупа, аміноацил, аміноацилоксигрупа, ціан, галоїд, гідроксил, карбоксил, кетогрупа, тіокетогрупа, карбоксилалкіл, тіол, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа, арил, гетероарил, гетероцикліл, нітрогрупа, і моно- та діалкіламіногрупа, моно- та ди-(заміщений алкіл)аміногрупа, моно- та діариламіногрупа, моно-та дигетероариламіногрупа, моно- та дигетероцикліламіногрупа, і несиметричні двозаміщені аміни, які містять різні замісники, вибрані із групи, до якої входять алкіл, замінений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл. Крім того, до таких замінених алкеніленових груп належать групи, в яких два замісники при алкеніленовій групі конденсовані й утворюють одну або кілька циклоалкільних, арильних, гетероциклічних або гетероарильних груп, конденсованих з алкеніленовою групою.

Термін "алкаріл" стосується -алкіленарильних груп, які містять у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 8 вуглецевих атомів в алкіленовому фрагменті і від 6 до 10 вуглецевих атомів в арильному фрагменті. Прикладами таких алкарильних груп є бензил, фенетил тощо.

Термін "алкокси(група)" стосується групи "алкіл-О-". До алкоксигруп, яким віддається перевага, належать, наприклад, метоксигрупа, етоксигрупа, н-пропоксигрупа, ізопропоксигрупа, н-

бутоксигрупа, трет-бутоксигрупа, втор-бутоксигрупа, н-пентоксигрупа, н-гексоксигрупа, 1,2-диметилбутоксигрупа тощо.

Термін "заміщена алкоксигрупа" стосується групи "заміщений алкіл-О-", де замінений алкіл відповідає вищевизначеному визначенню.

Термін "алкілалкокси(група)" стосується груп "алкілен-О-алкіл", до яких належать, наприклад, метиленметоксигрупа ($-\text{CH}_2\text{OCH}_3$), етиленметоксигрупа ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$), н-пропіленізопропоксигрупа ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), метилен-трет-бутоксигрупа ($-\text{CH}_2\text{OC}(\text{CH}_3)_3$) тощо.

Термін "алкілтіоалкокси(група)" стосується груп "алкілен-S-алкіл", до яких належать, наприклад, метил ентиометоксигрупа ($-\text{CH}_2\text{SCH}_3$), етилен-нтиометоксигрупа ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$), н-пропілентіоізопропоксигрупа ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}(\text{CH}_3)_2$), метилентіо-трет-бутоксигрупа ($-\text{CH}_2\text{SC}(\text{CH}_3)_3$) тощо.

Термін "алкеніл" стосується алкенільних груп, які містять у варіанті, якому віддається перевага, від 2 до 10 і більше вуглецевих атомів, у варіанті, якому віддається більша перевага, від 2 до 6 вуглецевих атомів, і включають щонайменше 1, у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 2 алкенільних ненасичених зв'язків. Прикладами алкенілів, яким віддається перевага, є етеніл ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), н-пропеніл ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), ізопропеніл ($-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$) тощо.

Термін "заміщений алкеніл" стосується алкенільної групи, що відповідає поданому вище визначенню, яка має від 1 до 3 замісників, вибраних із групи, до якої входять алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, ацил, ациламіногрупа, ацилоксигрупа, аміногрупа, аміноацил, аміноацилоксигрупа, ціан, галоїд, гідроксил, карбоксил, кетогрупа, тіокетогрупа, карбоксилалкіл, тіол, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа, арил, гетероарил, гетероцикліл, нітрогрупа, -SO-алкіл, -SO-замінений алкіл, -SO-арил, -SO-гетероарил, -SO₂-алкіл, -SO₂-замінений алкіл, -SO₂-арил, -SO₂-гетероарил, і моно- та діалкіламіногрупа, моно- та ди-(замінений алкіл)аміногрупа, моно- та діариламіногрупа, моно- та дигетероариламіногрупа, моно- та дигетероцикліламіногрупа, і несиметричні двозаміщені аміни, які містять різні замісники, вибрані із групи, до якої входять алкіл, замінений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл.

Термін "алкініл" стосується алкінільних груп, які містять у варіанті, якому віддається перевага, від 2 до 10 і більше вуглецевих атомів, у варіанті, якому віддається більша перевага, від 2 до 6 вуглецевих атомів, і включають щонайменше 1, у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 2 алкінільних ненасичених зв'язків. До алкінільних груп, яким віддається перевага, належать етиніл ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), пропаргіл ($-\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$) тощо.

Термін "заміщений алкініл" стосується алкінільної групи, що відповідає поданому вище визначенню, яка має від 1 до 3 замісників, вибраних із групи, до якої входять алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, ацил, ациламіногрупа, ацилоксигрупа, аміногрупа, аміноацил, аміноацилоксигрупа, ціан, галоїд, гідроксил, карбоксил, кетогрупа, тіокетогрупа, карбоксилалкіл, тіол, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа, арил, гетероарил, гете-

роцикліл, нітрогрупа, -SO-алкіл, -SO-заміщений алкіл, -SO-арил, -SO-гетероарил, -SO₂-алкіл, -SO₂-заміщений алкіл, -SO₂-арил, -SO₂-гетероарил, і моно- та діалкіламіногрупа, моно- та ди-(заміщений алкіл)аміногрупа, моно- та діариламіногрупа, моно- та дигетероариламіногрупа, моно- та дигетероцикліламіногрупа, і несиметричні дво-заміщені аміни, які містять різні замісники, вибрані із групи, до якої входять алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл.

Термін "ацил" стосується груп алкіл-C(O)-, заміщений алкіл-C(O)-, циклоалкіл-C(O)-, заміщений циклоалкіл-C(O)-, арил-C(O)-, гетероарил-C(O)- та гетероцикліл-C(O)-, де алкіл, заміщений алкіл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл відповідають визначенням, поданим у цьому описі.

Термін "ациламіно(група)" стосується груп -C(O)NRR, де кожний R незалежно від іншого є водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил або гетероцикліл, причому алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл відповідають визначенням, поданим у цьому описі.

Термін "аміноацил" стосується груп -NRC(O)R, де кожний R незалежно від іншого є водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил або гетероцикліл, причому алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл відповідають визначенням, поданим у цьому описі.

Термін "аміноацилокси(група)" стосується груп -NRC(O)OR, де кожний R незалежно від іншого є водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил або гетероцикліл, причому алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл відповідають визначенням, поданим у цьому описі.

Термін "ацилокси(група)" стосується груп алкіл-C(O)O-, заміщений алкіл-C(O)O-, циклоалкіл-C(O)O-, арил-C(O)O-, гетероарил-C(O)O- та гетероцикліл-C(O)O-, де алкіл, заміщений алкіл, циклоалкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл відповідають визначенням, поданим у цьому описі.

Термін "арил" стосується ненасичених ароматичних карбоциклічних груп, які містять від 6 до 14 вуглецевих атомів і включають один цикл (наприклад, феніл) або кілька конденсованих циклів (наприклад, нафтил або антріл). До арилів, яким віддається перевага, належать феніл, нафтил тощо.

В разі відсутності у визначеннях спеціальних обмежень для замісників при арилах, такі арильні групи можуть бути факультативно заміщені замісниками в кількості від 1 до 5, вибраними із групи, до якої входять ацилоксигрупа, від 1 до 5, у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 3 замісників, вибраних із групи, до якої входять гідроксил, ацил, алкіл, алкоксигрупа, алкеніл, алкініл, заміщений алкіл, заміщена алкоксигрупа, заміщений алкеніл, заміщений алкініл, аміногрупа, аміноацил, ациламіногрупа, алкарил, арил, арилоксигрупа, азидогрупа, карбоксил, карбоксил алкіл, ціан, галоїд, нітрогрупа, гетероарил, гетероцикліл, аміноацилоксигрупа, оксіациламіногрупа, тіоалкоксигрупа, тіогетероарилоксигрупа, -SO-алкіл, -SO-заміщений алкіл, -SO-арил, -SO-гетероарил, -SO₂-алкіл, -SO₂-заміщений алкіл, -SO₂-арил, -SO₂-гетероарил, тригалоїдметил, моно- та діалкіламіногрупа, моно- та

ди-(заміщений алкіл)аміногрупа, моно- та діариламіногрупа, моно- та дигетероариламіногрупа, моно- та дигетероцикліламіногрупа і несиметричні дво-заміщені аміни, які містять різні замісники, вибрані із групи, до якої входять алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл, тощо. До замісників, яким віддається перевага, належать алкіл, алкоксигрупа, галоїд, ціан, нітрогрупа, тригалоїдметил та тіоалкоксигрупа.

Термін "арилокси(група)" стосується групи арил-O, де арильна група відповідає поданому нижче визначенню, в тому числі є факультативно заміщеною арильною групою, також визначеною вище.

Термін "карбоксіалкіл" стосується групи "-C(O)Oалкіл", де алкіл відповідає поданому вище визначенню.

Термін "циклоалкіл" стосується циклічних алкільних груп, які містять від 3 до 12 вуглецевих атомів і включають один цикл або кілька з'єднаних циклів, в тому числі конденсованих, містчкових та спіробициклічних або поліциклічних сполук. До таких циклоалкільних груп належать, наприклад, моноциклічні структури, наприклад, циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклооктил тощо, або поліциклічні структури, наприклад, адамантил тощо.

Термін "заміщений циклоалкіл" стосується циклоалкільних груп, які мають від 1 до 5 (у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 3) замісників, вибраних із групи, до якої входять гідроксил, ацил, ацилоксигрупа, алкіл, заміщений алкіл, алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, аміногрупа, аміноацил, алкарил, арил, арилоксигрупа, кетогрупа, тіокетогрупа, карбоксил, карбоксилалкіл, ціан, галоїд, нітрогрупа, гетероарил, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа, тригалоїдметил тощо.

Термін "циклоалкеніл" стосується циклічних алкенільних груп, що містять від 4 до 8 вуглецевих атомів і включають один цикл і щонайменше один внутрішній ненасичений зв'язок. До прикладів корисних циклоалкенільних груп належать у даному разі циклобут-2-еніл, циклопент-3-еніл, циклоокт-3-еніл тощо.

Термін "заміщений циклоалкеніл" стосується циклоалкенільних груп, які мають від 1 до 5 замісників, вибраних із групи, до якої входять гідроксил, ацил, ацилоксигрупа, алкіл, заміщений алкіл, алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, аміногрупа, аміноацил, алкарил, арил, арилоксигрупа, карбоксил, кетогрупа, тіокетогрупа, карбоксилалкіл, ціан, галоїд, нітрогрупа, гетероарил, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа, тригалоїдметил тощо.

Термін "галоїд" стосується фтору, хлору, бром та йоду, перевага віддається фтору або хлору.

Термін "гетероарил" стосується ароматичних карбоциклічних груп, які містять від 1 до 15 вуглецевих атомів і від 1 до 4 гетероатомів, вибраних із групи, до якої входять кисень, азот та сірка, щонайменше в одному циклі (у разі наявності більше ніж одного циклу).

В разі відсутності у визначеннях спеціальних

обмежень для замісників при гетероарилах, такі гетероарильні групи можуть бути факультативно заміщені замісниками в кількості від 1 до 5, вибраними із групи, до якої входять алкіл, заміщений алкіл, алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, арил, арилоксигрупа, галоїд, нітрогрупа, гетероарил, тіол, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа, тіоарилоксигрупа, тригалоїдметил тощо. Такі гетероарильні групи можуть включати один цикл (наприклад, піридил або фурил) або кілька з'єднаних циклів (наприклад, індолізиніл або бензотієніл), в тому числі конденсовані, містчкові або спіробициклічні або поліциклічні сполуки. До гетероарилів, яким віддається перевага, належать піридил, піроліл та фурил.

Терміни "гетероцикл" або "гетероцикліл" стосуються одновалентних насичених або ненасичених груп, які включають один цикл або кілька з'єднаних циклів, в тому числі конденсованих, містчкових та спіробициклічних або поліциклічних сполук, які містять від 1 до 15 вуглецевих атомів і від 1 до 4 гетероатомів, вибраних із групи, до якої входять азот, сірка або кисень у циклі.

В разі відсутності у визначеннях спеціальних обмежень для замісників при гетероциклілах, такі гетероциклічні групи можуть бути факультативно заміщені замісниками в кількості від 1 до 5, вибраними із групи, до якої входять алкіл, заміщений алкіл, алкоксигрупа, заміщена алкоксигрупа, арил, арилоксигрупа, галоїд, нітрогрупа, гетероарил, тіол, тіоалкоксигрупа, заміщена тіоалкоксигрупа, тіоарилоксигрупа, тригалоїдметил тощо. Такі гетероциклічні групи можуть включати один цикл або кілька конденсованих циклів. До гетероциклілів, яким віддається перевага, належать морфоліно, піперидиніл тощо.

Прикладами азотвмісних гетероциклів та гетероарилів є (але ними не обмежуються) пірол, імідазол, піразол, піридин, піразин, піримідин, піридазин, індолізін, ізоіндол, індол, індазол, пурин, хінолізин, ізохінолін, хінолін, фталазин, нафтилпіридин, хіноксалін, хіназолін, цинолін, птеридин, карбазол, карболін, фенантридин, акридин, фенантролін, ізотіазол, феназин, ізоксазол, фенкосазин, фенотіазин, імідазолідин, імідазолін, піперидин, піперазин, індолін, морфоліно, піперидиніл, тетрагідрофураніл тощо, а також N-алкоксиазотвмісні гетероцикли.

Термін "оксіяциламіно(група)" стосується груп $-OC(O)NRR$, де кожний R незалежно від іншого є водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил або гетероцикліл, причому алкіл, заміщений алкіл, арил, гетероарил та гетероцикліл відповідають визначенням, поданим у цьому описі.

Термін "тіол" стосується групи $-SH$.

Термін "тіоалокси(група)" стосується групи $-S$ -алкіл.

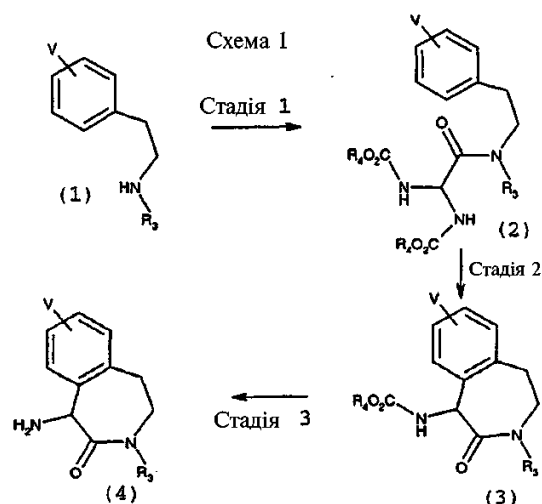
Термін "заміщена тіоалокси(група)" стосується групи $-S$ -заміщений алкіл.

Термін "тіоарилокси(група)" стосується групи арил-S-, де арильна група відповідає поданому вище визначенню, в тому числі є факультативно заміщеною арильною групою, також визначеною вище.

Термін "гетероарилокси(група)" стосується груп гетероарил-O-, де гетероарильна група відпо-

відає поданому вище визначенню, в тому числі є факультативно заміщеною арильною групою, також визначеною вище.

У конкретних методичних варіантах здійснення цей винахід пропонує способи одержання сполук формули (4), описані в Схемах 1 і 2. У цих Схемах, поданих нижче, всі замісники, якщо не обумовлене супротивне, відповідають поданим вище визначенням, а всі реагенти є добре відомими й прийнятими в практиці.



Згідно зі Схемою 1, стадія 1, придатний N-алкілфенетиламін формули (1) ацилюють відповідним реагентом переносу бісалькоксикарбонілацетату, одержуючи сполуку формули (2). Придатним N-алкіл фенетил аміном формули (1) є сполука, де V та R₃ мають значення, які бажано одержати в кінцевому продукті формули I. Такі N-алкілфенетиламіни легко одержати шляхом реакції 2-бром- або 2-хлоретилбензолу з аміном формули H₂N-R₃ в умовах, добре відомих і прийнятих у практиці. Придатним реагентом переносу бісалькоксикарбонілацетату є сполука, де R₄ є C₁-C₄-алкіл і яка переносить бісалькоксикарбонілацетил до сполуки формули (1), наприклад, бісалькоксикарбонілоцтові кислоти та бісалькоксикарбонілацетилхлориди [дивись Бен-Ішаї - Ben-Ishai, Tetrahedron. 43, 439-450 (1987)].

Наприклад, відповідний N-алкілфенетиламін формули (1) уводять у контакт із відповідною бісалькоксикарбонілоцтовою кислотою й одержують сполуку формули (2). Такі реакції сполучення є звичайними в синтезі пептидів, і при їх проведенні можна застосовувати методи синтезу, використовувані в цій галузі. Наприклад, для полегшення цього ацилювання можна застосовувати добре відомі агенти сполучення, наприклад, карбодііміди, з використанням або без використання добре відомих домішок, наприклад, N-гідроксисукциніміду, 1-гідроксибензотриазолу тощо. В таких реакціях сполучення часто застосовують придатну основу для зв'язування кислоти, що вивільнюється при реакції. До придатних основ належать, наприклад, триетиламін, N,N-діізопропілетиламін, N-метилморфолін тощо. Реакцію зручно проводити в інертному апротонному полярному розріджувачі, наприклад, в диметилформаміді, хлористому ме-

тилені, хлороформі, ацетонітрилі, тетрагідрофурані тощо. Як правило, реакцію проводять при температурі від приблизно 0°C до приблизно 60°C, і вона, як правило, вимагає часу від приблизно 1 год до приблизно 24 год. Після завершення реакції продукт формули (2) виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

В альтернативному варіанті, наприклад, придатний N-алкілфенетиламін формули (1) уводять у контакт із придатним бісalkоксикарбонілацетилхлоридом і одержують сполуку формули (2). Такі хлорангідриди кислот легко одержати з відповідних кислот способами, добре відомими в практиці, наприклад, дією трихлористого фосфору, оксихлориду фосфору, п'ятихлористого фосфору, тіоніл хлориду або оксалілхлориду з використанням або без використання незначної кількості диметилформаміду в інертному розчиннику, наприклад, в толуолі, хлористому метиліні або хлороформі, при температурах приблизно від 0 до 80°C. Реакцію, як правило, проводять протягом часу від 1 год до 24 год. Хлорангідрид кислоти можна виділити та очистити, або його часто можна використати безпосередньо, тобто з виділенням та/або очищенням або без цих операцій. В таких реакціях ацилювання часто застосовують придатну основу для зв'язування кислоти, що вивільнюється при реакції. До придатних основ належать, наприклад, піридин, триетиламін, N,N-діізопропілетиламін, N-метилморфолін тощо. Реакцію зручно проводити в інертному апротонному полярному розріджувачі, наприклад, у хлористому метиліні, хлороформі, тетрагідрофурані тощо. Як правило, реакцію проводять при температурі від приблизно -20°C до приблизно 80°C, і вона, як правило, вимагає часу від приблизно 1 год до приблизно 24 год. Після завершення реакції продукт формули (2) виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

Згідно зі Схемою 1, стадія 2, сполуку формули (2) циклізують і одержують сполуку формули (3).

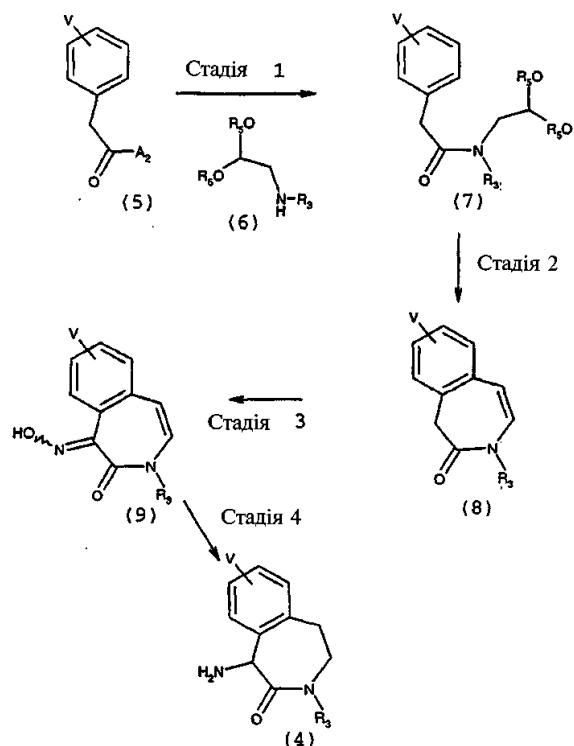
Наприклад, сполуку формули (2) уводять у контакт із кислотою, наприклад, із трифторметансульфо кислотою або сірчанною кислотою. Як правило, реакцію проводять із використанням вибраної кислоти як розчинника. В типових випадках реагенти спочатку змішують при температурі від приблизно -20°C до приблизно 0°C, після чого дають суміші нагріватися до температури в межах від температури навколишнього середовища до приблизно 60°C. Реакція циклізації вимагає, як правило, часу від приблизно 12 год до приблизно 72 год. Після завершення реакції продукт формули (3) виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

Згідно зі Схемою 1, стадія 3, від сполуки формули (3) відщеплюють групу захисту й одержують сполуку формули (4).

Відщеплення таких алкоксикарбонільних груп захисту аміну є добре відомим і прийнятим у практиці. Дивись, наприклад, [монографію Т. Гріні

"Групи захисту в органічному синтезі" (Theodora Greene, Protecting Groups in Organic Synthesis. 1st and 2nd Editions, Wiley-Interscience) і роботу Бен-Ішаї (Ben-Ishai, Tetrahedron. 43, 439-450 (1987))].

Схема 2



Згідно зі Схемою 2, стадія 1, придатну похідну феніл оцтової кислоти формули (5) сполучають із придатним ацеталем формули (6) і одержують сполуку формули (7). Придатною похідною фенілоцтової кислоти формули (5) є сполука, де V має значення, яке бажано одержати в кінцевому продукті формули I, і Ag є активуюча група, наприклад, -OH, -Cl або -Br. Придатним ацеталем формули (6) є сполука, де R3 має значення, яке бажано одержати в кінцевому продукті формули I, і R5 є C₁-C₄-алкіл. Такі реакції сполучення є звичайними в синтезі пептидів, і при їх проведенні можна застосувати методи синтезу, використововувані в цій галузі, як описано для Схеми 1, стадія 1.

Сполучення, показане на Схемі 2, стадія 1, можна також виконувати в умовах реакції Шоттена-Баумана (Schotten-Baumann), застосовуючи хлорангідрид придатної фенілоцтової кислоти формули (5) та придатний ацеталь формули (6) у змішаному розчиннику, наприклад, в метил-трет-бутиловому простому ефірі, етилацетаті, тетрагідрофурані, ацетоні або діетиловому ефірі з водою. Таку реакцію проводять із використанням придатної основи, наприклад, гідроксиду натрію, гідроксиду калію, карбонату натрію, карбонату калію, бікарбонату натрію або бікарбонату калію. Як правило, реакцію проводять при інтенсивному перемішуванні при температурах від приблизно -20°C до приблизно 80°C, і вона, як правило, вимагає часу від приблизно 1 год до приблизно 24 год. Після завершення реакції продукт формули (7) виділяють звичайними способами, в тому числі екстрак-

цією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

Згідно зі Схемою 2, стадія 2, сполуку формули (7) циклізують і одержують сполуку формули (8). Такі реакції циклізації проводять у кислоті, наприклад, у сірчаній кислоті. Як правило, цю кислоту використовують як розчинник. В типових випадках згадану реакцію проводять при температурі в межах від приблизно -20°C до приблизно 150°C , і вона вимагає, як правило, часу від приблизно 1 год до приблизно 24 год. Після завершення реакції продукт формули (8) виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

Згідно зі Схемою 2, стадія 3, сполуку формули (8) піддають реакції переносу аміну для одержання сполуку формули (9). На Схемі 2 показано оксимування. Таке оксимування проводять шляхом введення еноляту сполуки формули (8) у реакцію з реагентами переносу оксиму, наприклад, складним ефіром - алкілнітридом. Енолят сполуки формули (8) можна одержати шляхом реакції сполуки формули (8) із придатною основою, наприклад, із трет-буилатом калію, діізопропіламідом літію, гексаметилдисилазидом літію, гексаметилдисилазидом натрію, гексаметилдисилазидом калію тощо. Приклади таких реакцій оксимування наведені в монографії Уїлера та інших "Органічні синтези" (Wheeler et al., Organic Syntheses, Coll. Vol. VI, p.840)], де описані реакції ізоамілінітриду з кетоном для одержання цільового оксиму. Цю реакцію, як правило, проводять у розчиннику, наприклад, у тетрагідрофурані. У типових випадках реакцію проводять при температурі від приблизно -20°C до приблизно 50°C , і вона вимагає часу від приблизно 1 до приблизно 24 год. Після завершення реакції продукт формули (8) виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

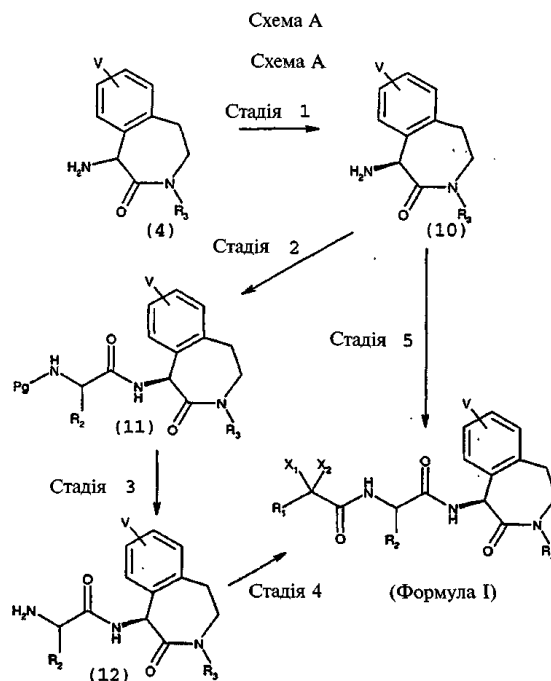
В альтернативному варіанті таку реакцію переносу аміну можна проводити за участю азиду. Азид можна одержати шляхом реакції еноляту сполуки формули (8) із реагентами переносу азиду, наприклад, із толуолсульфонілазидом та тріізопропілбензолсульфонілазидом. Приклади таких реакцій наведено в роботі Еванса та інших [Evans et al., J. Am. Chem. Soc. 112:4011-4030 (1990) 41]. Цю реакцію, як правило, проводять у розчиннику, наприклад, у тетрагідрофурані. У типових випадках реакцію проводять при температурі від приблизно -20°C до приблизно 50°C , і вона, як правило, вимагає часу від приблизно 1 год до приблизно 24 год. Після завершення реакції продукт формули (8), який містить азидогрупу замість оксиму, виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

Як показано на Схемі 2, стадія 4, оксим відновлюють, одержуючи сполуку формули (4). Таке відновлення виконують шляхом оброблення воднем та відповідним каталізатором, наприклад, нікелем Ренея або паладієвими каталізаторами, наприклад, паладієм на вугіллі. Цю реакцію, як правило, проводять у розчиннику, наприклад, у

тетрагідрофурані, етилацетаті або в нижчих спиртах, наприклад, у метанолі, етанолі та ізопропанолі, в оцтовій кислоті, воді, водному розчині аміаку тощо або в їх сумішах. В типових випадках реакцію проводять під тиском водню в межах від атмосферного тиску до приблизно 600 фунтів на кв. дюйм (4137кПа). Як правило, реакцію проводять при температурі від приблизно 20°C до приблизно 100°C , і вона, як правило, вимагає часу від приблизно 1 год до приблизно 24 год. Після завершення реакції продукт формули (4) виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

В альтернативному варіанті, де амін переносить за участю азиду, відновлюють азидогрупу. Такі реакції проводять шляхом гідрування, як описано вище.

Згідно з іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує стереоспецифічні способи одержання лактамів, сполук формули I, в тому числі (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, та способи одержання хіральних проміжних продуктів для цих сполук. Такі способи показані на Схемі А.



На Схемі А, стадія 1, представлено стереохімічне розділення відповідного лактаму формули (4) з одержанням лактаму формули (10). Для обізнаного фахівця ясно, що представлені способи не обов'язково обмежуються одержанням індивідуального ізомеру. Навпаки, представлені способи уможливають одержання будь-якого з конкретних енантіомерів згаданих лактамів і придатні, зокрема, для одержання ізомерів 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону.

У зв'язку з підвищеною біологічною активністю (S)-ізомеру при фрагменті 2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, цей винахід є найбільш корис-

ним у варіанті одержання практично чистого (S)-ізомеру. Термін "практично чистий" у значенні, вживаному в цьому описі, стосується енантіомерної чистоти (R)- або (S)-лактаму, зокрема, (R)- та (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону. Згідно з цим винаходом практично чистий (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он можна одержати із вмістом (S)-енантіомера більше ніж 80%, у варіанті, якому віддається перевага, більше ніж 90%, у варіанті, якому віддається більша перевага, більше ніж 95%, у варіанті, якому віддається найбільша перевага, більше ніж 97%.

Наприклад, індивідуальні ізомери сполуки формули (4) можна розділити шляхом фракційної кристалізації її солей - дибензоїлтартрату, солей з (R)-(-)-10-камфорасульфоновю кислотою і (D)-(-)-мигдалевою кислотою. Очікується, що для цієї мети придатними є різноманітні дибензоїлтартрати. Зокрема, перевага віддається дибензоїльним складним ефірам, які мають у пара-положенні замісник, вибраний із групи, до якої входять водень, галогід, C₁-C₄-алкіл та C₁-C₄-алкоксигрупа, а найбільша перевага віддається ди-п-толуїлтартрату. Для одержання (S)-ізомеру застосовують ди-п-толуїл-L-тартрат.

У варіанті здійснення Схеми А, стадії 1, якому віддається перевага, сполукою формули (4) є сполука, де V є водень, а R₃ є C₁-C₄-алкіл, в тому числі метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, ізобутіл та втор-бутіл; найбільша перевага віддається використанню сполук формули (4), де V є водень, а R₃ є метил.

Згідно із представленим способом, сполуку формули (4) уводять у контакт із вибраною кислотою. Як правило, можна використовувати кількість кислоти в межах від приблизно 0,4 молярного еквівалента до значного надлишку; перевага віддається кількості від приблизно 0,4 до 1,5 молярного еквівалента, а більша перевага - кількості від приблизно 0,5 до 1,1 молярного еквівалента.

Процес проводять, як правило, шляхом кристалізації солі кислоти з розчину. При цьому придатними є, зокрема, такі розчинники, як нижчі спирти, в тому числі метанол, етанол, н-пропанол, ізопропанол, бутанол, втор-бутанол, ізобутанол, трет-бутанол, аміловий спирт, ізоаміловий спирт, трет-аміловий спирт, гексанол, циклопентанол та циклогексанол, а перевага віддається метанолу, етанолу та ізопропанолу. Може виявитися доцільним застосування осаджувача. Термін "осаджувач" у вживаному значенні означає розчинник, в якому розчинність солі значно нижче, ніж у розчиннику. В разі застосування осаджувача перевага віддається речовинам, які змішуються з вибраним розчинником. До придатних осаджувачів належать прості ефіри, наприклад, діетиловий ефір, метил-трет-бутиловий ефір тощо, та нижчі алкілацетати, наприклад, метилацетат, етилацетат, ізопропілацетат, пропілацетат, ізобутилацетат, втор-бутилацетат, бутилацетат, амілацетат, ізоамілацетат тощо, а також алкани, наприклад, пентан, гексан, гептан, циклогексан тощо. Якщо описаний процес здійснюють шляхом кристалізації солі кислоти з рацемічної суміші, то застосовувати осаджувач слід обережно для запобігання кристаліза-

ції небажаної діастереомерної солі.

Як правило, кристалізацію виконують при початковій температурі від приблизно 40°C до температури кипіння (із зворотним холодильником) вибраного розчинника (розчинників) і при початкових концентраціях від приблизно 0,05M до приблизно 0,25M. Потім суміш охолоджують і одержують згадану сіль. Може бути доцільним застосування затравки. Може бути доцільним перемішування початкового осаду протягом від приблизно 4 год до 48 год. Кристалізаційний розчин у варіанті, якому віддається перевага, охолоджують повільно. Найбільш зручно виконувати кристалізацію при охолодженні до температур у межах від температури навколишнього середовища до приблизно -20°C. Сіль можна відділити від маточного розчину, застосовуючи добре відомі в практиці способи, в тому числі фільтрування, декантацію, центрифугування, випарювання, сушіння тощо. Сполуку формули (10) можна використовувати безпосередньо у формі солі з вибраною кислотою. В альтернативному варіанті сполуку формули (10) перед використанням можна виділити у формі солі з іншою кислотою після заміни кислоти або у формі основи шляхом екстракції в основному середовищі, як добре відомо в практиці.

У варіанті здійснення, якому віддається перевага, цей винахід пропонує динамічне розділення (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону високої енантіомерної чистоти, яке включає кристалізацію 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону у формі його солі з кислотою, вибраною із групи, до якої входять ди-п-толіл-L-винна кислота, (R)-(-)-10-камфорасульфонова кислота і (D)-(-)-мигдалева кислота, в динамічному процесі у присутності ароматичного альдегіду. Перевага цього динамічного процесу полягає в тому, що під час кристалізації 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он зазнає конверсії в індивідуальний ізомер, що забезпечує підвищення виходу та уникнення утворення відходів, які містять небажаний ізомер.

Очікується, що для згаданого процесу придатні різноманітні альдегіди; виявлено, що певні альдегіди є особливо придатними у практиці. Конкретно, з'ясовано, що перевагу слід віддавати саліциловим кислотам і що більшу перевагу при здійсненні цього динамічного процесу розділення слід віддавати саліциловому альдегіду, 5-нітросаліциловому альдегіду та 3,5-дихлорсаліциловому альдегіду.

Відповідно, якщо згаданий процес здійснюється в режимі динамічного розділення, 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он уводять у контакт із вибраною кислотою у присутності альдегіду. Як правило, для динамічного розділення використовують від приблизно 0,9 до 1,2 молярного еквівалента кислоти, краще приблизно 1 молярний еквівалент. Альдегід, як правило, застосовують у каталітичній кількості. В типових випадках застосовують від приблизно 0,5 до 0,001 молярного еквівалента альдегіду, у варіанті, якому віддається перевага, від приблизно 0,1 до 0,01 молярного еквівалента.

Згаданий динамічний процес звичайно здійснюють у розчиннику або в розчиннику без осаджу-

вача, як описано вище. Суміш 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону, вибраної кислоти та альдегіду перемішують для забезпечення конверсії в бажаний ізомер. Як правило, цю конверсію здійснюють при температурах від температури навколишнього середовища до температури кипіння розчинника. Конверсія вимагає часу, як правило, від 6 год до 48 год.

Для обізнаного фахівця зрозуміло, що в разі проведення згаданого процесу в режимі динамічного розділення, використання солі (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону з кислотою може ускладнюватися внаслідок присутності у виділеному продукті незначної кількості альдегіду. Тому перевага віддається виділенню (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону після динамічного розділення шляхом сольового обміну, у варіанті, якому віддається перевага, у формі гідрохлориду, перед його використанням або одержанням основи.

Для обізнаного фахівця зрозуміло, що сполуки формули (10) можна використовувати у різноманітних способах для одержання сполук, корисних для лікування хвороби Альцгеймера. Ці способи описані в патентній заявці PCT/US97/22986, поданій 22 грудня 1997р., а також описані нижче. Способи згідно з цим винаходом відрізняються тим, що вони забезпечують одержання сполук формули I із використанням розділення, представленого на Схемі А, стадія 1.

На Схемі А, стадія 2, показано реакцію сполучення придатної амінокислоти із захищеною аміногрупою формули $\text{PgNH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ та придатного лактаму формули (10). Придатними амінокислотами із захищеними аміногрупами є сполуки, де Pg є група захисту аміну, R_2 має значення, бажане в кінцевому продукті формули I, а A є активуюча група, наприклад, -OH або -Cl, здатна сполучатися з аміногрупою сполуки формули (10). Такі амінокислоти із захищеними аміногрупами легко одержати обізнаному фахівцеві.

Серед амінокислот із захищеними аміногрупами формули $\text{PgNH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ перевага віддається сполукам, де Pg є трет-бутоксикарбоніл та бензілоксикарбоніл, R_2 є метил, та сполукам, стереохімія яких відповідає L-амінокислотам.

Реакція сполучення, показана на Схемі А, стадія 2, включає реакцію, яку звичайно проводять при синтезі пептидів, і при її проведенні можна застосовувати методи синтезу, використовувані в цій галузі. Такі методи детально описані для Схеми 1, стадія 1.

Схема А, стадія 3, ілюструє відщеплення групи захисту від сполуки формули (11) з одержанням сполуки формули (12). Відщеплення таких груп захисту аміну є добре відомим і прийнятним у практиці.

Схема А, стадія 4, ілюструє реакцію сполучення придатної сполуки формули (13), $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)A}_1$, зі сполукою формули (12) для одержання сполуки формули I. Придатними сполуками формули (13) є сполуки, де R_1 , X_1 і X_2 мають значення, бажані в кінцевому продукті формули I, і добре відомі у практиці, в тому числі описані в патентній заявці PCT/US97/22986, поданій 22 грудня 1997р., а також у цьому описі. Придатна сполука формули

(13) може також мати стереохімічну структуру, бажану для кінцевого продукту формули I. Реакцію сполучення, показану на стадії 3, проводять із використанням кислоти формули (13) (сполуки, де A_1 є -OH) або галоїдангідриду такої кислоти (сполуки, де A_1 є -Cl або -Br) за методикою, аналогічною описаній для Схеми 1, стадія 1.

Альтернативний спосіб одержання сполук формули I показано на Схемі А, стадія 5, де ілюстрована реакція сполучення придатної сполуки формули (10) із придатною сполукою формули (14), $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)-NH-CHR}_2\text{-C(O)-A}_2$, із безпосереднім одержанням сполуки формули I. Придатною сполукою формули (10) є сполука, описана на стадії 2. Придатною сполукою формули (14) є сполука, де R_1 , R_2 , X_1 і X_2 мають значення, бажані в кінцевому продукті формули I. Відповідною сполукою формули (14) є також сполука, що має стереохімічну структуру, бажану для кінцевого продукту формули I.

Сполуки формули (14) легко одержати шляхом сполучення амінокислот із захищеною карбоксильною групою, $\text{H}_2\text{N-CHR}_2\text{-C(O)OPg}_1$, зі сполуками формули (13), описаними вище. Такі реакції сполучення також добре відомі в практиці і дають продукти, які після відщеплення групи захисту утворюють сполуки формули (14).

Цей винахід додатково ілюстрований поданими нижче прикладами та препаративними методиками. Ці приклади та препаративні методики мають лише ілюстративний характер і не призначені для будь-якого обмеження обсягу винаходу.

Терміни, вживані в згаданих прикладах та препаративних методиках, мають звичайні значення, за винятком спеціально вказаних випадків. Наприклад, "°C" означає градуси за Цельсієм; "ммоль" означає мілімоль або мілімоли; "г" означає грам або грами; "мл" означає мілілітр або мілілітри; "розсіл" означає насичений водний розчин хлориду натрію; "ТГФ" означає тетрагідрофуран; "PXBE" означає рідинну хроматографію високої ефективності (під високим тиском); тощо.

Приклад 1

Синтез 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону

До суспензії гідриду натрію (1,1екв.) в 15мл безводного ДМФ додавали 2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он (0,0042моль) у формі розчину в 10мл ДМФ. Потім додавали метилйодид (приблизно 2екв.). Після завершення реакції, посвідченого ТШХ (хроматографією в тонкому шарі), реакційну суміш виливали на лід і екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали водою, а потім розсоллом. Потім органічний шар сушили над Na_2SO_4 , фільтрували й концентрували під зниженим тиском. Залишок очищали PXBE (LC 2000) при елююванні системою етилацетат/гексан і одержували 3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он.

3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он (1екв.) розчиняли в ТГФ і додавали ізоамілінітрил (1,2екв.). Охолоджували суміш до 0°C у бані з льодом. Додавали крапля за краплею NaHMS (1,1екв., 1Mb ТГФ). Після перемішування протягом 1год або до завершення реакції суміш концентрували, а потім підкислювали 1Н. водною хлористо-

водневою кислотою й екстрагували етилацетатом. Органічний шар сушили й концентрували, одержуючи неочищений продукт, який очищали хроматографією на силікагелі й одержували 1-гідроксііміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он. Мас-спектр (M+H)⁺ 205,1.

1-гідроксііміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он розчиняли в EtOH/NH₃ (20:1) і гідрували в автоклаві із застосуванням нікелю Ренея і водню (500 фунтів на кв. дюйм, 3447 кПа) при 100°C протягом 10 год. Одержану суміш фільтрували й концентрували, одержуючи масло, яке очищали хроматографією на силікагелі й одержували сполуку, вказану в заголовку.

Приклад 2

Синтез 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону

У посудину Мортон місткістю 20л завантажували МТБЕ (5,52л, 7 об'ємів) і диметилацеталь (N-метиламіно)-ацетальдегід (614г, 5моль) і одержували розчин при кімнатній температурі. Додавали в реакційну посудину Мортон розчин бікарбонату натрію, приготований шляхом додавання бікарбонату натрію (546г, 6,5моль) до води (6,31л, 8 об'ємів). Одержану суміш охолоджували до температури нижче ніж 10°C і додавали до охолодженої суміші крапля за краплею протягом 1год розчин фенілацетилхлориду (789г, 5моль) в МТБЕ (789мл). Після завершення додавання реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1год. На цей час аналіз методом РХВЕ посвідчив завершення реакції. Після екстракції МТБЕ (4 об'єми), висушування над безводним сульфатом магнію й концентрування в роторному випарнику одержано 1,187кг (98%) N-метил-N-(2,2-диметоксіетил)фенілацетаміду у вигляді рідини. (M+H)⁺=237,9.

У посудину Мортон місткістю 5л завантажували в сильному потоці азоту H₂SO₄ (1,42л) і крапля за краплею додавали в реакційну посудину N-метил-N-(2,2-диметоксіетил)фенілацетамід (712г, 3моль), при цьому за рахунок тепла реакції температура суміші підвищувалася на 22-78°C. Одержану реакційну суміш потім нагрівали при 110°C протягом 3год, після чого охолоджували до кімнатної температури і переносили в посудину Мортон місткістю 20л. При температурі нижче ніж 10°C реакційну суміш гасили водним розчином гідроксиду натрію (9,18л, 5н.). Після екстракції етилацетатом (двічі по 2,85л), висушування над сульфатом натрію й концентруванням досуха одержано 520г (73,5%) 3-метил-6,7-дигідро-2Н-3-бензазепін-2-ону у вигляді твердої речовини. Цей матеріал можна з метою додаткового очищення перекристалізувати з МТБЕ, одержуючи твердий продукт із т.пл. 81-82°C; (M+H)⁺=174,2.

Розчин 3-метил-6,7-дигідро-2Н-3-бензазепін-2-ону (113,8г, 0,657моль) в ТГФ (0,5л) охолоджували до 0°C і додавали крапля за краплею ізоамілінітри (100,75г, 0,86моль). До одержаної суміші додавали LiHMDS (854мл, 1М розчин в ТГФ, 0,854моль) із такою швидкістю, щоб температура залишалася нижче 10°C. Після завершення додавання реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2-3год, контролюючи хід реакції за допомогою РХВЕ. Після завершення реакції суміш

охолоджували до 0°C і знижували рН з 12 до 2-3, застосовуючи водну HCl (2н.). Одержаний осад перемішували протягом 12-16год, після чого відділяли фільтруванням і сушили, одержуючи 86,3г (64,9%) 1-гідроксііміно-3-метил-6,7-дигідро-2Н-3-бензазепін-2-ону; т.пл. 225-226°C; (M+H)⁺=203,0.

Розчин 1-гідроксііміно-3-метил-6,7-дигідро-2Н-3-бензазепін-2-ону (35г, 0,173моль) в етанолі (525мл) завантажували в автоклав разом із паладієм на вугіллі (10%, 3,5г) у формі суспензії у розбавленій HCl (17,5г концентрованої водної HCl в 17мл води). Одержану суміш гідрували при 50°C і тиску водню 250 фунтів на кв. дюйм (1723кПа) до завершення реакції. Реакційну суміш фільтрували через шар целіту, використовуючи етанол як розчинник, і концентрували фільтрат до об'єму 90мл. Додавали до концентрату воду (350мл) і знов концентрували одержаний розчин до об'єму приблизно 200мл. До цього водного розчину додавали дихлорметан (350мл), після чого доводили рН до 11-11,5 водним розчином гідроксиду натрію (1н.). Органічну фазу відділяли, а водну фазу екстрагували дихлорметаном (175мл). Об'єднані екстракти концентрували, одержуючи залишок, який при стоянні кристалізувався, і одержували сполуку, вказану в заголовку: т.пл. 69-81°C; (M+H)⁺=191,0.

Приклад 3

Синтез 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону

У посудину Мортон місткістю 22л завантажували дихлорметан (4,73л, 8 об'ємів), N-метилфенетиламін (591г, 4,33моль) і водний розчин бікарбонату натрію (436,7г, 5,2ммоль) в 4,73л води). Одержану суміш охолоджували до температури нижче ніж 5°C і додавали до охолодженої суміші крапля за краплею розчин хлорацетилхлориду (513,7г, 4,55моль) у дихлорметані (887мл) на протязі 70хв. Після завершення додавання аналіз методом РХВЕ посвідчив завершення реакції. Розділяли шари й екстрагували водний шар дихлорметаном. Об'єднані органічні фази сушили над безводним сульфатом магнію і концентрували в роторному випарнику; одержано 915,7г (99,8%) N-метил-N-(2-фенілетил)-1-хлорацетаміду: (M+H)⁺=212,1.

У посудину місткістю 12л в атмосфері азоту завантажували N-метил-N-(2-фенілетил)-1-хлорацетамід (883,3г, 4,17моль) і орто-дихлорбензол (6,18л). Додавали хлористий алюміній (1319г, 10,13моль), при цьому за рахунок тепла реакції температура суміші підвищувалася на 22-50°C. Одержану реакційну суміш потім нагрівали при 165°C протягом 2,5год, після чого охолоджували до кімнатної температури на протязі приблизно 14год. Охолоджували реакційну суміш приблизно до 0°C і додавали до холодної води (8,86л, приблизно 5°C) чотирма частинами з метою підтримувати температуру, яка підвищується за рахунок тепла реакції, на рівні приблизно 40°C. Розділяли шари, водний шар екстрагували дихлорметаном (7,07л) і знов розділяли шари. Органічні шари об'єднували й екстрагували водною хлористоводневою кислотою (8,83л, 1н.), а потім насиченим водним розчином бікарбонату натрію (7,07л), сушили над сульфатом магнію, змішували із силікагелем (883г) і вносили в колонку із силікагелем

(3,53кг, колонка з пористим скляним фільтром, заповнення за допомогою суспензії в дихлорметані). Через колонку пропускали як елюент дихлорметан до об'єму елюату 25л, а потім етилацетат для елюювання продукту. Фракцію, що містила продукт, випарювали й одержували 3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он у вигляді жовтувато-коричневої твердої речовини в кількості 608г (83%).

У посудину місткістю 22л в атмосфері азоту завантажували 3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он (606г, 3,46моль) і ізоамілітрит (543г, 4,5моль) в ТГФ (7,88л). Суміш охолоджували приблизно до 0°C і додавали LiHMDS (1н. розчин в ТГФ, 4,5л, 4,5моль) із такою швидкістю, щоб температура залишалася нижче приблизно 7°C. Після завершення додавання реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом приблизно 2год, контролюючи хід реакції за допомогою РХВЕ. Після завершення реакції суміш охолоджували приблизно до 0°C і знижували рН із 12 до 2-1, застосовуючи водну HCl (2н.) Одержаний осад перемішували протягом приблизно 6год, після чого відділяли фільтруванням і сушили, одержуючи 1-гідроксіміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он (604,7г, 85,6%).

Розчин 1-гідроксіміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону (625г, 3,06моль) в етанолі сорту 3А (15,6л) завантажували в автоклав разом із паладієм на вугіллі (10%, 120г) у формі суспензії в розбавленій HCl (312г концентрованої водної HCl у 320мл води). Одержану суміш гідрували при 50°C і тиску водню 250 фунтів на кв. дюйм (1723кПа) при інтенсивному перемішванні до завершення реакції (приблизно 4год). Реакційну суміш фільтрували через шар целіту, використовуючи етанол як розчинник, і концентрували фільтрат, одержуючи тверду речовину. Цей твердий продукт обробляли дихлорметаном (6л) і додавали 1н. водний розчин гідроксиду натрію до значення рН водного шару в межах 11-11,5. Суміш перемішували, розділяли шари й екстрагували водний шар дихлорметаном (2л). Органічні шари сушили над сульфатом магнію, фільтрували й випарювали в роторному випарнику, одержуючи сполуку, вказану в заголовку (477г, 81,9%).

Приклад 4

Синтез (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону

1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он (1,544г, 8,12ммоль) обережно нагрівали в 15мл метанолу до розчинення. У другій склянці розчиняли ди-п-толуїл-L-винну кислоту (3,12г, 8,08ммоль) в 15мл метанолу й одержаний розчин додавали за допомогою піпетки до теплого розчину аміну. Після випадання твердого продукту в осад суміш підігрівали. Додавали ще 30мл метанолу для одержання розчину, який нагрівали зі зворотним холодильником протягом 30-40хв, а потім повільно охолоджували до температури навколишнього середовища, при цьому утворювався твердий продукт. Після перемішування протягом приблизно 18год цей продукт відділяли фільтруванням і промивали невеликою кількістю охолодженого метанолу. Одержано 2,24г солі (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-

2-ону і ди-п-толуїл-L-винної кислоти (вихід 96%, ee 94,7%).

Сіль (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону і ди-п-толуїл-L-винної кислоти (11,83г, 20,5ммоль) розчиняли в 45мл 1,0н. водного розчину гідроксиду натрію й екстрагували хлористим метилом (тричі по 25мл). Об'єднані розчини в хлористому метилени промивали 35мл 1,0н. водного розчину гідроксиду натрію, потім розсолон і сушили над безводним MgSO₄. Після видалення розчинника у вакуумі одержано сполуку, вказану в заголовку (3,38г) у вигляді безбарвного масла (вихід 87%, ee 93,2%).

Приклад 5

Синтез (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он (6,0г, 31,5ммоль) обережно нагрівали в 75мл метанолу для розчинення і поєднували з розчином ди-п-толуїл-L-винної кислоти (12,2г, 31,5ммоль) в 75мл теплого метанолу. В розчин вносили затравку, причому утворювався твердий продукт. Додавали ще 100мл метанолу і перемішували суміш. Після перемішування протягом приблизно 18год твердий продукт відділяли фільтруванням і промивали невеликою кількістю охолодженого метанолу. Одержано 6,7г твердої речовини. Цю речовину змішували з метанолом (200мл) і перемішували. Через 18год відділяли твердий продукт, одержуючи сіль (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону і ди-п-толуїл-L-винної кислоти (4,4г). Виділення основи за методикою, описаною в Прикладі 4, дало сполуку, вказану в заголовку (ee 96%).

Приклад 6

Синтез (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону В апараті місткістю 22л нагрівали в атмосфері азоту 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-он (438г, 2,3моль) приблизно до 40°C для одержання його розчину в метанолі (4,38л). У другій посудині розчиняли ди-п-толуїл-L-винну кислоту (889,7г, 2,3моль) в 4,38л метанолу, одержаний розчин нагрівали приблизно до 40°C і додавали до нього розчин 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону. Продовжували нагрівання і додавали ще 6,13л метанолу, після чого суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом приблизно 45хв, а потім повільно охолоджували до температури навколишнього середовища, причому утворювався твердий продукт. Після перемішування протягом приблизно 18год цей продукт відділяли фільтруванням і промивали невеликою кількістю маточного розчину, сушили на повітрі і промивали приблизно 2л етилацетату. Одержано 561,6г солі (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону і ди-п-толуїл-L-винної кислоти. Змішували сіль (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-3-бензазепін-2-ону і ди-п-толуїл-L-винної кислоти, дихлорметан (6,57л) і 1н. водний розчин гідроксиду натрію (6,57л) і перемішували. Розділяли шари і двічі екстрагували органічний шар 1н. водним розчином гідроксиду натрію (3,28л), один раз розсолон (2,46л), сушили над сульфатом магнію, фільтрували й випарювали в роторному випарнику. Одержано сполуку, вказану в заголовку (250г,

57,4%, ee 94,1%).

Приклад 7

Синтез гідрохлориду (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону

1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он (31,9г, 168ммоль) суспендували приблизно в 300мл ізопропілацетату і нагрівали до 45°C. В окремій посудині нагрівали (R)-(-)-D-мигдалеву кислоту (25,0г, 164ммоль) приблизно в 130мл ізопропілового спирту до утворення розчину і додавали цей розчин до вищезгаданої суспензії 1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону в ізопропілацетаті, одержуючи розчин, з якого швидко випадав осад. Суміш перемішували при 45°C протягом приблизно 3год. До теплового розчину додавали 5-нітросаліциловий альдегід (2-гідрокси-5-нітробензальдегід) (1,40г, 8,38ммоль, 5% (моль)) і перемішували суміш при 45°C. Приблизно через 14год суспензію охолоджували до температури навколишнього середовища і перемішували протягом 2год, після чого відділяли твердий продукт фільтруванням, промивали 70мл охолодженого ізопропілацетату і сушили у вакуумній шафі при 40°C. Одержано 46,62г солі (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону і (R)-мигдалевої кислоти (вихід 82,9%, ee 98,4%).

Сіль (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону і (R)-мигдалевої кислоти (2,42г, 7,06ммоль, ee 98,4%) суспендували в 25мл етилацетату при температурі навколишнього середовища. Додавали концентровану водну хлористоводневу кислоту (1,1мл, приблизно 11,2ммоль) і при інтенсивному перемішуванні нагрівали суміш при 50°C протягом 3,5год. Охолоджували суспензію до температури навколишнього середовища, фільтрували й промивали осад метил-трет-бутиловим простим ефіром (приблизно 10мл). Одержано 1,48г сполуки, вказаної в заголовку (вихід 92,5%, ee 97,9%).

Приклад 8

Синтез (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону

У круглодонну колбу завантажували N-трет-Вос-Л-аланін (1,0екв.), гідрат гідроксибензотриазолу (приблизно 1,1екв.) і (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он (1,0екв.) в ТГФ в атмосфері азоту. До цієї суміші при ефективному перемішуванні додавали основу Хуніга (Hunig) (N,N-діізопропілетиламін, 1,1екв.), а потім EDC (1,1екв.). Після перемішування протягом 4-17год при температурі навколишнього середовища розчинник видаляли під зниженим тиском, залишок розчиняли в етилацетаті та воді, промивали насиченим водним розчином бікарбонату натрію, 1н. водною HCl, розсоллом, сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували й видаляли розчинник під зниженим тиском. Одержано 1-(N-трет-Вос-Л-аланініл)аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он: мас-спектр (M+H)⁺ 362,3.

Через перемішуваний розчин 1-(N-трет-Вос-Л-аланініл)аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону в 1,4-діоксані (0,03-0,09M), охолоджений у бані з льодом приблизно до 10°C в атмосфері N₂, пропускали протягом 10-15хв потік

газоподібного безводного HCl. Закривали колбу з розчином, відстороняли охолоджувальну баню і давали розчину нагріватися до температури навколишнього середовища при перемішуванні протягом 2-8год, контролюючи витрачання вихідного матеріалу за допомогою ТШХ. Розчин концентрували й одержували 1-(L-аланініл)-(S)-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он, який використовували без додаткового очищення.

1-(L-аланініл)-(S)-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он (1,0екв.), гідрат гідроксибензотриазолу (1,1екв.) і (S)-2-гідрокси-3-метилмасляну кислоту (1,0екв.) змішували в ТГФ в атмосфері азоту. Додавали-основу Хуніга (N,N-діізопропілетиламін, 1,1екв.), а потім EDC (1,1екв.). Після перемішування протягом 4-17год при температурі навколишнього середовища розчинник видаляли під зниженим тиском, залишок розчиняли в етилацетаті (або аналогічному розчиннику) та воді, промивали насиченим водним розчином бікарбонату натрію, 1н. HCl, розсоллом, сушили над безводним сульфатом натрію і видаляли розчинник під зниженим тиском, одержуючи сполуку, вказану в заголовку.

Приклад 9

Синтез (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону

У круглодонну колбу завантажували N-трет-Вос-Л-аланін (249,5г, 1,32ммоль), гідрат гідроксибензотриазолу (232,2г, 1,52ммоль) і (S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он (250,8г, 1,32ммоль) в ТГФ (3,76л) в атмосфері азоту. Суміш охолоджували до температури нижче ніж 5°C і додавали основу Хуніга (N,N-діізопропілетиламін, 188,4г, 1,45ммоль), а потім EDC (283,7г, 1,45ммоль). Після перемішування протягом 6год реакційну суміш нагрівали до температури навколишнього середовища і перемішували протягом приблизно 14год. Видаляли розчинник під зниженим тиском, залишок розчиняли в етилацетаті (3,76л) та воді (1,76л), розділяли шари, органічний шар екстрагували водою (1,76л), водні шари об'єднували й екстрагували етилацетатом (1,76л). Органічні шари об'єднували, екстрагували насиченим водним розчином бікарбонату натрію (1,76л), сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували й випарювали в роторному випарнику. Одержано 1-(N-трет-Вос-Л-аланініл)аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он (463г, 97,2%).

Готували розчин HCl в етилацетаті шляхом пропускання газоподібного безводного HCl через етилацетат (1,76л), охолоджений приблизно до 0°C, із використанням диспергувальної трубки, зануреної в рідину. Виготовлений таким чином розчин HCl в етилацетаті додавали до інтенсивно перемішуваної суспензії 1-(N-трет-Вос-Л-аланініл)аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону (462г, 1,28ммоль) в етилацетаті (3,7л). Додавали ще 1л етилацетату і давали реакційній суміші нагріватися до кімнатної температури і перемішували протягом 22год. Фільтрували реакційну суміш і одержували твердий продукт. Цей продукт суспендували в ацетонітрилі (5л), нагрівали до кипіння зі зворотним холодильником, після

чого охолоджували приблизно до 60°C, фільтрували й сушили осад, одержуючи 1-(L-аланініл)-(S)-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он (389,8г, 94,7%).

1-(L-аланініл)-(S)-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он (369,5г, 1,18моль), гідрат гідроксибензотриазолу (207,6г, 1,36моль), основу Хуніга (N,N-діізопропілетиламін, 352,2г, 2,71моль) і (S)-2-гідрокси-3-метилмасляну кислоту (140,6г, 1,18моль) змішували в ТГФ (4,8л) в атмосфері азоту і охолоджували до температури нижче ніж 5°C. Додавали EDC (253,7г, 1,3моль) і давали реакційній суміші нагріватися до температури навколишнього середовища при перемішуванні. Приблизно через 25год реакційну суміш розбавляли дихлорметаном (5,54л) і екстрагували водою (2,22л). Органічний шар екстрагували водою (2,22л), водні шари об'єднували й екстрагували дихлорметаном (5,54л). Органічні шари об'єднували, екстрагували двічі водою (2,22л), насиченим водним розчином бікарбонату натрію (2,22л), сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували й випарювали в роторному випарнику. Одержано сполуку, вказану в заголовку (428г, 100%).

Приклад 10

Синтез дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону

Твердий (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-он розчиняли в ацетоні (3,42л) і воді (0,856л) при слабкому нагріванні (40°C). Одержаний розчин ділили на порції об'ємом приблизно по 2л і додавали до кожної воду (7,19л) при нагріванні каламутного розчину до 50°C. Після додавання всієї води каламутному розчину давали охолотитися до температури навколишнього середовища й одержували твердий продукт, суспензію якого перемішували при температурі навколишнього середовища протягом приблизно 14год, після чого фільтрували й сушили, одержуючи сполуку, вказану в заголовку (310,6г, 66,2%).

При застосуванні сполуки згідно з цим винаходом як лікарського засобу її звичайно вводять в організм у формі фармацевтичної композиції. Таким чином, згідно з іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує фармацевтичні композиції, які містять ефективну кількість кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону та фармацевтично прийнятний розріджувач. Такі композиції застосовують для інгібування вивільнення β-амілоїдного пептиду та/або його синтезу, в тому числі при лікуванні хвороби Альцгеймера. Таким чином, цей винахід охоплює використання кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону для виготовлення лікарського засобу для інгібування вивільнення β-амілоїдного пептиду та/або його синтезу, зокрема, при лікуванні хвороби Альцгеймера.

Кристалічний дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону можна

вводити в організм різноманітними шляхами. Сполуку згідно з цим винаходом можна вводити в організм у будь-яких формах або різновидах, які забезпечують біодоступність сполуки в ефективній кількості, в тому числі пероральними та парентеральними шляхами. Наприклад, сполуку згідно з цим винаходом можна вводити в організм пероральним, інгаляційним, підшкірним, внутрішньом'язовим, внутрішньовенним, черезшкірним, назальним, ректальним, внутрішньоочним, місцевим шляхами, способом розсмоктування під язиком або за щокою тощо.

При виготовленні композицій згідно з цим винаходом активний інгредієнт звичайно змішують із наповнювачем, розбавляють наповнювачем або вміщують у носій, який може мати форму капсули, пакета-саше, паперового пакетика або іншого контейнера. Сполуку згідно з цим винаходом можна вводити в організм окремо або у формі фармацевтичної композиції, тобто в комбінації з фармацевтично прийнятними розріджувачами, наприклад, із носіями або наповнювачами, частка та природа яких визначаються розчинністю та хімічними властивостями згаданої сполуки, вибраного шляху введення та стандартною фармацевтичною практикою [дивись "Фармацевтичні науки" Ремінгтона - Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publ. Co., 1990].

Фармацевтичні композиції згідно з цим винаходом виготовляють способами, добре відомими у фармацевтичній практиці. Носієм або наповнювачем може бути твердий, напівтвердий або рідкий матеріал, який може бути носієм або середовищем для активного інгредієнта. Придатні для цього носії або наповнювачі добре відомі в практиці. Фармацевтична композиція може бути пристосована для перорального, інгаляційного, парентерального або місцевого застосування і може бути введена в організм пацієнта у формі таблеток, капсул, аерозолів, інгаляційних препаратів, супозиторіїв, розчинів, суспензій тощо.

Для цілей перорального терапевтичного застосування сполуки можуть бути поєднані з наповнювачами і застосовуватися у формі таблеток, пастилок, капсул, еліксирів, суспензій, сиропів, вафель, жувальних гумок тощо. Такі препарати мають містити щонайменше 4% сполуки згідно з цим винаходом як активний інгредієнт, проте його вміст може варіювати залежно від конкретної форми і може складати від 2% до приблизно 90% маси дозованої одиниці. Кількість згаданої сполуки, присутня в композиції, є такою, що забезпечує відповідне дозування. Композиції та препарати згідно з цим винаходом, яким слід віддавати перевагу, може визначити обізнаний фахівець.

Згадані таблетки, пілюлі, капсули, пастилки тощо можуть також містити одну або кілька перелічених нижче допоміжних речовин: в'язучі агенти, наприклад, мікрокристалічну целюлозу, камедь, трагант або желатин; наповнювачі, наприклад, крохмаль або лактозу; дезінтегратори, наприклад, альгінову кислоту, препарат "PrimoGel", кукурудзяний крохмаль тощо; зм'яцувальні агенти, наприклад, стеарат магнію, силіконове масло або препарат "Sterotex"; ковзні агенти, наприклад, колоїдний діоксид кремнію; та підсолоджувачі,

наприклад, сахарозу або сахарин, або ароматизатори та смакові домішки, наприклад, м'яту, метилсаліцилат або апельсиновий ароматизатор. Якщо формою дозованої одиниці є капсула, то вона може містити, окрім матеріалів вищезгаданих типів, рідкий носій, наприклад, поліетиленгліколь або нелетку олію. Інші форми дозованих одиниць можуть містити різноманітні інші матеріали, які модифікують фізичну форму дозованої одиниці, наприклад, у вигляді оболонки. Так, таблетки або пілюлі можуть мати оболонки з цукру, шелаку або інших покривних матеріалів. Сироп, окрім сполук згідно з винаходом, може містити сахарозу як підсолоджувач та деякі консерванти, фарбники та смакові домішки. Матеріали, використовувані при виготовленні згаданих різноманітних композицій, мають бути фармацевтично чистими й нетоксичними у застосовуваних кількостях.

Для цілей парентерального застосування сполука згідно з винаходом може бути введена в розчин або суспензію. Такі препарати, як правило, містять щонайменше 0,1% сполуки згідно з винаходом, проте її вміст може варіювати й складати від 0,1% до приблизно 90% маси композиції. Кількість згаданої сполуки, присутня в композиції, є такою, що забезпечує відповідне дозування. Згадані розчини або суспензії можуть також містити одну або кілька перелічених нижче допоміжних речовин: стерильні розріджувачі, наприклад, воду для ін'єкцій, сольовий розчин, нелеткі олії, поліетиленгліколі, гліцерин, пропіленгліколь або інші синтетичні розчинники; протимікробні агенти, наприклад, бензиловий спирт або метилпарабен; антиоксиданти, наприклад, аскорбінову кислоту або бісульфіт натрію; хелатоутворювальні агенти, наприклад, етилендіамінтетраоцтову кислоту; буферні сполуки, наприклад, ацетати, цитрати або фосфати; та агенти для забезпечення ізотонічності, наприклад, хлорид натрію або декстрозу. Парентеральні композиції можуть бути вміщені в ампули, одноразові шприци або багатодозові пляшечки, виготовлені зі скла або пластмаси. Композиції та препарати, яким слід віддавати перевагу, може визначити обізнаний фахівець.

Сполуку згідно з цим винаходом можна вводити в організм також місцевим способом; в такому разі носій може містити розчин, основу мазі або гелю. Згадана основа може містити, наприклад, одну або кілька таких речовин: вазелін, ланолін, поліетиленгліколі, бджолиний віск, мінеральне масло, розріджувачі, наприклад, воду або спирт, а також емульгатори та стабілізатори. Композиції для місцевого застосування можуть містити сполуку формули I або її фармацевтичну сіль у концентрації від приблизно 0,1% до приблизно 10% (маси на одиницю об'єму).

Іншою композицією згідно з цим винаходом, якій віддається перевага, є засоби для черезшкірного постачання ("пластирі"). Такі пластирі для черезшкірного постачання можна застосовувати для забезпечення безперервної або періодичної інфузії сполуки згідно з цим винаходом у контрольованих кількостях. Будова та застосування пластирів для черезшкірного постачання фармацевтичних агентів добре відомі в практиці. Дивись, наприклад, патент США №5,023,252, виданий 11

червня 1991р., включений до цього опису за посиланням. Такі пластирі можуть мати будову, розраховану на безперервне, імпульсне постачання фармацевтичних агентів або на їх уведення за потребою.

З метою більш повної ілюстрації здійснення цього винаходу нижче подано опис типових фармацевтичних композицій. Ці приклади є лише ілюстративними і не призначені для будь-якого обмеження обсягу винаходу.

Приклад композиції 1

Виготовляють тверді желатинові капсули, які вміщують такі інгредієнти:

Інгредієнт	Кількість, мг/капсулу
Активний інгредієнт	30,0
Крохмаль	305,0
Стеарат магнію	5,0

Вищезгадані інгредієнти змішують і заповнюють сумішню тверді желатинові капсули (по 340мг).

Приклад композиції 2

Композицію для таблеток виготовляють, застосовуючи такі інгредієнти:

Інгредієнт	Кількість, мг/таблетку
Активний інгредієнт	25,0
Целюлоза мікрористалічна	200,0
Колоїдний діоксид кремнію	10,0
Стеаринова кислота	5,0

Вищезгадані компоненти змішують і пресують у таблетки масою по 240мг кожна.

Приклад композиції 3

Композицію для інгаляції сухого порошку виготовляють, застосовуючи такі інгредієнти:

Інгредієнт	Маса, %
Активний інгредієнт	5
Лактоза	95

Активний інгредієнт змішують із лактозою, й одержану суміш уміщують у пристрій для інгаляції сухого порошку.

Приклад композиції 4

Таблетки з умістом у кожній 30мг активного інгредієнта виготовляють, як описано нижче:

Інгредієнт	Кількість, мг/таблетку
Активний інгредієнт	30,0
Крохмаль	45,0
Целюлоза мікрористалічна	35,0
Полівінілпіролідон (у формі 10%-ного розчину в стерильній воді)	4,0
Натрієва сіль карбоксиметильованого крохмалю	4,5
Стеарат магнію	0,5
Тальк	1,0
РАЗОМ	120

Активний інгредієнт, крохмаль та целюлозу пропускають через сито 20меш за стандартом США (розмір отворів 0,84мм) і ретельно перемішують. З одержаним порошком змішують розчин полівінілпіролідону і пропускають суміш через сито 16меш за стандартом США (розмір отворів 1,2мм). Одержані таким чином гранули сушать при 50-60°C і пропускають через сито 16меш за стандартом США. Натрієву сіль карбоксиметильованого крохмалю, стеарат магнію й тальк, попередньо

пропущені через сито 30меш за стандартом США (розмір отворів 0,6мм), додають до гранул і після перемішування пресують на таблетувальній машині в таблетки масою по 150мг кожна.

Приклад композиції 5

Капсули з умістом у кожній 40мг лікарської речовини виготовляють, як описано нижче:

Інгредієнт	Кількість, мг/капсулу
Активний інгредієнт	40,0
Крохмаль	109,0
Стеарат магнію	1,0
РАЗОМ	150,0

Активний інгредієнт, крохмаль та стеарат магнію змішують, пропускають через сито 20меш за стандартом США (розмір отворів 0,84мм) і заповнюють сумішшю тверді желатинові капсули (по 150мг).

Приклад композиції 6

Супозиторії з умістом у кожному 25мг активно-го інгредієнта виготовляють, як описано нижче:

Інгредієнт	Кількість
Активний інгредієнт	25
Гліцериди насичених жирних кислот до	2000

Активний інгредієнт пропускають через сито 60меш за стандартом США (розмір отворів 0,25мм) і суспендують у гліцериди насичених жирних кислот, попередньо розплавлених із застосуванням мінімальної необхідної кількості тепла. Потім суміш розливають у форму для супозиторіїв номінальною місткістю 2г і дають захолонуті.

Приклад композиції 7

Суспензію з умістом лікарської речовини 50мг у дозі 5мл виготовляють, як описано нижче:

Інгредієнт	Кількість
Активний інгредієнт	50,0мг
Ксантанова камедь	4,0мг
Натрієва сіль карбоксиметилцелюлози (11%)	50,0мг
Целюлоза мікрокристалічна (89%)	
Сахароза	1,75мг
Бензоат натрію	10,0мг
Ароматизатор та барвник	За потребою
Вода очищена до	5,0мл

Активний інгредієнт, сахарозу та ксантанову камедь змішують, пропускають через сито 10меш за стандартом США (розмір отворів 2,0мм), після чого змішують із попередньо приготованим розчином мікрокристалічної целюлози та натрієвої солі карбоксиметилцелюлози у воді. Бензоат натрію, ароматизатор і барвник розбавляють частиною води і додають при перемішуванні. Потім додають воду в кількості, необхідній для забезпечення бажаного об'єму.

Приклад композиції 8

Капсули з умістом у кожній 15мг лікарської речовини виготовляють, як описано нижче:

Інгредієнт	Кількість, мг/капсулу
Активний інгредієнт	15,0
Крохмаль	407,0
Стеарат магнію	3,0
РАЗОМ	425,0

Активний інгредієнт, крохмаль та стеарат магнію змішують, пропускають через сито 20меш за стандартом США (розмір отворів 0,84мм) і запов-

нюють сумішшю тверді желатинові капсули (по 560мг).

Приклад композиції 9

Композицію для підшкірного введення можна виготовити, як описано нижче:

Інгредієнт	Кількість
Активний інгредієнт	1,0мг
Кукурудзяна олія	1мл

Залежно від розчинності активного інгредієнта в кукурудзяній олії, в цю композицію в разі потреби можна вводити до приблизно 5,0мг або більше активного інгредієнта.

Приклад композиції 10

Композицію для місцевого застосування можна виготовити, як описано нижче:

Інгредієнт	Кількість
Активний інгредієнт	1-10г
Емульгаторний віск	30г
Вазелінове масло	20г
М'який безбарвний парафін	до100г

М'який безбарвний парафін нагрівають до розплавлення. Додають вазелінове масло та емульгаторний віск і перемішують до розчинення. Додають активний інгредієнт і продовжують перемішування до утворення дисперсії. Потім охолоджують суміш до затвердіння.

Згідно з одним із методичних аспектів, цей винахід стосується способу інгібування вивільнення β-амілоїдного пептиду та/або його синтезу, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такого інгібування, ефективної кількості кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону. Згідно з конкретним варіантом здійснення цього способу, цей винахід пропонує спосіб лікування хвороби Альцгеймера, який включає введення в організм пацієнта, що потребує такого лікування, ефективної кількості кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону.

Мається також на увазі, що обізнаний фахівець може вплинути на хворобу Альцгеймера шляхом лікування пацієнта, який на даний час уражений цим захворюванням, або ж шляхом профілактичного лікування пацієнта, у якого має місце ризик розвитку цього захворювання. Таким чином, терміни "лікування", "лікувати" стосуються усіх процесів, де може мати місце уповільнення, переривання, припинення, регулювання або затримання розвитку хвороби Альцгеймера, але не обов'язково вказують на повне усунення всіх симптомів. Таким чином, пропонувані способи охоплюють запобігання початку хвороби Альцгеймера у пацієнта, в якого має місце ризик розвитку хвороби Альцгеймера, інгібування розвитку хвороби Альцгеймера та лікування прогресуючої хвороби Альцгеймера.

Термін "пацієнт" у значенні, вживаному в цьому описі, стосується теплокровної тварини, наприклад, ссавця, яка уражена розладом, пов'язаним із підвищеним вивільненням β-амілоїдного пептиду та/або його синтезом, в тому числі хворобою Альцгеймера. Мається на увазі, що прикладами тварин, які охоплюються цим терміном, є морські сви-

нки, собаки, коти, пацюки, миші, коні, велика рогата худоба, вівці та люди. Пацієнтів, які потребують згаданого лікування, легко діагностувати.

Термін "ефективна кількість" сполуки формули I у значенні, вживаному в цьому описі, стосується кількості, яка забезпечує ефективне інгібування вивільнення β -амілоїдного пептиду та/або його синтезу і, особливо, лікування хвороби Альцгеймера.

Ефективну кількість легко визначити діагносту-куратору як обізнаному фахівцеві, шляхом застосування звичайних способів та спостереження результатів, одержаних в аналогічних випадках. При визначенні ефективної кількості - дози кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону - діагност-куратор має брати до уваги численні фактори, в тому числі (але не тільки) ефективність та характеристики (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону, вид пацієнта, його масу тіла, вік та загальний стан здоров'я; ступінь розвитку або тяжкість захворювання; індивідуальну реакцію пацієнта; шлях введення лікарського засобу; характеристики біодоступності застосовуваного препарату; обраний режим дозування; застосування інших способів лікування при комплексній терапії; та інші обставини.

Очікується, що ефективна кількість кристалічного дигідрату (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону варіює від приблизно 0,1мг на кілограм маси тіла на день (мг/(кг-день)) до приблизно 100мг/(кг-день). Кількості, яким слід віддавати перевагу, має визначати обізнаний фахівець.

Дигідрат (N)-((S)-2-гідрокси-3-метил-бутирил)-1-(L-аланініл)-(S)-1-аміно-3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1H-3-бензазепін-2-ону згідно з цим винаходом можна випробовувати в різноманітних біологічних системах, в тому числі в описаних нижче.

Приклад А

Скринінг на культурах клітин для виявлення інгібіторів продукування β -амілоїду

Численні сполуки вищезазначеної формули I випробовували для з'ясування їх здатності інгібувати продукування β -амілоїду в лінії клітин, що зазнали шведської мутації. При цьому скринінговому випробуванні застосовували клітини (K293, лінія клітин нирок людини), які були стабільно трансфоровані геном попередника амілоїду - протеїном 751 (APP751), що містив подвійну мутацію із заміною Lys₆₅₁Met₆₅₂ на Asn₆₅₁Leu₆₅₂ (нумерація APP751), способом, описаним у заявці на міжнародний патент №94/10569⁸ та в роботі Цитрона та ін.¹² (Citron et al.). Цю мутацію звичайно називають "шведською мутацією". Згадані клітини, позначені "293 751 SWE", висівали на 96-лункових планшетах "Corning" по 2.4×10^4 клітин на лунку в мінімальному необхідному середовищі за Дюльбекко (DMEM) (фірма Sigma, St. Louis, MO) із додаванням 10% сироватки плоду корови. Кількість клітин має важливе значення з точки зору досягнення результатів визначення β -амілоїду методом ELISA

(імуноферментного твердофазного аналізу), які лежать у лінійному діапазоні (від приблизно 0,2нг/мл до 2,5нг/мл).

Після інкубування протягом ночі при 37°C в інкубаторі з рівноважною атмосферою з вмістом CO₂ 10% живильне середовище видаляли, замінювали на 200мкл на лунку середовища, яке містило сполуку формули I (лікарську речовину), для 2-годинного попереднього оброблення, і інкубували клітини, як описано вище. Вихідні розчини лікарських речовин були виготовлені в 100%-ному диметилсульфоксиді з таким розрахунком, щоб при кінцевій концентрації лікарської речовини, застосованій при випробуванні, концентрація диметилсульфоксиду не перевищувала 0,5%, а реаль-но дорівнювала, як правило, 0,1%.

Після закінчення попереднього оброблення живильні середовища знов видаляли й замінювали на свіжі вищевказані середовища, що містили лікарські речовини, і інкубували клітини додатково протягом 2год. Після оброблення планшети центрифугували в центрифугі "Beckman GPR" при 1200об/хв протягом 5хв при кімнатній температурі для відділення залишків клітин від кондиціонованого середовища. По 100мкл кондиціонованого середовища з кожної лунки або відповідного розведення такого середовища переносили на планшет для ELISA, попередньо покритий антитілом 266 [див. С'юберт - P. Seubert, Nature (1992) 359:325-327] до амінокислот 13-28 β -амілоїдного пептиду, як описано в публікації міжнародної заявки №94/10569⁸, і зберігали при 4°C протягом ночі. Наступного дня виконували аналіз методом ELISA з застосуванням міченого антитіла 3D6 [P. Seubert, Nature (1992) 359:325-327] до амінокислот 1-5 β -амілоїдного пептиду для вимірювання кількості продукованого β -амілоїдного пептиду.

Цитотоксичний ефект згаданих сполук вимірювали модифікованим методом Гансена та інших (Hansen et al.) До клітин, які залишалися на планшеті з культурою тканини, додавали 25мкл вихідного розчину (5мг/мл) 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолійброміду (MTT) (фірма Sigma, St. Louis, MO) до кінцевої концентрації 1мг/мл. Інкубували клітини при 37°C протягом 1год і припиняли активність клітин додаванням рівного об'єму буфера лізису MTT (20% (мас.) додецилсульфату натрію на об'єм 50%-ного диметилформаміду, рН 4,7). Повну екстракцію забезпечували струшуванням протягом ночі при кімнатній температурі. Різницю між значеннями оптичної густини на довжинах хвиль 562нм і 650нм (OD_{562 нм} і OD_{650 нм}) як індикатор життєздатності клітин вимірювали із застосуванням пристрою для зчитування мікропланшетів UV_{max} фірми "Molecular Device".

Результати визначення β -амілоїдного пептиду методом ELISA зіставляли зі стандартною кривою і виражали як концентрацію β -амілоїдного пептиду в нг/мл. З метою нормалізації на цитотоксичність ці результати ділили на результати проби з MTT і виражали в процентах від результатів для контрольних проб, які не містили лікарських речовин. Усі результати є середніми значеннями для щонайменше шести паралельних проб із визначенням стандартного відхилення.

Приклад В

Пригнічення вивільнення та/або синтезу β -амілоїдного пептиду *in vivo*

Цей приклад ілюструє можливий спосіб випробування сполук згідно з цим винаходом на пригнічення вивільнення та/або синтезу β -амілоїдного пептиду *in vivo*. Для цих дослідів використовували мишей лінії PDAPP [Гейме та інші - Games et al., Nature 373:523-527, 1995] у віці 3-4 місяців. Залежно від конкретної випробовуваної сполуки, її розчин звичайно готували в концентрації від 1мг/мл до 10мг/мл. У зв'язку з низькою розчинністю згаданих сполук, їх розчини можна готувати із застосуванням різних носіїв, наприклад, кукурудзяної олії (фірма Safeway, South San Francisco, CA); 10% етанолу в кукурудзяній олії; 2-гідроксипропіл- β -циклодекстрині (фірма Research Biochemicals International, Natick, MA) та карбоксиметилцелюлозі (фірма Sigma Chem. Co., St. Louis, MO).

Мишам вводили випробовувані речовини підшкірно із застосуванням голки 26 калібру. Через 3год тварин умертвляли за допомогою CO_2 і відбирали проби крові шляхом серцевої пункції із застосуванням туберкулінового шприца місткістю 1см³ і голки 25 калібру довжиною 5/8 дюйма (16мм), попередньо промитих розчином ЕДТА (0,5 М, рН 8,0). Кров переносили у вакутейнер Бектона-Дікінсона, який містив ЕДТА, і центрифугували при 1500×g протягом 15хв при 5°C. Потім видаляли мозки мишей, відділяли кору та гіпокамп і зберігали на льоду.

1. Дослідження мозку

Для підготовки тканин гіпокампу та кори до імуноферментного твердофазного аналізу (ELISA) кожну згадану частину мозку гомогенізували в 10 об'ємах охолодженого льодом гуанідинового буферу (5,0М гуанідин- HCl , 50мМ Трис- HCl , рН 8,0), застосовуючи механічну ступку "Kontes" (фірма Fisher, Pittsburgh, PA). Гомогенати злегка струшували на обертовій платформі протягом 3-4год при кімнатній температурі і зберігали при -20°C до виконання кількісного аналізу на β -амілоїд.

Гомогенати мозку розводили (1:10) охолодженим льодом казеїновим буфером (0,25% казеїну, сольовий розчин із фосфатним буфером (PBS), 0,05% азиду натрію, 20мкг/мл апротиніну, 5мМ ЕДТА, рН 8,0, 10мкг/мл лейпептину), знижуючи тим самим кінцеву концентрацію гуанідину до 0,5М, після чого центрифугували при 4°C протягом 20хв при 16000×g. В разі потреби проби додатково розводили казеїновим буфером із доданням 0,5М гуанідин-гідрохлориду з метою досягнення оптимального діапазону концентрацій для визначень методом ELISA. Готували стандартні проби β -амілоїду (амінокислоти 1-40 або 1-42) таким чином, щоб кінцевий склад був еквівалентний 0,5М гуанідину в присутності 0,1% бичачого сироваткового альбуміну (BSA).

Реагент для визначення загального β -амілоїду методом сендвічевого ELISA, який забезпечує кількісний аналіз як β -амілоїду (амінокислоти 1-40), так і β -амілоїду (амінокислоти 1-42), складається із двох моноклональних антитіл (mAb) до β -амілоїду. Антитіло захоплення, 266 [P. Seubert, Nature (1992) 359:325-327] є специфічним до амінокислот 13-28 β -амілоїду. Антитіло 3D6 [Джонсон-

Буд та інші - Johnson-Wood et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 94:1550-1555, 1997], специфічне до амінокислот 1-5 β -амілоїду, біотинілували і використовували в аналізі як репортер-антитіло. При біотинілуванні 3D6 застосовували методику виробника (фірми Pierce, Rockford, IL) для мічення імуноглобуліну NHS-біотином за тим винятком, що як буфер використовували 100мМ розчин бікарбонату натрію, рН 8,5. Антитіло 3D6 не розпізнає ні продукований протеїн-попередник амілоїду (APP), ні повну послідовність APP, а детектує лише різновид β -амілоїду з амінотермінальною аспарагіновою кислотою. Аналіз має нижню границю чутливості приблизно 50пг/мл (11пМ) і не виявляє перехресної реакційної здатності відносно ендогенного муринового β -амілоїдного пептиду в концентраціях до 1нг/мл.

В конфігурації сендвічевого кількісного визначення β -амілоїду (амінокислоти 1-42) методом ELISA як антитіло захоплення використовували mAb 21F12 [Johnson-Wood et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 94:1550-1555, 1997], яке розпізнає амінокислоти 33-42 β -амілоїду. Біотильоване антитіло 3D6 використовували як репортер-антитіло також і в цьому аналізі, який має нижню границю чутливості приблизно 125пг/мл (28пМ).

Антитіла захоплення 266 та 21F12 наносили в концентрації 10мкг/мл на 96-лункові планшети для імуного аналізу (фірми Costar, Cambridge, MA) і інкубували протягом ночі при кімнатній температурі. Потім планшети піддавали аспірації і блокували 0,25%-ним розчином сироваткового альбуміну людини в PBS-буфері протягом щонайменше 1год при кімнатній температурі, після чого зберігали у висушеному вигляді при 4°C до використання. Перед використанням планшети знову зволожували промивальним буфером (сольовим розчином із Трис-буфером, 0,05% Tween-20). На планшети наносили проби та стандартні зразки й інкубували протягом ночі при 4°C. Після кожної стадії аналізу планшети тричі промивали промивальним буфером. Біотинільоване антитіло 3D6, розведене до концентрації 0,5мкг/мл інкубаційним казеїновим буфером (0,25% казеїну, PBS, 0,05% Tween-20, рН 7,4), інкубували в лунках протягом 1год при кімнатній температурі. Додавали в лунки авідин-HRP (фірма Vector, Burlingame, CA), розведений 1:4000 інкубаційним казеїновим буфером, і інкубували протягом 1год при кімнатній температурі. Додавали колориметричний субстрат Slow TMB-ELISA (фірма Pierce, Cambridge, MA) і витримували 15хв для проходження реакції, після чого припиняли ензиматичну реакцію додаванням 2н. H_2SO_4 . Продукт реакції кількісно визначали, застосовуючи пристрій UV_{max} (фірми Molecular Devices, Menlo Park, CA) для вимірювання різниці поглинання на довжинах хвиль 450нм і 650нм.

2. Дослідження крові

Оброблену ЕДТА плазму розводили 1:1 розріджувачем для проб (0,2г/л фосфату натрію- H_2O (одноосновного), 2,16г/л фосфату натрію- $\text{H}_2\text{H}_2\text{O}$ (двоосновного), 0,5г/л тимеросалу, 8,5г/л хлориду натрію, 0,5мл Тритон X-405, 6,0г/л бичачого сироваткового альбуміну, вільного від глобуліну; і вода). Проби та стандартні зразки в розріджувачі для проб аналізували на загальний уміст β -амілоїду

(266 як антитіло захоплення/3D6 як репортер) за методикою, описаною вище, за тим винятком, що замість казеїнових буферів застосовували розріджувач для проб.

На основі поданого вище опису обізнані фахі-

вці можуть вносити у згадані композиції та способи різноманітні модифікації та зміни. Мається на увазі, що винахід охоплює всі такі модифікації, які не виходять за межі обсягу пунктів формули винаходу.