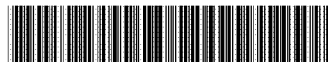




(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(21) Broj prijave:

HR P20030385A A2

HR P20030385A A2

(12) PRIJAVA PATENTA

(51) Int. Cl.⁷: **C 07 D 223/16**
A 61 K 31/55

(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR: 14.05.2003.

(43) Datum objave prijave patenta u HR: 31.08.2003.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US01/27795

Datum podnošenja međunarodne prijave 02.11.2001.

(87) Broj međunarodne objave: WO 02/40451

Datum međunarodne objave 23.05.2002.

(31) Broj prve prijave: 60/249,656

(32) Datum podnošenja prve prijave: 17.11.2000.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(71) Podnositelj prijave:

(72) Izumitelji:

Eli Lilly and Company, Lilly Corporate Center, Indianapolis, 46285 IN, US
Thomas Mitchell Koenig, 11867 Nirth Wildwood Lane, Camby, 46113 IN, US

James Edmund Audia, 6449 Lakeside Woods Circle, Indianapolis, 46278 IN, US

David Mitchell, 8728 Santana Lane, Indianapolis, 46278 IN, US

Stacey Leigh McDaniel, 5866 Volunteer Lane, Martinsville, 46151 IN, US

Lynne Ann Buccilli, 604 Kessler Boulevard East Drive, Indianapolis, 46220 IN, US

Gary Lowell Engel, 1984 Inverness Place, Greenwood, 46143 IN, US

Aikins James Abraham, 9230 West Fallcreek Drive, Pendleton, 46064 IN, US

(74) Punomoćnik:

Silvije HRASTE, Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: **SPOJ LAKTAMA**

(57) Sažetak: Ovaj izum opisuje kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on didihidrat, njegove pripravke i postupke za upotrebu istih, postupke za dobivanje istih, te postupke za dobivanje njegovih međuprodukata.

HR P20030385A A2

OPIS IZUMA**Područje izuma**

- 5 Ovaj izum odnosi se na polje farmaceutske i organske kemije i bavi se sa spojem koji inhibira otpuštanje i/ili sintezu β -amiloid peptida.

Pozadina izuma

- 10 Određeni laktami, koji inhibiraju otpuštanje i/ili sintezu β -amiloid peptida, a u skladu s tim, upotrebljivi su za liječenje Alzheimerove bolesti, opisani su u PCT prijavi br. PCT/US97/22986.

- 15 Ovaj izum opisuje novi kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat, pripravke koji ga sadrže, postupke upotrebe istih, postupke dobivanja istih i postupke za dobivanje njihovih međuspojeva. Kristalični dihidrat ovog izuma upotrebljiv je za inhibiciju otpuštanja i/ili sinteze β -amiloid peptida i/ili njegove sinteze, a u skladu s tim, upotrebljiv je za liječenje Alzheimerove bolesti.

- 20 Budući da je (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on upotrebljiv za liječenje Alzheimerove bolesti, postoji potreba za njegovom dobivanjem u čistom, stabilnom i kristaličnom obliku kako bi se udovoljilo zahtijevanim farmaceutskim zahtjevima i specifikacijama. Novi kristalični dihidrat ovog izuma ima prikladna svojstva za odgovarajuću formulaciju u komercijalnim razmjerima kao, na primjer, tablete za oralnu primjenu.

- 25 Postupak kojim se dobiva (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on također treba biti prikladan za izvođenje u tvorničkim razmjerima. U dodatku, produkt bi trebao biti u obliku koji se lako profiltrira, lako osuši i pohrani na uobičajeni način. Osim toga, taj kristalični dihidrat ima prikladna svojstva za postupanje s njim i pohranjivanje.

- 30 Otkriveno je da se (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on može dobiti u obliku dihidrata koji ima povoljna svojstva, a proizvodni postupak za novi oblik udovoljava željenim osobinama opisanim gore u tekstu.

Bit izuma

- 35 Ovaj izum opisuje (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat.

- 40 U drugoj izvedbi, ovaj izum opisuje farmaceutski pripravak koji uključuje (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat i farmaceutski prihvatljiv diluent.

- 45 U jednom od aspekata postupka, ovaj izum je usmjeren na postupak inhibicije otpuštanja i/ili sinteze β -amiloid peptida koji uključuje primjenu, na pacijentu koji ima takvu potrebu, djelotvorne količine (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata. U opširnijem postupku izvedbe, ovaj izum opisuje postupak liječenja Alzheimerove bolesti koji uključuje primjenu, na pacijentu koji ima potrebu za takvim liječenjem, djelotvorne količine (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata. Ovaj izum također opisuje postupak prevencije ili inhibicije napredovanja Alzheimerove bolesti koji uključuje primjenu, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata.

- 50 To će reći da ovaj izum opisuje upotrebu (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata u proizvodnji lijeka za inhibiciju otpuštanja i/ili sinteze β -amiloid peptida, uključujući postupak liječenja Alzheimerove bolesti.

- 55 U drugoj izvedbi ovaj izum opisuje postupak dobivanja (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata.

- 60 U drugoj izvedbi ovaj izum još opisuje i postupke dobivanja laktama, uključujući (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on i postupke za dobivanje njegovih međuprodukata.

Detaljan opis izuma

Kao što su upotrijebljeni ovdje, dolje navedeni izrazi imaju naznačena značenja:

Izraz "es" ili "enantiomerni suvišak" odnosi se na u kolikom postotak je jedan enantiomer, E_1 , u suvišku u smjesi oba enantiomera (E_1+E_2), izračunato prema formuli $((E_1-E_2)/(E_1+E_2)) \times 100\% = \text{es}$. Kao što je poznato u struci, enantiomerni suvišak može se odrediti kapilarnom elektroforezom i kiralnom HPLC analizom spojeva ili njihovih derivata.

Ovdje, Cahn-Prelog-Ingoldove oznake (R)- i (S)- i oznake L- i D- za stereokemiju odnose se na izomere gliceralehida i upotrijebljene su za označavanje specifičnih izomera.

Ovaj izum opisuje (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat, a posebno, kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat.

Dostupan je niz načina za označavanje kristaličnih oblika organskih spojeva. Primjerice jedan od načina uključuje diferencijalnu *scanning* kalorimetriju, NMR spektrometriju čvrstog stanja, infra-crvenu spektroskopiju i difrakciju praha X-zrakom. Među njima difrakcija praha X-zrakom i NMR spektroskopija čvrstog stanja jako su upotrebljive za identificiranje i razlikovanje između kristaličnih oblika.

Analize difrakcije praha X-zrakom izvode se kao što slijedi. Sa ili bez laganog mljevenja uzorka u ahatnom tarioniku pomoću tučka, uzorak se prenese u nosač uzoraka za mjerenje difrakcije praha X-zrakom. Difrakcijska struktura praha X-zrakom mjerena je upotrebom Siemens D5000 difraktometrom praha X-zrakom opremljenim s CuK_α izvorom ($R=1,54056\text{\AA}$) uz 50 kV i 40 mA upotrebom divergencijske pukotine veličine 1 mm, pukotine primanja od 1 mm i detekcijske pukotine od 0,1 mm. Svaki uzorak skenira se između 4° i 35° (2θ) s intervalom veličine 0,02 i maksimalnom brzinom skeniranja od 3 sek/intervalu. Podaci se prikupljaju upotrebom Kevex silicij litij detektora čvrstog stanja. Optimalno, silicijev standard propušta se rutinski kako bi se provjerila podešenost instrumenta.

Dobro je poznato u kristalografiji da, za bilo koji dani kristalični oblik, relativni intenzitet i širina pika za difrakcijske pikove može se razlikovati zbog nekoliko faktora, uključujući utjecaje preferirane orijentacije i/ili veličina čestice. Gdje su prisutni utjecaji preferirane orijentacije i/ili veličine čestice, intenzitet pika može biti promjenjiv, ali karakteristični položaji pika polimorfa su nepromjenjivi. Vidi, npr. The United States Pharmacopoeia #24, National Formulary #19, stranice 1843-1844, 2000.

Mljevenje se upotrebi da bi se minimalizirao intenzitet varijacija intenziteta pika nekih od difraktograma uključenih ovdje u tekstu. Međutim, ako mljevenje značajno promjeni difraktogram ili promjeni kristalično stanje uzorka, tada bi se trebao upotrijebiti difraktogram neusitnjenog uzorak. Mljevenje se izvede u malom ahatnom tarioniku pomoću tučka. Tarionik se pridržava tijekom mljevenja uz lagani pritisak na tučak.

Položaj pika dobiva se pomoću 2θ vrijednosti, a intenzitet pika za većinu prominentnih osobina (relativni intenzitet veći od 20%) mjeri se upotrebom postupka dvostruko-deriviranog odabira pika.

U skladu s tim, ovaj izum usmjeren je na kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat s karakterističnim vrijednostima difrakcije praha X-zrakom prikazanim u tablici 1, u kojoj su nabrojene 2θ vrijednosti i relativni intenziteti (I_0/I_{100}) veći od 20%, mjereni za neusitnjeni uzorak i za uzorak nakon 5 i 10 minuta mljevenja, a upotrebom postupka opisanog gore u tekstu s CuK_α radijacijom:

Tablica 1

neusitnjeni uzorak		uzorak nakon 5 min mljevenja		uzorak nakon 10 minuta mljevenja	
2 θ (°)	I ₀ /I ₁₀₀ (%)	2 θ (°)	I ₀ /I ₁₀₀ (%)	2 θ (°)	I ₀ /I ₁₀₀ (%)
8,361	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

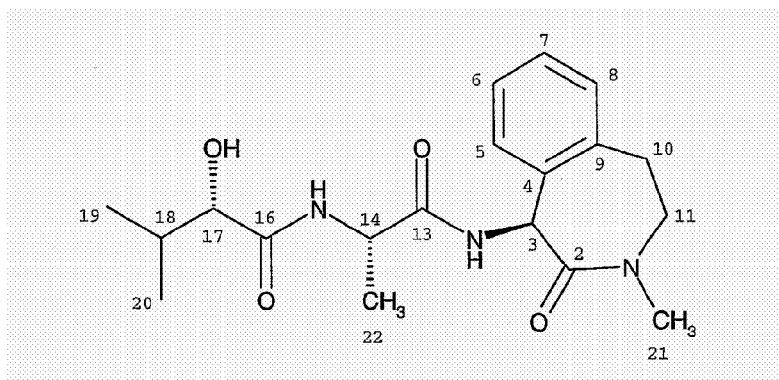
Intenziteti uzoraka mljevenih tijekom 5 i 10 minuta reprezentativnije su difrakcijske vrijednosti gdje se pokušao smanjiti utjecaj preferirane orijentacije i/ili veličine čestica. Također treba naznačiti da su navedeni brojevi dobiveni računalom i nisu zaokruženi na cijele brojeve.

Prema tome, dobro pripremljeni uzorak kristaličnog (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata može biti okarakteriziran difrakcijom X-zrakom s 2 θ vrijednostima upotrebom CuK α radijacije imajući pikove kao što je opisano u tablici 1, posebno pikovima na 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 ili 20,63; a napose pikovima na 8,36, 12,43 ili 15,34; pikovim na 8,36 i 12,43; 8,36 i 15,34; 8,36, 12,43 i 15,34; ili na 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 i 20,63.

Kristalični se (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat može također okarakterizirati NMR spektroskopijom čvrstog stanja. Kemijski pomak čvrstog stanja ^{13}C pokazuje ne samo molekularnu strukturu nego i elektronsko okruženje molekule u kristaličnom obliku.

NMR analiza čvrstog stanja (^{13}C) može se izvesti upotrebom ^{13}C križne polarizacije/magic angle spinning (CP/MAS). NMR (NMR čvrstog stanja ili SSNMR) spektar dobiva se upotrebom Varian Unity 400 MHz spektrometra koji radi na frekvenciji ugljika od 100,580 MHz, opremljen s potpunom dodatnom opremom za krutine i Varian 7 mm VT CP/MAS sondom. Dobiveni parametri su slijedeći: 90 proton r. f. puls širine 4,0 μs , vrijeme kontakta 1,0 ms, vrijeme pulsnog ponavljanja 5 s, MAS frekvencija 7,0 kHz, spektralna širina 50 kHz i dobiveno vrijeme 50 ms. Kemijski pomak je prema odnosu na metilnu skupinu vanjskog heksametilbenzena ($\delta=17,3$ ppm), koji je dobiven zamjenom uzorka s heksametilbenzenom.

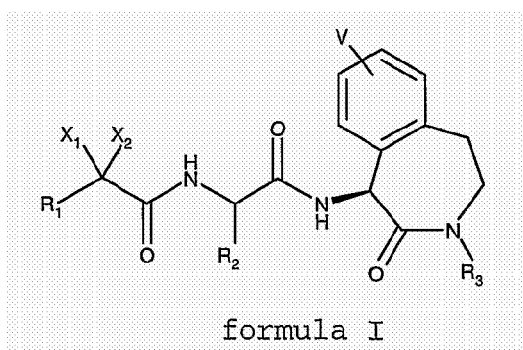
Rezultati kemijskog pomaka za (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat (temeljeni na prijenosu pika, dolje u tekstu) pokazani su u tablici 2.



Mjesto	Otopina u DMSO	Dihidrat (krutina)
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*

zvjezdice (*) označavaju pikove koji se pojavljuju u spektru sa smetnjama dvostrukog spajanja.

- 5 Prema tome, kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat može biti okarakteriziran čvrstim stanjem ¹³C nuklearne magnetne rezonance koja ima kemijski pomak (ppm) od 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 ili 16,6; osobito na 75,6, 35,3, 21,4 ili 16,6; bilo koja dva od 75,6, 35,3, 21,4 i 16,6; 75,6, 35,3, 21,4 i 16,6; ili na 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 i 16,6.
- 10 U drugoj izvedbi ovaj izum opisuje postupak dobivanja (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata koji uključuje kristalizaciju (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona iz vodenih otapala pod uvjetima koji daju (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat.
- 15 Točni uvjeti pod kojima nastaje (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat mogu biti empirijski određeni i jedino je moguće dati niz postupaka za koje je utvrđeno da su pogodni za primjenu.
- 20 Prema tome, na primjer, (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat može biti dobiven kristalizacijom pod kontroliranim uvjetima. Kristalizacija iz otopine i postupci zgušćivanja predviđeni su da su unutar cilja ovog postupka. Opširnije, dihidrat ovog izuma može se dobiti kristalizacijom iz vodenog otapala. Pogodno otapalo je takvo koje ima sposobnost da sadrži dovoljno vode, pri upotrijebljenim koncentracijama, dajući traženi dihidrat. Preferirana otapala su ona koja se miješaju s vodom, kao što su
- 25 aceton, niži alkoholi (kao metanol, etanol i izopropanol), octena kiselina i acetonitril. U praksi, ustanovljeno je da je pogodna vodena otopina acetona. Za dano vodeno otapalo količina upotrijebljene vode ovisit će o relativnoj topljivosti (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona u otapalu u usporedbi s vodom bilo da li je upotrijebljen postupak kristalizacije ili zgušćivanja.
- 30 Kristalizacija se općenito izvodi otapanjem (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona u vodnom otapalu i zatim dopuštanjem otopini da se ohladi, s ili bez dodatka vode, čime se dobiva krutina. Tipično, kristalizacija se izvede na inicijalnoj temperaturi od oko 40 °C uz povrat odabranog vodenog otapala. Smjesa se zatim ohladi dajući kristalični dihidrat. Uvođenje centara kristalizacije može biti prednost. Preferira se da se otopina za kristalizaciju ohladi polagano. Najprikladnije je da se otopina za kristalizaciju
- 35 ohladi s temperature okoline na temperaturu od oko -20 °C.
- U drugoj izvedbi ovog izuma još je i opisan postupak za dobivanje laktama, uključujući (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on, te postupci za dobivanje njegovih međuprodukata.
- 40 Točnije, u jednom postupku izvedbe, ovaj izum opisuje postupak za dobivanje laktama prikazanih formulom I



pri čemu

R_1 je alkil, alkenil, alkinil, cikloalkil, cikloalkenil, supstituirani alkil, supstituirani alkenil, supstituirani alkinil, supstituirani cikloalkil, supstituirani cikloalkenil, aril, heteroaril i heterocikl;

R_2 je alkil, supstituirani alkil, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, cikloalkil, aril, heteroaril i heterocikl;

R_3 je alkil,

X_1 je vodik, hidroksi ili fluor,

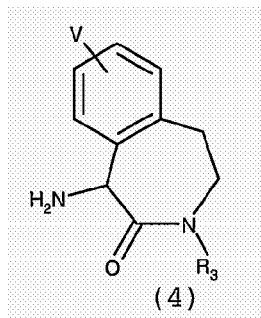
X_2 je vodik, hidroksi ili fluor,

X_1 i X_2 zajedno daju okso skupinu; i

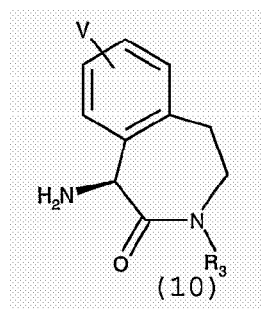
V je od 1 do 3 skupine neovisno odabrane iz skupine koju čine vodik, hidroksi, acil, aciloksi, alkil, supstituirani alkil, alkoksi, supstituirani alkoksi, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, amino, aminoacil, alkaril, aril, ariloksi, karboksil, karboksilalkil, cijano, halo, nitro, heteroaril, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi i trihalometil;

uključujući:

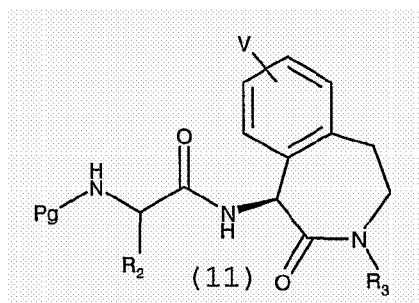
(a1) rastvaranje laktama prikazanog formulom (4)



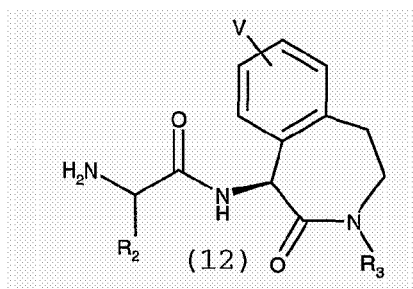
pri čemu R_3 i V su kao što su opisani za spoj prikazan formulom I, njegovom frakcionalnom kristalizacijom s frakcionalnom kristalizacijom njegovih dibenzoiltartrata, (R)-(-)-10-kamforsulfonske kiseline i soli (D)-(-)-bademove kiseline, čime se dobiva spoj prikazan formulom (10)



(b) povezivanje s odgovarajućom aminokiselinom sa zaštićenom amino skupinom prikazanom formulom $\text{PgNH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ gdje R_2 je kao što je opisan za spoj prikazan formulom I, A je aktivirajuća skupina, na primjer, -OH, -Br ili -Cl, a Pg je zaštitna skupina amina, čime se dobiva spoj prikazan formulom (11)



(c) uklanjanje zaštite spoja prikazanog formulom (11) čime se dobiva spoj prikazan formulom (12); i



(d) povezivanje spoja prikazanog formulom (12) s odgovarajućim spojem prikazanim formulom $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)A}_1$ gdje R_1 , X_1 i X_2 su kao što su opisani za spoj prikazan formulom I, a A_1 je aktivirajuća skupina, na primjer -OH, -Br ili -Cl; ili

(a2) povezivanje spoja prikazanog formulom (10) sa spojem prikazanim formulom $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)NH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ gdje R_1 , R_2 , X_1 i X_2 su kao što su opisani za spoj prikazan formulom I, a A je aktivirajuća skupina, na primjer -OH, -Br ili -Cl.

Kao što su upotrijebljeni ovdje, izrazi dolje u tekstu imaju navedena značenja:

"Alkil" se odnosi na monovalentne alkilne skupine koje u pogodnoj izvedbi imaju od 1 do 10 atoma ugljika, a u pogodnijoj 1 do 6 atoma ugljika. Ovaj izraz je prikazan primjerima skupina kao što su metil, etil, n-propil, izo-propil, n-butil, izo-butil, n-heksil i slično.

Izraz "C₁-C₄ alkil" odnosi se na monovalentne alkilne skupine koje preferirano imaju od 1 do 4 atoma ugljika. Ovaj izraz je prikazan primjerima skupina kao što su metil, etil, n-propil, izo-propil, n-butil, izo-butil, sek-butil i terc-butil.

"Supstituirani alkil" odnosi se na alkilnu skupinu, preferirano od 1 do 10 atoma ugljika koja ima od 1 do 5 supstituenata, a pogodno 1 do 3 supstituenata odabrana iz skupine koju čine alkoksi, supstituirani alkoksi, cikloalkil, supstituirani cikloalkil, cikloalkenil, supstituirani cikloalkenil, acil, acilamino, aciloksi, amino, aminoacil, aminoaciloksi, cijano, halogen, hidroksil, karboksil, keto, tioketo, karboksilalkil, tiol, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, aril, ariloksi, heteroaril, heteroariloksi, heterocikl, hidroksiamino, alkoksiamino, nitro, -SO-alkil, -SO-supstituirani alkil, -SO-aril, -SO-heteroaril, -SO₂-alkil, -SO₂-supstituirani alkil, -SO₂-aril, SO₂-heteroaril, mono- i di-alkilamino, mono- i di-(supstituirani alkil)amino, mono- i di-arilamino, mono- i di-heteroarilamino, mono- i di-heterociklični amin i nesimetrični di-supstituirani amini koji imaju različite supstituente odabrane iz skupine koju čine alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril i heterocikl.

"Alkilen" se odnosi na divalentne alkilenske skupine koje pogodno imaju od 1 do 10 atoma ugljika, a pogodnije 1 do 6 atoma ugljika. Ovaj izraz je prikazan primjerima skupina kao što su metilen (-CH₂-), etilen (-CH₂CH₂-), propilenski izomeri (npr., -CH₂CH₂CH₂ i -CH(CH₃)CH₂-) i slično.

"Supstituirani alkilen" se odnosi na alkilensku skupinu, koju pogodno čine od 1 do 10 atoma ugljika, koja ima od 1 do 3 supstituenata odabrana iz skupine koju čine alkoksi, supstituirani alkoksi, acil, acilamino, aciloksi, amino, aminoacil, aminoaciloksi, cijano, halogen, hidroksil, karboksil, keto, tioketo, karboksilalkil, tiol, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, aril, heteroaril, heterocikl, nitro, mono- i di-alkilamino, mono- i di-(supstituirani alkil)amino, mono- i di-arilamino, mono- i di-heteroarilamino, mono- i di-heterociklički amino i nesimetrični di-supstituirani amini koji imaju različite

supstituente odabrane iz skupine koju čine alkil, -supstituirani alkil, aril, heteroaril i heterocikl. Dodatno, takve supstituirane alkilenske skupine uključuju one u kojima 2 supstituenta na alkilenskoj skupini su spojena tako da daju jedan ili više cikloalkilnih, arilnih, heterocikličkih ili heteroarilnih skupina spojenih na alkilensku skupinu. Preferirano takve spojene cikloalkilne skupine sadrže od 1 do 3 spojene prstenaste strukture.

5

"Alkenilen" se odnosi na bivalentne alkenilenske skupine koje pogodno imaju od 2 do 10 atoma ugljika, a pogodnije 2 do 6 atoma ugljika. Ovaj izraz je prikazan skupinama kao što su etenilen ($-\text{CH}=\text{CH}-$), propenilen izomeri (npr., $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$ i $\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}-$) i slično.

10 "Supstituirani alkenilen" odnosi se na alkenilensku skupinu, pogodno sastavljenu od 2 do 10 atoma ugljika, koja ima 1 do 3 supstituenta odabrana iz skupine koju čine alkoksi, supstituirani alkoksi, acil, acilamino, aciloksi, amino, aminoacil, aminoaciloksi, cijano, halogen, hidroksil, karboksil, keto, tioketo, karboksilalkil, tiol, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, aril, heteroaril, heterocikl, nitro, mono- i di-alkilamino, mono- i di-(supstituirani alkil)amino, mono- i di-arilamino, mono- i di-heteroarilamino, mono- i di-heterociklički amin i nesimetrični di-supstituirani amini koji imaju
15 različite supstituente odabrane iz skupine koju čine alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril i heterocikl. Dodatno, takve supstituirane alkilenske skupine uključuju one u kojima 2 supstituenta na alkilenskoj skupini su spojena tako da daju jedan ili više cikloalkila, arila, heterocikla ili heteroarilnih skupina spojenih na alkilensku skupinu.

20 "Alkaril" se odnosi na -alkilen-aril skupine koje pogodno imaju od 1 do 8 atoma ugljika u alkilenskoj jedinici i od 6 do 10 atoma ugljika u arilnoj jedinici. Takve alkarilne skupine prikazane su primjerima kao što su benzil, fenetil i slično.

"Alkoksi" se odnosi na skupinu "alkil-O-". Preferirano alkoksi-skupine uključuju, prikazano primjerima, metoksi, etoksi, n-propoksi, izo-propoksi, n-butoksi, terc-butoksi, sek-butoksi, n-pentoksi, n-heksoksi, 1,2-dimetilbutoksi i slično.

25 "Supstituirani alkoksi" se odnosi na skupinu "supstituirani alkil-O-" pri čemu supstituirani alkil je kao što je opisan gore u tekstu.

"Alkilalkoksi" se odnosi na skupinu "-alkilen-O-alkil" koja uključuje, prikazano primjerima, metilenmetoksi ($-\text{CH}_2\text{OCH}_3$), etilenmetoksi ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$), n-propilen-izopropoksi ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), metilen-t-butoksi ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$) i slično.

30 "Alkiltioalkoksi" se odnosi na skupinu "-alkilen-S-alkil" koja uključuje, prikazano primjerima, metilentiometoksi ($-\text{CH}_2\text{SCH}_3$), etilentiometoksi ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$), n-propilen-tio-izo-propoksi ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}(\text{CH}_3)_2$), metilentio-t-butoksi ($-\text{CH}_2\text{SC}(\text{CH}_3)_3$) i slično.

35 "Alkenil" se odnosi na alkenilne skupine koje pogodno imaju od 2 do 10 atoma ugljika, a pogodnije 2 do 6 atoma ugljika i imaju barem 1, a preferirano od 1-2 nezasićena mjesta na alkenilu. Preferirano alkenilne skupine uključuju etenil ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), n-propenil ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), izo-propenil ($-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$) i slično.

40 "Supstituirani alkenil" se odnosi na alkenilnu skupinu kao što je opisana gore u tekstu koja ima od 1 do 3 supstituenta odabrana iz skupine koju čine alkoksi, supstituirani alkoksi, acil, acilamino, aciloksi, amino, aminoacil, aminoaciloksi, cijano, halogen, hidroksil, karboksil, keto, tioketo, karboksilalkil, tiol, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, aril, heteroaril, heterocikl, nitro, -SO-alkil, -SO-supstituirani alkil, -SO-aril, -SO-heteroaril, -SO₂-alkil, -SO₂-supstituirani alkil, -SO₂-aril, -SO₂-heteroaril, mono- i di-alkilamino, mono- i di-(supstituirani alkil) amino, mono- i di-arilamino, mono- i di-heteroarilamino, mono- i di-heterociklički-amino i nesimetrični di-supstituirani amini koji imaju različite supstituente
45 odabrane iz skupine koju čine alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril i heterocikl.

"Alkinil" se odnosi na alkinilne skupine koje pogodno imaju od 2 do 10 atoma ugljika, a pogodnije 2 do 6 atoma ugljika i imaju barem 1, a preferirano od 1-2 nezasićena mjesta alkinila. Preferirano alkinilne skupine uključuju etinil ($-\text{CH}-\text{CH}_2$), propargil ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$) i slično.

50 "Supstituirani alkinil" se odnosi na alkinilnu skupinu kao što je opisano gore u tekstu i ima od 1 do 3 supstituenta odabrana iz skupine koju čine alkoksi, supstituirani alkoksi, acil, acilamino, aciloksi, amino, aminoacil, aminoaciloksi, cijano, halogen, hidroksil, karboksil, keto, tioketo, karboksilalkil, tiol, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, aril, heteroaril, heterocikl, nitro, SO-alkil, -SO-supstituirani alkil, -SO-aril, -SO-heteroaril, -SO₂-alkil, -SO₂-supstituirani alkil, -SO₂-aril, -SO₂-heteroaril i mono- i di-alkilamino, mono- i di-(supstituirani alkil) amino, mono- i di-arilamino, mono- i di-heteroarilamino, mono- i di-heterociklički amin i nesimetrični di-supstituirani amini koji imaju različite supstituente odabrane iz skupine koju čine alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril i heterocikl.

60 "Acil" se odnosi na skupine alkil-C(O)-, supstituirani alkil-C(O)-, cikloalkil-C(O)-, supstituirani cikloalkil-C(O)-, aril-C(O)-, heteroaril-C(O)- i heterociklički-C(O)- pri čemu alkil, supstituirani alkil, cikloalkil, supstituirani cikloalkil, aril, heteroaril i heterocikl su kao što su opisani ovdje u tekstu.

"Acilamino" se odnosi na skupinu -C(O)NRR pri čemu svaki R je neovisno vodik, alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril, ili heterocikl gdje alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril i heterocikl su kao što su opisani ovdje u tekstu.

- 5 "Aminoacil" se odnosi na skupinu -NRC(O)R pri čemu svaki R je neovisno vodik, alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril, ili heterocikl gdje alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril i heterocikl su kao što su opisani ovdje.

"Aminoaciloksi" se odnosi na skupinu -NRC(O)OR u kojoj svaki R je neovisno vodik, alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril, ili heterocikl gdje alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril i heterocikl su kao što su opisani ovdje u tekstu.

10

"Aciloksi" se odnosi na skupine alkil-C(O)O-, supstituirani alkil-C(O)O-, cikloalkil-C(O)O-, aril-C(O)O-, heteroaril-C(O)O-, i heterocikl-C(O)O- pri čemu su alkil, supstituirani alkil, cikloalkil, aril, heteroaril, i heterocikl kao što su opisani ovdje u tekstu.

- 15 "Aril" se odnosi na nezasićenu aromatsku karbocikličku skupinu od 6 do 14 atoma ugljika koja ima jedan prsten (npr., fenil) ili nekoliko spojenih prstena (npr., naftil ili antril). Preferirano arili uključuju fenil, naftil i slično.

Ako nisu drugačije ograničene prema definiciji aril supstituenta, takve arilne skupine eventualno mogu biti supstituirane s od 1 do 5 supstituenta odabrana iz skupine koju čini aciloksi, 1 do 5, a preferirano 1 do 3 supstituenta odabrana iz skupine koju čine hidroksi, acil, alkil, alkoksi, alkenil, alkinil, supstituirani alkil, supstituirani alkoksi, supstituirani alkenil, supstituirani alkinil, amino, aminoacil, acilamino, alkaril, aril, ariloksi, azido, karboksil, karboksilalkil, cijano, halo, nitro, heteroaril, heterocikl, aminoaciloksi, oksiacilamino, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, tioariloksi, tioheteroariloksi, -SO-alkil, -SO-supstituirani alkil, -SO-aril, -SO-heteroaril, -SO₂-alkil, -SO₂-supstituirani alkil, SO₂-aril, -SO₂-heteroaril, trihalometil, mono- i di-alkilamino, mono- i di-(supstituirani alkil)amino, mono- i di-arilamino, mono- i di-heteroarilamino, mono- i di-heterocikl amino i nesimetrični di-supstituirani amini koji imaju različite supstituente odabrane iz skupine koju čine alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril, heterocikl i slično. Preferirano supstituenti uključuju alkil, alkoksi, halo, cijano, nitro, trihalometil i tioalkoksi.

- 30 "Ariloksi" odnosi se na skupinu aril-O- pri čemu arilna skupina je kao što je opisana gore u tekstu uključujući eventualno supstituirane arilne skupine kao što su također opisane gore u tekstu.

"Karboksialkil" odnosi se na skupinu "-C(O)Oalkil" pri čemu je alkil kao što je opisan gore u tekstu.

- 35 "Cikloalkil" se odnosi na cikličku alkilnu skupinu od 3 do 12 atoma ugljika koja ima jedan ciklički prsten ili nekoliko spojenih prstena, uključujući spojene, premoštene i spiralne bicikličke ili multicikličke spojeve. Takve cikloalkilne skupine uključuju, primjerima, strukture s jednim prstenom kao što su ciklopropil, ciklobutil, ciklopentil, ciklooktil i slično, ili strukture s više prstena kao što su adamantanil i slično.

- 40 "Supstituirani cikloalkil" odnosi se na cikloalkilne skupine koje imaju od 1 do 5 (preferirano 1 do 3) supstituenta odabrana iz skupine koju čine hidroksi, acil, aciloksi, alkil, supstituirani alkil, alkoksi, supstituirani alkoksi, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, amino, aminoacil, alkaril, aril, ariloksi, keto, tioketo, karboksil, karboksilalkil, cijano, halo, nitro, heteroaril, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, trihalometil i slično.

- 45 "Cikloalkenil" se odnosi na cikličke alkenilne skupine od 4 do 8 atoma ugljika koje imaju jedan ciklički prsten i barem jedno mjesto unutarnjeg nezasićenja. Primjeri pogodnih cikloalkenilnih skupina uključuju, na primjer, ciklobut-2-enil, ciklopent-3-enil, ciklokt-3-enil i slično.

- 50 "Supstituirani cikloalkenil" se odnosi na cikloalkenilne skupine koje imaju od 1 do 5 supstituenta odabrana iz skupine koju čine hidroksi, acil, aciloksi, alkil, supstituirani alkil, alkoksi, supstituirani alkoksi, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, amino, aminoacil, alkaril, aril, ariloksi, karboksil, keto, tioketo, karboksilalkil, cijano, halo, nitro, heteroaril, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, trihalometil i slično.

"Halo" ili "halogen" odnose se na fluor, klor, brom i jod, a preferirano ili fluor ili klor.

- 55 "Heteroaril" odnosi se na aromatsku karbocikličku skupinu od 1 do 15 atoma ugljika i 1 do 4 heteroatoma odabrana iz skupine koju čine kisik, dušik i sumpor unutar barem jednog prstena (ako postoji više od jednog prstena).

Ako nije drugačije ograničeno prema definiciji za heteroarilni supstituent, takve heteroarilne skupine eventualno mogu biti supstituirane s 1 do 5 supstituenta odabrana iz skupine koju čine alkil, supstituirani alkil, alkoksi, supstituirani alkoksi, aril, ariloksi, halo, nitro, heteroaril, tiol, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, tioariloksi, trihalometil i slično. Takve heteroarilne skupine mogu imati jedan prsten (npr., piridil ili furil) ili nekoliko spojenih prstena (npr., indolizinil

60

ili benzotienil), uključujući spojene, premoštene i spiralne bicikličke ili multicikličke spojeve. Preferirano heteroarili uključuju piridil, pirolil i furil.

- 5 "Heterocikl" ili "heterociklički" odnosi se na monovalentnu zasićenu ili nezasićenu skupinu koja ima jedan prsten ili nekoliko spojenih prstena, uključujući spojene, premoštene i spiralne bicikličke ili multicikličke spojeve, koji imaju od 1 do 15 atoma ugljika i od 1 do 4 heteroatoma odabrana iz skupine koju čine dušik, sumpor ili kisik unutar prstena.

- 10 Ako nije drugačije ograničen prema definiciji za heterocikličke supstituente, takve heterocikličke skupine eventualno mogu biti supstituirane s 1 do 5 supstituenata odabrana iz skupine koju čine alkil, supstituirani alkil, alkoksi, supstituirani alkoksi, aril, ariloksi, halo, nitro, heteroaril, tiol, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, tioariloksi, trihalometil i slično. Takve heterocikličke skupine mogu imati jedan prsten ili nekoliko spojenih prstena. Preferirani heterocikli uključuju morfolino, piperidinil i slično.

- 15 Primjeri heterocikla i heteroarila koji sadrže dušik uključuju, ali nisu ograničeni samo na pirol, imidazol, pirazol, piridin, pirazin, pirimidin, piridazin, indolizin, izoindol, indol, indazol, purin, kinolizin, izokinolin, kinolin, ftalazin, naftilpiridin, kinoksalin, kinazolin, kinolin, pteridin, karbazol, karbolin, fenantridin, akridin, fenantrolin, izotiazol, fenazin, izoksazol, fenoksazin, fenotiazin, imidazolidin, imidazolin, piperidin, piperazin, indolin, morfolino, piperidinil, tetrahidrofuranil i također N-alkoksi-heterocikle koji sadrže dušik.

- 20 "Oksiacilamino" odnosi se na skupinu -OC(O)NRR u kojoj svaki R je neovisno vodik, alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril, ili heterocikl pri čemu su alkil, supstituirani alkil, aril, heteroaril i heterocikl kao što su opisani ovdje u tekstu.

"Tiol" se odnosi na skupinu -SH.

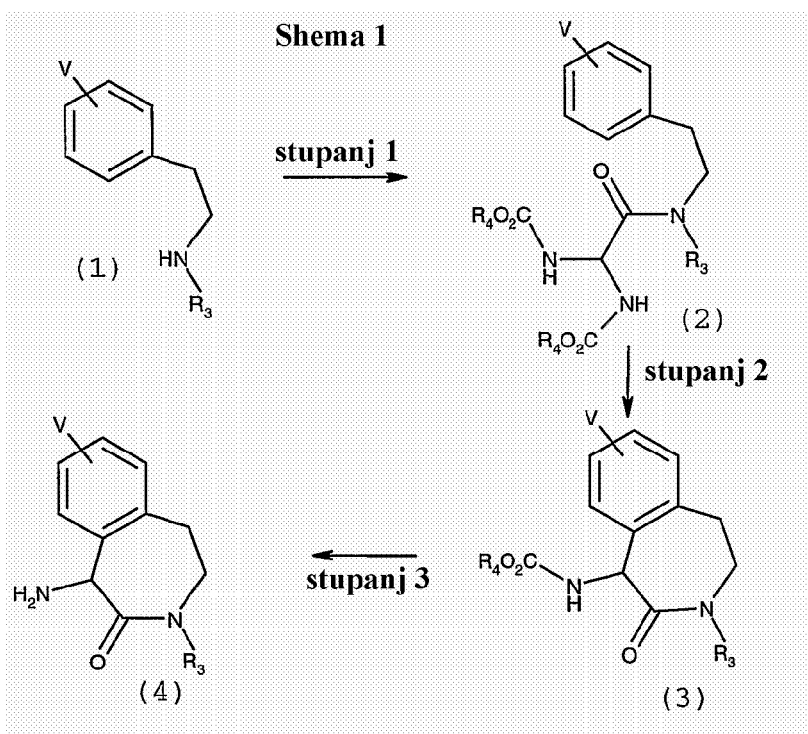
- 25 "Tioalkoksi" se odnosi na skupinu -S-alkil.

"Supstituirani tioalkoksi" se odnosi na skupinu -S-supstituirani alkil.

- 30 "Tioariloksi" se odnosi na skupinu aril-S- pri čemu je arilna skupina kao što je definirana gore u tekstu uključujući eventualno supstituirane arilne skupine također definirane gore u tekstu.

"Heteroariloksi" se odnosi na skupinu heteroaril-o- pri čemu je heteroarilna skupina kao što je definirana gore u tekstu uključujući eventualno supstituirane arilne skupine kao što su također definirane gore u tekstu.

- 35 U opširnijem postupku izvedbi ovaj izum opisuje postupke za dobivanje spoja prikazanog formulom (4) kao što je opisano u shemama 1 i 2. U opisanim shemama dolje u tekstu, svi supstituenti su, ako nije drugačije naznačeno, kao što su prije definirani, a svi reagensi su dobro poznati i cijenjeni u struci.



U shemi 1, stupanj 1, odgovarajući N-alkilfenetilamin prikazan formulom (1) acilira se s pogodnim prijenosnim reagensom bisalkoksikarbonilacetatom dajući spoj prikazan formulom (2). Odgovarajući N-alkilfenetilamin prikazan formulom (1) je spoj u kojem V i R₃ su odabrani prema zahtjevu konačnog produkta prikazanog formulom I. Takvi N-alkilfenetilamini lako se dobivaju reakcijom 2-bromo ili 2-kloroetilbenzena, pod uvjetima dobro poznatim i cijenjenim u struci, s aminom prikazanim formulom H₂N-R₃. Pogodni prijenosni reagens bisalkoksikarbonilacetat je spoj u kojem R₄ je C₁-C₄ alkil, a prenosi bisalkoksikarbonilacetil skupinu do spoja prikazanog formulom (1), kao što su, bisalkoksikarboniloctene kiseline i bisalkoksikarbonilacetil kloridi. (vidi Ben-Ishai, *Tetrahedron*, **43**, 439-450 (1987)).

Primjerice, odgovarajući N-alkilfenetilamin prikazan formulom (1) reagira s pogodnom bisalkoksikarboniloctenom kiselinom dajući spoj prikazan formulom (2). Takve reakcije povezivanja su uobičajene u peptidnoj sintezi i sintetski postupci upotrijebljeni u tome mogu se primjeniti. Primjerice, dobro poznati reagensi povezivanja kao što su karbodiimidi s ili bez upotrebe dobro poznatih aditiva kao što su N-hidroksisukcinimid, 1-hidroksibenzotriazol, itd., mogu se upotrijebiti za olakšavanje te acilacije. Takve reakcije povezivanja često upotrijebljavaju pogodnu bazu za pročišćavanje od kiseline nastale tijekom reakcije. Pogodne baze uključuju, primjerice, trietilamin, N,N-diizopropiletilamin, N-metilmorfolin i slično. Reakcija se izvede uobičajenim načinom u inertnom aprotičnom polarnom diluentu kao što su dimetilformamid, metilen klorid, kloroform, acetonitril, tetrahidrofuran i slično. Tipična reakcija se izvodi na temperaturi od oko 0 °C do oko 60 °C i uobičajeno traje od oko 1 do oko 24 sata. Nakon što je reakcija završena, produkt prikazan formulom (2) dobiva se uobičajenim postupcima uključujući ekstrakciju, precipitaciju, kromatografiju, filtriranje, tritiranje, kristalizaciju i slično.

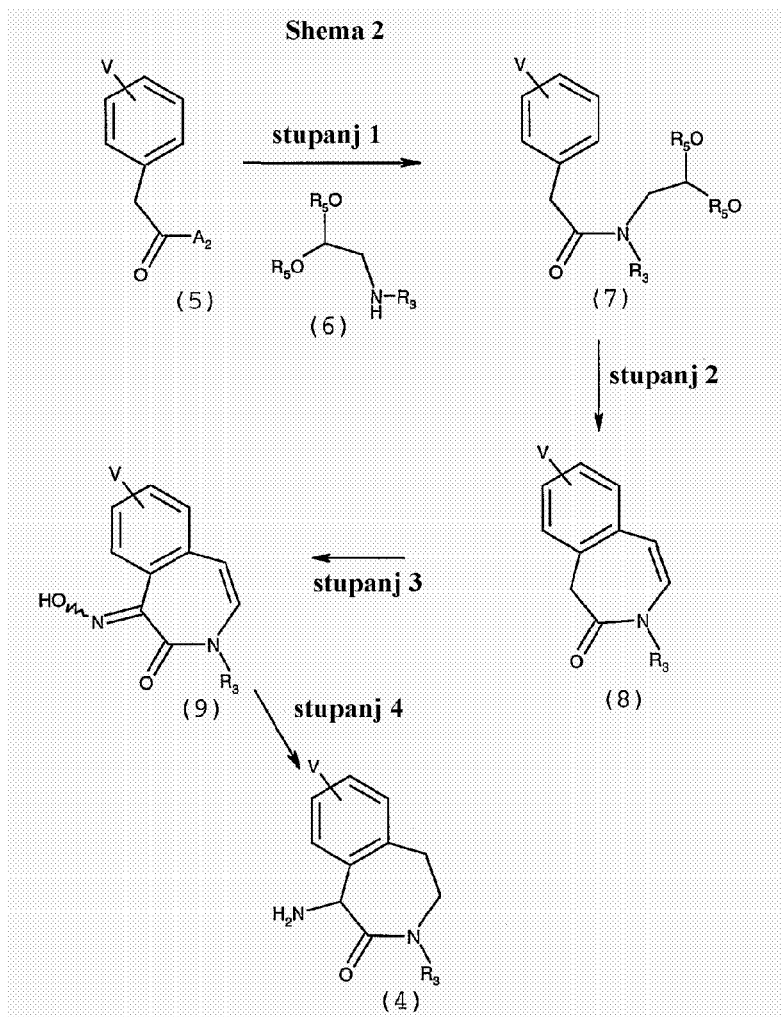
Alternativno, na primjer, odgovarajući N-alkilfenetilamin prikazan formulom (1) reagira s pogodnim bisalkoksikarbonilacetil kloridom dajući spoj prikazan formulom (2). Takvi kiseli kloridi lako se dobivaju iz odgovarajućih kiselina postupcima dobro poznatim struci, kao što je reakcija fosfornog triklorida, fosfornog oksiklorida, fosfornog pentaklorida, tionil klorida ili oksalil klorida, s ili bez male količine dimetilformamida, u inertnom otapalu kao što su toluen, metilen klorid ili kloroform; na temperaturi od oko 0-80 °C. Reakcija se uobičajeno izvede u vremenu u rasponu od 1 sat do 24 sata. Kloridna kiselina može se izolirati i pročititi ili se često upotrebljava direktno i to, s ili bez izolacije i/ili pročišćavanja. Takve acilirane reakcije općenito upotrebljavaju pogodnu bazu za pročišćavanje od kiseline nastale tijekom reakcije. Pogodne baze uključuju, prema primjeru, piridin, trietilamin, N,N-diizopropiletilamin, N-metilmorfolin i slično. Reakcija se uobičajeno izvodi u inertnom aprotičnom polarnom diluentu kao što su metilen klorid, kloroform, tetrahidrofuran i slično. Tipična reakcija se izvodi na temperaturi od oko -20 °C do oko 80 °C i uobičajeno zahtjeva od oko 1 do oko 24 sata. Nakon što je reakcija završena, produkt prikazan formulom (2) dobiva se uobičajenim postupcima uključujući ekstrakciju, precipitaciju, kromatografiju, filtriranje, tritiranje, kristalizaciju i slično.

U shemi 1, stupanj 2, spoj prikazan formulom (2) podvrgne se ciklizaciji čime se dobiva spoj prikazan formulom (3).

Primjerice, spoj prikazan formulom (2) reagira s kiselinom, kao što su trifluorometansulfonska kiselina ili sumporna kiselina. Reakcija se uobičajeno izvodi upotrebom odabrane kiseline kao otapalo. U tipičnoj reakciji reaktanti se inicijalno miješaju na temperaturi od oko -20 °C do oko 0 °C a zatim se smjesa ostavi da se zagrije od približno sobne temperature do oko 60 °C. Reakcija ciklizacije uobičajeno zahtjeva od oko 12 do oko 72 sata. Nakon što je reakcija završena, produkt prikazan formulom (2) dobiva se uobičajenim postupcima uključujući ekstrakciju, precipitaciju, kromatografiju, filtriranje, trituraciju, kristalizaciju i slično.

U shemi 1, stupanj 3, spoju prikazanom formulom (3) ukloni se zaštita čime se dobiva spoj prikazan formulom (4).

Uklanjanje takvih alkoksikarbonil amin zaštitnih skupina dobro je poznato i cijenjeno u struci. Za primjer vidi Protecting Groups in Organic Synthesis, Theodora Greene (1. i 2. izdanje, Wiley-Interscience) i Ben-Ishai, Tetrahedron, 43, 439-450 (1987).



U shemi 2, stupanj 1, odgovarajući fenilni derivat octene kiseline prikazan formulom (5) spoji se s odgovarajućim acetalom prikazanim formulom (6) dajući spoj prikazan formulom (7). Odgovarajući fenilni derivat octene kiseline prikazan formulom (5) je spoj u kojem je V kao što se zahtjeva u konačnom produktu prikazanom formulom I, a A₂ je aktivirajuća skupina, na primjer, -OH, -Cl ili Br. Odgovarajući acetal prikazan formulom (6) je spoj u kojem R₃ je kao što se zahtjeva u konačnom produktu prikazanom formulom I, a R₅ je C₁-C₄ alkil. Takve povezujuće reakcije uobičajene su u peptidnim sintezama, a sintetski postupci upotrijebljeni u tim sintezama mogu se upotrijebiti kao što je opisano u shemi 1, stupanj 1.

Također, slikovito opisano povezivanje u shemi 2, stupanj 2, može se izvesti pod Schotten-Baumannovim uvjetima upotrebom kiselog halida odgovarajuće fenil octene kiseline prikazane formulom (5) i odgovarajućeg acetala prikazanog formulom (6) u smjesi otapala, kao što su metil t-butil eter, etil acetat, tetrahidrofuran, aceton ili dietil eter i voda. Takve reakcije se izvode upotrebom pogodne baze, kao što su natrij hidroksid, kalij hidroksid, natrij karbonat, kalij karbonat, natrij bikarbonat ili kalij bikarbonat. Uobičajeno se reakcija miješa ili snažno trese, a izvodi se na temperaturi od oko -20 °C do oko 80 °C i uobičajeno zahtjeva od oko 1 do oko 24 sata. Nakon što je reakcija završena, produkt prikazan

formulom (7) dobiva se uobičajenim postupcima uključujući ekstrakciju, precipitaciju, kromatografiju, filtriranje, trituraciju, kristalizaciju i slično.

5 U shemi 2, stupanj 2, spoj prikazan formulom (7) podvrgne se ciklizaciji dajući spoj prikazan formulom (8). Takve reakcije ciklizacije izvode se u kiselini, kao što su sumporna kiselina. Uobičajeno se kiselina upotrijebi kao otapalo. Općenito, reakcija se izvodi na temperaturi od oko -20 °C do oko 150 °C i uobičajeno zahtjeva od oko 1 do oko 24 sata. Nakon što je reakcija završena, produkt prikazan formulom (8) dobiva se uobičajenim postupcima uključujući ekstrakciju, precipitaciju, kromatografiju, filtriranje, trituraciju, kristalizaciju i slično.

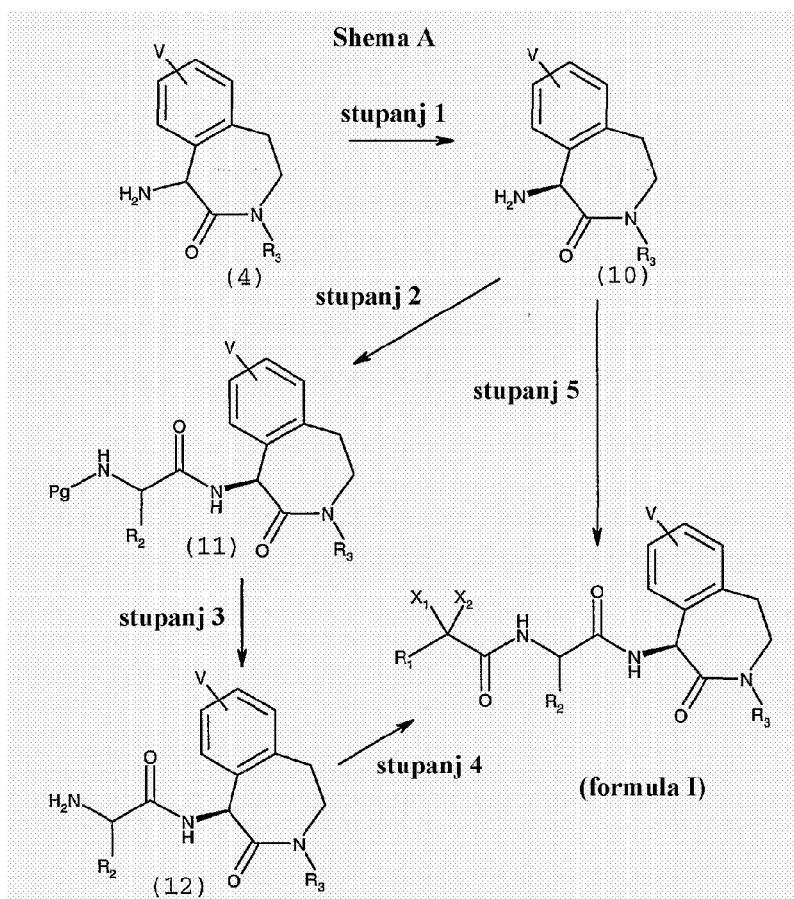
10 U shemi 2, stupanj 3, spoj prikazan formulom (8) podvrgne se reakciji prijenosa amina dajući spoj prikazan formulom (9). U shemi 2 slikovito je opisana reakcija oksima. Takve reakcije oksima provedu se spajanjem enolata spoja prikazanog formulom (8) s reagensima koji prenose oksim, kao što je ester alkil nitrita. Enolat spoja prikazanog formulom (8) može se dobiti reakcijom spoja prikazanog formulom (8) s pogodnom bazom, kao što su kalij t-butoksid, litij diizopropilamid, litij heksametilidisilazid, natrij heksametilidisilazid, kalij heksametilidisilazid i slično. Takve reakcije
15 koje uključuju oksime prikazane su primjerom Wheeler i suradnici, Organic Syntheses, Coll. Vol. VI, str. 840 koji opisuju reakciju izoamil nitrita s ketonom dajući željeni oksim. Reakcija se uobičajeno izvodi u otapalu, kao što je tetrahidrofuran. Općenito, reakcija se izvodi na temperaturi od oko -20 °C do oko 50 °C, a obično zahtjeva od oko 1 do oko 24 sata. Nakon što je reakcija završena, produkt prikazan formulom (8) dobiva se uobičajenim postupcima uključujući ekstrakciju, precipitaciju, kromatografiju, filtriranje, trituraciju, kristalizaciju i slično.

20 Izmjenično, takva reakcija prijenosa amina može se izvesti i preko azida. Azid se može dobiti reakcijom enolata spoja prikazanog formulom (8) s reagensom prijenosa azida, kao što su toluensulfonil azid i triizopropilbenzensulfonil azid. Takve reakcije su prikazane primjerom Evans, i suradnici, J. Am. Chem. Soc., 112: 4011-4030 (1990) 41. Reakcija se uobičajeno izvodi u otapalu, kao što je tetrahidrofuran. Općenito, reakcija se izvodi na temperaturi od oko -20 °C do oko
25 50 °C i uobičajeno zahtjeva od oko 1 do oko 24 sata. Nakon što je reakcija završena, produkt prikazan formulom (8) koji ima azid umjesto oksima dobiva se uobičajenim postupcima uključujući ekstrakciju, precipitaciju, kromatografiju, filtriranje, trituraciju, kristalizaciju i slično.

Kao što je slikovito opisano u shemi 2, stupanj 4, oksim se reducira do spoja prikazanog formulom (4). Takve redukcije
30 provedu se djelovanjem vodika i pogodnog katalizatora, kao što su Raney-Nickel ili paladij katalizatori, kao što je paladij na ugljiku. Reakcija se uobičajeno izvodi u otapalu, kao što su tetrahidrofuran, etil acetat, ili niži alkoholi, kao što su metanol, etanol i izopropanol, octena kiselina, voda, vodena otopina amonijaka i slično, te njihove smjese. Reakcija se općenito izvede pod pritiskom vodika u rasponu od atmosferskog pritiska do oko 600 psi (4137 kPa). Općenito, reakcija se izvodi na temperaturi od oko 20 °C do oko 100 °C i uobičajeno traje od oko 1 do oko 24 sata.
35 Nakon što je reakcija završena, produkt prikazan formulom (4) dobiva se uobičajenim postupcima uključujući ekstrakciju, precipitaciju, kromatografiju, filtriranje, trituraciju, kristalizaciju i slično.

Alternativno, gdje se amin prenosi preko azida, azido skupina se reducira. Takve reakcije redukcije izvode se
40 hidrogenacijom kao što je opisano gore u tekstu.

U slijedećoj izvedbi, ovaj izum opisuje stereo-specifične postupke za dobivanje laktama, spojeva prikazanih formulom I, uključujući (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on, i postupke dobivanja njihovih kiralnih međuprodukata. Takvi postupci su opisani u shemi A.



Shema A, stupanj 1, slikovito prikazuje stereokemijsko rastvaranje odgovarajućeg laktama prikazanog formulom (4) čime se dobiva laktam prikazan formulom (10). Kao što će biti cijenjeno od strane prosječno stručne osobe, ti postupci nisu obvezatno ograničeni dobivanju jednog izomera. Zapravo su ti postupci prikladni za dobivanje oba specifična enantiomera laktama, a posebno su prikladni za dobivanje izomera 1-amino-3-alkil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona.

Zbog velike biološke aktivnosti povezane s (S)-izomerom na 4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on jedinici, ovaj izum je veoma upotrebljiv za dobivanje supstancijalno čistog (S)-izomera.

Kao što je upotrijebljen ovdje izraz "supstancijalno čist" odnosi se na enantiomernu čistoću (R)- ili (S)-laktama, a posebno (R)- i (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona. U skladu s ovim izumom supstancijalno čist (S)-1-amino-3-alkil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on može se dobiti iz (S)-enantiomera kojeg ima više od 80%, pogodno više od 90%, pogodnije više od 95%, a najpogodnije više od 97%.

Primjerice, pojedinačni izomeri spoja prikazanog formulom (4) mogu se razlučiti frakcionalnom kristalizacijom soli dibenzoiltartrata, (R)-(-)-10-kamforsulfonske kiseline i (D)-(-)-bademove kiseline. Očekuje se da je čitav niz dibenzoiltartrata pogodan u tu svrhu. Osobito su pogodni dibenzoil esteri koji imaju para supstituent odabran iz skupine koju čine vodik, halogen, C₁-C₄ alkil i C₁-C₄ alkoksi, a najpogodniji je Di-p-toluoiltartrat. Di-p-toluoil-1-tartrat upotrebljava se za dobivanje (S)-izomera.

U pogodnoj izvedbi sheme A, stupanj 1, spoj prikazan formulom (4) je spoj u kojem V je vodik, a R₃ je C₁-C₄ alkil, uključujući metil, etil, propil, izo-propil, butil, izo-butil i sek-butil; a najpogodnija je upotreba spojeva prikazanih formulom (4) u kojima V je vodik, a R₃ je metil.

Prema ovom postupku, spoj prikazan formulom (4) reagira s odabranom kiselinom. Općenito može se upotrijebiti oko 0,4 molarna ekvivalenta do velikog suviška odabrane kiseline s tim da je oko 0,4 do 1,5 molarna ekvivalenta pogodno, a oko 0,5 do 1,1 molarna ekvivalenta je pogodnije.

Postupak se uobičajeno izvodi kristalizacijom kisele adicijske soli iz otopine. Opširnije, pogodna otapala su kao što su niži alkoholi, uključujući metanol, etanol, n-propanol, izopropanol, butanol, sek-butanol, izobutanol, t-butanol, amil alkohol, izo-amil alkohol, t-amil alkohol, heksanol, ciklopentanol i cikloheksanol, s tim da su pogodnija otapala

metanol, etanol i izopropanol. Upotreba anti-otapala može biti prednost. Kao što je upotrijebljeni ovdje, izraz "anti-otapalo" odnosi se na otapalo u kojem je sol značajno manje topiva u usporedbi s otapalom. Preferirano, kada je upotrijebljeno anti-otapalo upotrebljava se u smjesi s odabranim otapalom. Pogodna anti-otapala uključuju etere, kao što su dietil eter, metil t-butil eter i slično, te niže alkilne acetate, kao što su metil acetat, etil acetat, izo-propil acetat, propil acetat, izo-butil acetat, sek-butil acetat, butil acetat, amil acetat, izo-amil acetat i slično, te alkane, kao što su pentan, heksan, heptan, cikloheksan i slično. Kada se taj postupak izvodi kristalizacijom kiselih adicijske soli iz racemične smjese, potrebno je pažnju usmjeriti na odabrano anti-otapalo kako bi se izbjegla kristalizacija soli, neželjene diastereomerne soli.

Uobičajeno, kristalizacija se izvodi na inicijalnoj temperaturi od oko 40 °C uz povrat odabranog (odabranih) otapala i uz početnu koncentraciju od oko 0,05 molarnu do oko 0,25 molarnu. Smjesa se zatim ohladi dajući sol. Uvođenje centra kristalizacije može biti prednost. Miješanje inicijalnog precipitata tijekom 4 do 48 sati može biti prednost. Pogodno je da se kristalizacijska otopina polagano ohladi. Kristalizacija se najpraktičnije ohladi od sobne temperature do oko -20 °C. Sol se može prikupiti upotrebom postupaka koji su dobro poznati struci, uključujući filtriranje, dekantiranje, centrifugiranje, uparavanje, sušenje i slično. Spoj prikazan formulom (10) može se upotrijebiti direktno kao kiselina adicijska sol odabrane kiseline. Alternativno, prije upotrebe spoj prikazan formulom (10) može se izolirati kao druga kiselina adicijska sol nakon zamjene kiseline ili može biti izoliran kao baza ekstrakcijom pod baznim uvjetima kao što je dobro poznato i cijenjeno u struci.

U pogodnoj izvedbi ovaj izum opisuje dinamičko rastvaranje (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona supstancijalne enantiomernice čistoće, a ona uključuje kristalizaciju 1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona kao njegova kiselina adicijska sol kiseline odabrane iz skupine koju čine di-p-tolil-1-vinska kiselina, (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina i (D)-(-)-bademova kiselina kao dinamički postupak u prisutnosti aromatskog aldehida. Dinamički postupak ima tu prednost da je 1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on podvrgnut konverziji u jedan izomer za vrijeme kristalizacije, a prema tome povećava se dobit, a izbjegava se neželjeni smjer koja uključuje neželjeni izomer.

Očekuje se da je veliki niz aldehida pogodnih za taj postupak, a ustanovljeno je da jedan niz aldehida je posebno pogodan za primjenu. Osobito je ustanovljeno da su pogodne salicilne kiseline, a salicilaldehid, 5-nitrosalicilaldehid i 3,5-diklorosalicilaldehid su pogodniji u prisutnom postupku dinamičke analize.

U skladu s tim, kada se navedeni postupak izvodi kao dinamičko rastvaranje, 1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on reagira s odabranom kiselinom u prisutnosti aldehida. Općenito, za dinamičko rastvaranje upotrebljava se od oko 0,9 do 1,2 molarna ekvivalenta kiseline, s tim da se preferira oko 1 molarni ekvivalent. Aldehid se općenito upotrebljava u katalitičkoj količini. Uobičajeno se upotrebljava oko 0,5 do 0,001 molarna ekvivalenta aldehida, s tim da se preferira oko 0,1 do oko 0,01 molarna ekvivalenta.

Dinamički postupak uobičajeno se izvodi u otapalu ili u otapalu bez anti-otapala kao što je opisano gore u tekstu. Smjesa 1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona, odabrane kiseline i aldehida miješa se kako bi se omogućila konverzija u željeni izomer. Općenito se ta konverzija izvodi na temperaturi od sobne temperature do temperature povrata otapala. Općenito konverzija traje 6 do 48 sati.

Kao što će cijeniti prosječno stručna osoba, kada se navedeni postupak izvodi kao dinamičko rastvaranje, upotreba kisele adicijske soli (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona može biti komplicirana u prisutnosti male količine aldehida u izoliranom produktu. Prema tome, nakon dinamičkog rastvaranja preferira se da se (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on izolira izmjenom soli, pogodno kao hidroklorid sol, prije upotrebe ili formiranja baze.

Kao što će cijeniti prosječno stručna osoba, spojevi prikazani formulom (10) mogu se upotrijebiti u različitim postupcima za dobivanje spojeva upotrebljivih za liječenje Alzheimerove bolesti. Ti postupci su opisani u PCT patentnoj prijavi br. PCT/US97/22986, popunjenoj 22. prosinca 1997. i opisani su dolje u tekstu. Postupci ovog izuma karakteristični su po tome da njima nastaju spojevi prikazani formulom I iskorištavanjem pogodnosti postupaka rastvaranja slikovito opisanih u shemi A, stupanj 1.

Shema A, stupanj 2, slikovito prikazuje reakciju povezivanja odgovarajuće amino kiseline sa zaštićenom amino skupinom prikazane formulom $\text{PgNH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ s odgovarajućim laktamom prikazanim formulom (10). Odgovarajuće amino kiseline sa zaštićenom amino skupinom su one u kojima Pg je skupina koja zaštićuje amin, R_2 je kao što se zahtjeva u konačnom produktu prikazanom formulom I, a A je aktivirajuća skupina, na primjer -OH ili -Cl, sposobna za povezivanje s amino skupinom spoja prikazanog formulom (10). Takve amino kiseline sa zaštićenom amino skupinom su dostupne prosječno stručnoj osobi.

Preferirane amino kiseline sa zaštićenom amino skupinom prikazane formulom $\text{PgNH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ su one u kojima Pg je t-butoksikarbonil i benziloksikarbonil, R_2 je metil, te one koje imaju stereokemiju L-amino kiseline.

Reakcija povezivanja slikovito opisana u reakcijskoj shemi A, stupanj 2, uključuje reakciju koja se uobičajeno izvodi za sintezu peptida, a sintetski postupci upotrijebljeni u toj sintezi mogu se također primijeniti. Takvi su postupci detaljno opisani u shemi 1, stupanj 1.

Reakcijska shema A, stupanj 3, slikovito prikazuje uklanjanje zaštite spoja prikazanog formulom (11) dajući spoj prikazan formulom (12). Takvo uklanjanje zaštite uklanjanjem skupina koje štite amine dobro je poznato i cijenjeno u struci.

Reakcijska shema A, stupanj 4, slikovito prikazuje reakciju povezivanja odgovarajućeg spoja prikazanog formulom (13), $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)A}_1$ i spoj prikazan formulom (12) dajući spoj prikazan formulom I. Odgovarajući spojevi prikazani formulom (13) su spojevi u kojima R_1 , X_1 i X_2 su kao što se zahtjeva u konačnom produktu prikazanom formulom I i dobro su poznati struci, uključujući PCT patentnu prijavu br. PCT/US97/22986, popunjenu 22. prosinaca 1997., a kao što je opisano ovdje u tekstu. Odgovarajući spoj prikazan formulom (13) također može imati željenu stereokemiju u konačnom spoju prikazanom formulom I. Reakcija povezivanja slikovito opisana u stupnju 3 izvodi se upotrebom kiseline prikazane formulom (13) (spojevi u kojima A_1 je -OH) ili halida kiseline dobivene iz nje (spojevi u kojima A_1 je -Cl ili -Br), sličnim postupkom kao opisanim u shemi 1, stupanj 1.

Alternativni postupak za dobivanje spojeva prikazanih formulom I slikovito je opisan u shemi A, stupanj 5, koja prikazuje reakciju povezivanja odgovarajućeg spoja prikazanog formulom (10) s odgovarajućim spojem prikazanim formulom (14), $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)-NH-CHR}_2\text{-C(O)A}_2$, direktno dajući spoj prikazan formulom I. Odgovarajući spoj prikazan formulom (10) je kao što je opisano u stupnju 2. Odgovarajući spoj prikazan formulom (14) je onaj u kojem R_1 , -X_1 , X_2 i R_2 su kao što se zahtjeva u konačnom produktu prikazanom formulom I. Odgovarajući spoj prikazan formulom (14) je također takav u kojem je stereokemija kao što se zahtjeva u konačnom produktu prikazanom formulom I.

Spojevi prikazani formulom (14) dobiveni su povezivanjem amino kiselina sa zaštićenim karboksi skupinama, $\text{H}_2\text{N-CHR}_2\text{-C(O)OPg}_1$ sa spojevima prikazanim formulom (13) kao što je opisano gore u tekstu. Ponovno su takve reakcije povezivanja dobro poznate struci, a njima se dobiva produkt koji nakon uklanjanja zaštite daje spoj prikazan formulom (14).

Ovaj izum je nadalje opisan sljedećim primjerima i dobivanjima. Ti primjeri i dobivanja su samo ilustrativni i ne ograničavaju izum na bilo koji način.

Izrazi upotrijebljeni u primjerima i dobivanjima imaju svoje normalno značenje ako nije drugačije naznačeno. Primjerice "°C" odnosi se na stupnjeve Celzijusa; "mmol" odnosi se na milimol ili milimole; "g" odnosi se na gram ili grame; "mL" odnosi se na mililitar ili mililitre; "otopina soli" odnosi se na zasićenu vodenu otopinu natrij klorida; "THF" odnosi se na tetrahidrofuran; "HPLC" odnosi se na tekućinsku kromatografiju visoke učinkovitosti; itd.

Primjer 1

Sinteza l-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona

U gustu otopinu natrij hidrida (1,1 ekv.) u 15 mL suhog DMF doda se 4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on (0,0042 mola) kao otopina u 10 mL DMF. Zatim se doda metil jodid (oko 2 ekv.). Nakon završetka TLC, reakcijska se smjesa izlije preko leda i ekstrahira pomoću etil acetata. Organski se sloj ispere s vodom, a nakon toga otopinom soli. Organski sloj se zatim osuši pomoću Na_2SO_4 , profiltrira i ukoncentrira pod sniženim pritiskom. Talog se pročisti pomoću HPLC (LC 2000), eluirajući s etil acetat/heksan sustavom dajući 3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on.

3-Metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on (1 ekv.) otopi se u THF, te se doda izoamilnitrit (1,2 ekv.). Smjesa se ohladi do 0 °C u ledenoj kupki. U obrocima se doda NaHMDS (1,1 ekv., 1M u THF). Nakon miješanja tijekom 1 sata ili dok reakcija nije dovršena, smjesa se ukoncentrira i zatim zakiseli s 1N vodenom otopinom klorovodične kiseline i ekstrahira s etil acetatom. Organski dio se osuši i ukoncentrira čime se dobiva sirovi produkt koji se pročisti kromatografijom na silikagelu dajući 1-hidroksiimino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on: Masena spektroskopija $(\text{M}+\text{H})^+$, 205,1.

1-Hidroksiimino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on otopi se u EtOH/ NH_3 (20:1) i hidrogenira pomoću bombe upotrebom Raney-Nickel i vodika (500 psi/3447kPa) na 100 °C tijekom 10 sati. Nastala smjesa se profiltrira i ukoncentrira dajući ulje koje se pročisti kromatografijom na silikagelu čime se dobiva spoj u naslovu.

Primjer 2**Sinteza 1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on**

- U Mortonovu tikvicu volumena 20 L doda se MTBE (5,52 L, 7 volumena) i (N-metilamino)-acetaldehid dimetil acetal (614 g, 5 mol) dajući otopinu na sobnoj temperaturi. Otopina natrij bikarbonata priredi se dodavanjem natrij bikarbonata (546g, 6,5 mol) i vode (6.31 L, 8 volumena) u Mortonovu reakcijsku tikvicu. Smjesa se ohladi do temperature niže od 10 °C, te se u obrocima doda MTBE (789 mL) otopina fenilacetil klorida (789 g, 5 mol) u ohlađenu reakcijsku smjesu tijekom 1 sata. Nakon dodavanja, reakcijska se smjesa miješa na sobnoj temperaturi tijekom 1 sata. U tom stupnju HPLC analizom dokazujemo da je reakcija završena. Ekstrakcija se izvodi s MTBE (4 volumena), sušenje anhidridnim magnezij sulfatom nakon čega slijedi ukoncentriravanje na rotacijskom evaporatoru čime se dobiva 1,187 kg (98%) N-metil-N-(2,2-dimetoksietil)fenilacetamid u obliku tekućine, $(M+H)^+ = 237,9$. U Mortonovu tikvicu volumena 5L pod jakim atmosferom dušika doda se H_2SO_4 (1,42 L), a N-metil-N-(2,2-dimetoksietil)fenilacetamid (712 g, 3 mol) doda se u obrocima u reakcijsku tikvicu čime nastaje egzotermna reakcija (22 do 78 °C). Rezultirajuća reakcija zatim se zagrije do 110 °C tijekom 3 sata, zatim ohladi na sobnu temperaturu i prebaci u Mortonovu tikvicu volumena 20L. Na temperaturi nižoj od 10 °C, reakcijska smjesa se zaustavi s vodenom otopinom natrij hidroksida (9,18 L, 5 N). Ekstrakcija se izvede s etil acetatom (2 X 2,85 L), sušenje s natrij sulfatom nakon čega slijedi ukoncentriravanje u krutinu, dajući 520 g (73,5%) 3-metil-6,7-dihidro-2H-3-benzazepin-2-ona u obliku krutine. Kako bi se povećala čistoća materijal se može rekristalizirati iz MTBE dajući krutinu, $tt = 81-82$ °C; $(M+H)^+ = 174,2$.
- THF (0,5 L) otopina 3-metil-6,7-dihidro-2H-3-benzazepin-2-ona (113,8 g, 0,657 mol) ohladi se do 0 °C i u obrocima se doda izoamil nitrit (100,75 g, 0,86 mol). U nastalu smjesu doda se LiHMDS (1N THF otopina, 854 mL, 0,854 mol) takvom brzinom da temperatura ostane iznad 10 °C. Nakon dodavanja, reakcija se miješa na sobnoj temperaturi tijekom 2-3 sata uz praćenje tijeka reakcije pomoću HPLC. Nakon završetka reakcije, smjesa se ohladi do 0 °C, pH se podese od 12 do 2-3 pomoću vodenog HCl (2N). Nastali precipitat se miješa tijekom 12-16 sati prije izolacije filtriranjem i sušenjem čime se dobiva 86,3 g (64,9 %) 1-hidroksiimino-3-metil-6,7-dihidro-2H-3-benzazepin-2-on; $tt = 225-226$ °C; $(M+H)^+ = 203,0$.

- Otopina 1-hidroksiimino-3-metil-6,7-dihidro-2H-3-benzazepin-2-ona (35 g, 0,173 mol) u etanolu (525 mL) doda se u autoklavu zajedno s paladijem na ugljiku (10%, 3,5 g) kao razrijeđena muljasta otopina HCl (koncentrirana vodena otopina, 17,5 g u 17 mL vode). Nastala smjesa se hidrogenira na 50 °C i 250 psi (1723 kPa) dok reakcija ne završi. Reakcijska smjesa profiltrira se kroz sloj celita upotrebom etanola kao otapala, a filtrat se ukoncentrira na 90 mL. U ukoncentriranu smjesu doda se voda (350 mL), a nastala otopina još jednom se ukoncentrira do oko 200 mL. Doda se diklorometan (350 mL) u vodenu otopinu prije podešavanja pH do 11-11,5 pomoću vodene otopine natrij hidroksida (1 N). Organski dio se odijeli, a vodeni dio se ekstrahira pomoću diklorometana (175 mL). Spojeni ekstrakti se ukoncentriraju do taloga koji se stajanjem kristalizira dajući spoj u naslovu: $tt = 69-81$ °C; $(M+H)^+ = 191,0$.

Primjer 3**Sinteza 1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona**

- U Mortonovu tikvicu volumena 22 L doda se diklorometan (4,73 L, 8 volumena), N-metilfenetilamin (591 g, 4,33 mol) i vodena otopina natrij bikarbonat (436,7 g, 5,2 mol u 4,73 L vode). Smjesa se ohladi do temperature manje od 5 °C te se u obrocima doda otopina kloroacetil klorida (513,7 g, 4,55 mol) u diklorometanu (887 mL) u ohlađenu reakcijsku smjesu tijekom 70 minuta. Nakon dodavanja, HPLC analizom dokazuje se da je reakcija završena. Slojevi se razdijele i vodeni sloj se ekstrahira s diklorometanom. Spojeni organski slojevi se osuše pomoću anhidridnog magnezij sulfata i ukoncentriraju na rotacijskom evaporatoru dajući 915,7 g (99,8%) N-metil-N-(2-feniletil)-1-kloroacetamida: $(M+H)^+ = 212,1$.

- U tikvicu volumena 12 L u atmosferi dušika dodaju se N-metil-N-(2-feniletil)-1-kloroacetamid (883,3 g, 4,17 mol) i orto-diklorobenzen (6,18 L). Dodavanjem aluminij klorida (1319 g, 10,13 mol) razvija se egzotermna reakcija (22 do 50 °C). Nastala reakcija zatim se zagrije do 165 °C tijekom 2,5 sata i zatim ohladi na sobnu temperaturu tijekom oko 14 sati. Reakcijska smjesa se ohladi do oko 0 °C i doda u hladnu vodu (8,86 L, oko 5 °C) u četiri dijela kako bi se zadržala egzotermna reakcija na temperaturi do oko 40 °C. Slojevi se razdijele, a vodeni sloj se ekstrahira s diklorometanom (7,07 L) uz razdvajanje slojeva. Organski slojevi se spoje i ekstrahiraju s vodenom otopinom klorovodične kiseline (8,83 L, 1 N), a zatim zasićenom vodenom otopinom natrij bikarbonata (7,07 L), osuše pomoću magnezij sulfata, pomiješaju s silikagelom (883 g) i nanese na kolonu silikagela (3,53 kg, u sintrovanom staklenom lijevku, upakirani kao gusta smjesa u diklorometanu). Kolona se eluira s diklorometanom dok se ne sakupi 25 L eluensa, a zatim s etil acetatom dajući produkt. Frakcija koja sadrži produkt upari se do 3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona u obliku tamne krutine, 608 g (83%).

- U tikvicu volumena 22 L u atmosferi dušika stave se 3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on (606 g, 3,46 mol) i izoamil nitrit (543 g, 4,5 mol) u THF (7,88 L). Smjesa se ohladi do oko 0 °C prije dodavanja LiHMDS (1 N THF otopina, 4,5 L, 0,45 mol) takvom brzinom da se temperatura održava ispod 7 °C. Nakon dodavanja, reakcija se miješa na

sobnoj temperaturi tijekom oko 2 sata uz praćenje napredovanja reakcija pomoću HPLC. Nakon što je reakcija završena, smjesa se ohladi do oko 0 °C i pH se podesi od 12 do oko 2-1 pomoću vodene otopine HCl (2N). Nastali precipitat se miješa tijekom oko 6 sati prije izolacija filtriranjem i sušenja čime se dobiva 1-hidroksiimino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on 604,7 g (85,6%).

Gusta smjesa 1-Hidroksiimino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-ona (625 g, 3,06 mol) i 3A etanola (15,6 L), isto kao i razrijeđena HCl (koncentrirana vodena otopina klorovodične kiseline (312 g u 320 mL vode), dodaju se u autoklav zajedno s paladijem na ugljiku (10%, 120 g). Nastala se smjesa hidrogenira na 50 °C i 250 psi (1723 kPa) uz snažno miješanje dok reakcija nije potpuna (oko 4 sata). Reakcijska se smjesa profiltrira kroz sloj celita upotrebom etanola kao otapalo i filtrat se ukoncentrira dajući krutinu. Krutina se tretira s diklorometanom (6 L) i doda se 1 N vodena otopina natrij hidroksida do pH vodenog sloja između 11-11,5. Smjesa se protrese, slojevi se razdijele, a vodeni sloj se ekstrahira s diklorometanom (2 L). Organski slojevi se osuše pomoću magnezij sulfata, profiltriraju i upare u rotacijskom evaporatoru dajući spoj u naslovu 477 g (81,9%).

Primjer 4

Sinteza (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-ona

l-Amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on (1,544 g, 8,12 mmol) lagano se zagrije u 15 mL metanola dajući otopinu. U drugoj tikvici otopi se di-p-toluoil-1-vinska kiselina (3,12 g, 8,08 mmol) u 15 mL metanola i doda pomoću pipete u zagrijanu otopinu amina. Smjesa se zagrijava kako se krutine talože. Doda se dodatnih 30 mL metanola kako bi se dobila otopina koja se podvrgne povratu tijekom 30-40 minuta, a zatim polagano ohladi do sobne temperature dajući krutinu. Nakon miješanja tijekom oko 18 sati, krutina se prikupi filtriranjem i ispere s malom količinom hladnog metanola dajući 2,24 g (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on sol di-p-toluoil-1-vinske kiseline (96% iskorištenje, 94,7% es).

(S)-1-Amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on soli di-p-toluoil-1-vinske kiseline (11,83 g, 20,5 mmol) otopi se u 45 mL 1,0 N vodene otopine natrij hidroksida i ekstrahira s metilen kloridom (3x25 mL). Spojeni se metilen kloridni slojevi isperu s 35 mL 1,0 N vodenom otopinom natrij hidroksida, zatim sa otopinom soli, te se osuše pomoću anhidridnog MgSO₄. Uklanjanjem otapala u vakuumu dobiva se spoj u naslovu (3,38 g) u obliku bezbojnog ulja (87% iskorištenje, 93,2% es).

Primjer 5

Sinteza (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-ona

l-Amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on (6,0 g, 31,5 mmol) lagano se zagrijava u 75 mL metanola dajući otopinu, a zatim se spoji s otopinom di-p-toluoil-1-vinske kiseline (12,2 g, 31,5 mmol) u 75 mL vrućeg metanola. U otopinu se uvedu centri kristalizacije čime nastaje krutina. Doda se dodatnih 100 mL metanola i smjesa se miješa. Nakon miješanja tijekom oko 18 sati, krutina se prikupi filtriranjem i ispere s malom količinom hladnog metanola dajući 6,7 g krutine. Krutina se spoji s metanolom (200 mL) i miješa. Nakon 18 sati krutina se prikupi dajući (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on soli di-p-toluoil-1-vinske kiseline (4,4 g). Izolacijom baze postupkom opisanim u primjeru 4 dobiva se spoj u naslovu (96% es).

Primjer 6

Sinteza (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-ona

U posudu volumena 22 L u atmosferi dušika zagrije se l-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on (438 g, 2,3 mol) (oko 40 °C) dajući otopinu u metanolu (4,38 mL). U drugoj tikvici otopi se di-p-toluoil-1-vinska kiselina (889,7 g, 2,3 mol) u 4,38 L metanola i zagrije do oko 40 °C prije dodavanja otopine l-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-ona. Zagrijavanje se nastavi i doda se dodatnih 6,13 L metanola prije nego se smjesa podvrgne povratu tijekom oko 45 minuta, a zatim se polagano ohladi do sobne temperature dajući krutinu. Nakon miješanja tijekom oko 18 sati, krutina se prikupi filtriranjem i ispiranjem s malom količinom ishodne otopine, te nakon sušenja na zraku s oko 2 L etil acetata dajući 561,6 g (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on sol di-p-toluoil-1-vinske kiseline. Spoje se (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on sol di-p-toluoil-1-vinske kiseline, diklorometan (6,57 L) i 1N vodena otopina natrij hidroksida (6,57 L) i promućkaju. Razdvoje se slojevi, a organski sloj se ekstrahira dva puta s 1N vodenom otopinom natrij hidroksida (3,28 L), jedan put s vodenom otopinom soli (2,46 L) prije sušenja pomoću magnezij sulfata, filtriranja i uparavanja na rotacijskom evaporatoru dajući 250 g spoja u naslovu (57,4%, 94,1% es).

Primjer 7**Sinteza (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on soli klorovodične kiseline**

1-Amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on (31,9g, 168 mmol) pomiješa se u gustu smjesu s oko 300 mL izopropil acetata i zagrijava do 45 °C. U drugu tikvicu zagrije se (R)-(-)-D-bademova kiselina (25,0 g, 164 mmol) u oko 130 mL izopropil alkohola dok ne nastane otopina koja se dodaje u gustu otopinu 1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona/izopropil acetata dobivenu gore u tekstu dajući otopinu u kojoj brzo nastaje precipitat. Smjesa se mijesha na 45 °C tijekom oko 3 sata. U vruću otopinu dodaje se 5-Nitrosalicilaldehid (2-hidroksi-5-nitrobenzaldehyd) (1,40 g, 8,38 mmol, 5 mol%) i smjesa se mijesha na 45 °C. Nakon oko 14 sati, gusta smjesa se ohladi do sobne temperature i mijesha tijekom 2 sata prije nego se krutina prikupi filtriranjem i ispiranjem s 70 mL hladnog izopropil acetata, te se sušenjem u vakuum peći na 40 °C dobiva 46,62 g (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on sol (R)-bademove kiseline (82,9% iskorištenje, 98,4% es).

(S)-1-Amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on sol (R)-bademove kiseline (2,42 g, 7,06 mmol, 98,4% es) pomiješa se u gustu smjesu u 25 mL etil acetata na sobnoj temperaturi. Dodaje se koncentrirana vodena otopina klorovodične kiseline (1,1 mL, oko 11,2 mmol) i smjesa se zagrije do 50 °C uz snažno miješanje tijekom 3,5 sata. Gusta smjesa se ohladi do sobne temperature i profiltrira, ispere s metil t-butil eterom (oko 10 mL) dajući 1,48 g spoja u naslovu (92,5% iskorištenje, 97,9% es).

Primjer 8**Sinteza (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona**

Tikvica sa okruglim dnom napuni se s N-t-Boc-1-alaninom (1,0 ekv.), hidroksibenzotriazol dihidratom (oko 1,1 ekv.) i (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-onom (1,0 ekv.) u THF u atmosferi dušika. Dodaje se Hunigova baza (N,N-diizopropiletilamin, 1,1 ekv.) u dobro promiješanu smjesu nakon čega se dodaje EDC (1,1 ekv.). Nakon miješanja od 4 do 17 sati na sobnoj temperaturi otapalo se ukloni pri reduciranom pritisku, talog se prenese u etil acetat i vodu, ispere sa zasićenom vodenom otopinom natrij bikarbonata, 1N vodenom otopinom HCl, vodenom otopinom soli, osuši pomoću anhidridnog natrij sulfata, profiltrira, a otapalo se ukloni pri reduciranom pritisku dajući 1-(N-t-Boc-1-alaninil)amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on: masena spektroskopija (M+H)⁺, 362,3.

Struja anhidridnog HCl plina propusti se kroz miješanu otopinu 1-(N-t-Boc-1-alaninil)amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona u 1,4-dioksanu (0,03-0,09M), ohlađenu u ledenoj kupki do oko 10 °C ispod NZ, tijekom 10-15 minuta. Otopina se poklopi i zatim se ukloni kupka za hlađenje, a otopina se pusti da se zagrije do sobne temperature uz miješanje tijekom 2-8 sata, i praćenje 1,0 pomoću TLC kako bi se vidjela potrošnja polaznog materijala. Otopina se ukoncentrira dajući 1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on koji se upotrijebi bez daljnjeg pročišćavanja.

U smjesu se dodaju 1-(L-Alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-3-metil-2H-3-benzazepin-2-on (1,0 ekv.), hidroksibenzotriazol dihidrat (1,1 ekv.) i (S)-2-hidroksi-3-metil-maslačna kiselina (1,0 ekv.) u THF u atmosferi dušika. U dobro miješanu smjesu dodaje se Hunigova baza (N,N-diizopropiletilamin, 1,1 ekv.), a nakon toga EDC (1,1 ekv.). Nakon miješanja od 4 do 17 sati na sobnoj temperaturi otapalo se ukloni pri reduciranom pritisku, talog se prenese u etil acetat (ili slično otapalo) i vodu, ispere sa zasićenom vodenom otopinom natrij bikarbonata, 1N HCl, vodenom otopinom soli, osuši pomoću anhidridnog natrij sulfata, te se otapalo ukloni pri reduciranom pritisku dajući spoj u naslovu.

Primjer 9**Sinteza (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona**

Tikvica sa okruglim dnom napuni se s N-t-Boc-1-alaninom (249,5 g, 1,32 mol), hidroksibenzotriazol dihidratom (232,2 g, 1,52 mol) i (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-onom (250,8 g, 1,32 mol) u THF (3,76 L) u atmosferi dušika. Smjesa se ohladi do niže temperature od 5 °C prije dodavanja Hunigove baze (N,N-diizopropiletilamin, 188,4 g, 1,45 mol), a nakon toga EDC (283,7 g, 1,45 mol). Nakon 6 sati miješanja reakcijska smjesa zagrije se do sobne temperature i mijesha tijekom oko 14 sati. Otapalo se ukloni pri reduciranom pritisku, talog se prenese u etil acetat (3,76 L) i vodu (1,76 L), slojevi se razdvoje, organski se sloj ekstrahira s vodom (1,76 L), spojeni se vodeni slojevi ekstrahiraju s etil acetatom (1,76 L). Organski slojevi se spoje, ekstrahiraju sa zasićenom vodenom otopinom natrij bikarbonata (1,76 L), osuše pomoću anhidridnog natrij sulfata, profiltriraju i upare na rotacijskom evaporatoru dajući 463 g 1-(N-t-Boc-1-alaninil)amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on (97,2%).

Etil acetatna otopina HCl dobiva se propuštanjem anhidridnog HCl plina, upotrebom podpovršinske disperzijske cijevi, kroz etil acetat (1,76 L) ohlađen do oko 0 °C. Etil acetatna otopina HCl, gore dobivena, dodaje se u snažno miješanu gustu otopinu 1-(N-t-Boc-1-alaninil)amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona (462 g, 1,28 mol) u etil acetatu (3,7 L). Dodaje se dodatna količina etil acetata (1 L) i reakcijska smjesa se pusti da se zagrije do sobne

temperature i miješa tijekom 22 sata. Reakcijska smjesa se filtrira dajući krutinu. Krutina se pomiješa s acetonitrilom (5 L) u gustu smjesu, zagrije uz povrat i zatim ohladi do oko 60 °C prije filtriranja i sušenja čime se dobiva 389,8 g 1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona (94,7%). 1-(L-Alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-3-metil-2H-3-benzazepin-2-on (369,5 g, 1,18 mol), hidroksibenzotriazol dihidrat (207,6 g, 1,36 mol), Hunigova baza (N,N-diizopropiletilamin, 352,2 g, 2,71 mol) i (S)-2-hidroksi-3-metil-maslačna kiselina (140,6 g, 1,18 mol) u THF (4,8 L) spoje se u atmosferi dušika i ohlade do temperature niže od 5 °C. Doda se EDC (253,7 g, 1,3 mol) i reakcijska smjesa se pusti da se zagrije do sobne temperature uz miješanje. Nakon oko 25 sati reakcijska smjesa se razrijedi s diklorometanom (5,54 L) i ekstrahira s vodom (2,22 L). Organski sloj se ekstrahira s vodom (2,22 L), vodeni slojevi se spoje i ekstrahiraju s diklorometanom (5,54 L). Organski slojevi se spoje, ekstrahiraju dva puta s vodom (2,22 L), sa zasićenom vodenom otopinom natrij bikarbonata (2,22 L), osuše pomoću anhidridnog natrij sulfata, filtriraju i upare na rotacijskom evaporatoru dajući 428 g spoja u naslovu (100%).

Primjer 10

Sinteza (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata

Krutina (N)-((S)-2-Hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on prenese se u aceton (3,42 L) i vodu (0,856 L) uz lagano zagrijavanje (40 °C). Otopina se razdvoji na dijelove svaki volumena 2 L, te se u svaki dio doda voda (7,19 L) uz zagrijavanje nastale mutne otopine do 50 °C. Nakon što je sva voda dodana mutna otopina se ostavi da se ohladi do sobne temperature dajući krutinu koji se miješa kao gusta smjesa na sobnoj temperature tijekom oko 14 sati prije filtriranja i sušenja čime se dobiva 310,6 g spoja u naslovu (66,2%).

Kada se spoj ovog izuma upotrebljava kao lijek obično se primjenjuje kao farmaceutski pripravak. Prema tome, u drugoj izvedbi, ovaj izum opisuje farmaceutske pripravke koji uključuje djelotvornu količinu kristaličnog (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata i farmaceutski prihvatljivog diluenta. Takvi pripravci se upotrebljavaju za inhibiciju otpuštanja i/ili sinteze β-amiloid peptida, uključujući liječenje Alzheimerove bolesti. Prema tome, ovaj izum obuhvaća upotrebu kristaličnog (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata za proizvodnju lijeka za inhibiciju otpuštanja i/ili sinteze β-amiloid peptida, a posebno za liječenje Alzheimerove bolesti.

Kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat može se primijeniti različitim putovima unosa. Taj spoj može se primijeniti u bilo kojem obliku ili načinu koji čini spoj biodostupnim u djelotvornoj količini, uključujući oralne i parenteralne putove. Primjerice, ovaj spoj može se primijeniti oralno, inhalacijom, supkutano, intramuskularno, intravenozno, transdermalno, intranazalno, rektalno, okularno, lokalno, sublingvalno, bukalno i slično.

Pri dobivanju pripravaka ovog izuma, djelotvorni sastojak se obično miješa s pomoćnom tvari, razrijedi s pomoćnom tvari ili je uključen unutar takvog nosača da može biti u obliku kapsule, škrobne tablete, praška u papirnoj vrećici ili drugog nosača. Spoj ovog izuma može se primijeniti sam ili u obliku farmaceutskog pripravak, koji se, spojen s farmaceutski prihvatljivim diluentom, kao što su nosači ili pomoćne tvari, a njihova količina i priroda određena je topivosti i kemijskim svojstvima prisutnog spoja, odabranom putu unosa i standardnom farmaceutskom praksom. (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. izdanje, Mack Publishing Co. (1990)).

Ovi farmaceutski pripravci dobivaju se postupkom dobro poznatim farmaceutskoj struci. Nosač ili pomoćna tvar može biti kruti, polukruti ili tekući materijal koji može poslužiti kao nosač ili medij za djelotvorni sastojak. Pogodni nosači ili pomoćna tvar dobro su poznati struci. Farmaceutski pripravak može biti prilagođen za oralnu, inhalacijsku, parenteralnu ili lokalnu primjenu i mogu se primijeniti na pacijentu u obliku tableta, kapsula, aerosoli, sredstva za inhalaciju, čepića, otopina, suspenzija, i slično.

Za oralnu primjenu, spojevi mogu biti uključeni u pomoćnu tvar i upotrijebljeni u obliku tableta, pastila, kapsula, eliksira, suspenzija, sirupa, vafli, guma za žvakanje i slično. Ti pripravci trebali bi sadržavati barem 4% spoja ovog izuma, djelotvorni sastojak, ali taj postotak može biti različit ovisno o točnom obliku, a može uobičajeno biti između 2% do oko 90% masenih jedinica. Količina spoja prisutnog u pripravcima je takva da se dobiju pogodne doze. Preferirane pripravke i preparate prema ovom izumu može odrediti prosječno stručna osoba.

Tablete, pilule, kapsule, pastile i slični oblici također mogu sadržavati jedan ili više od sljedećih pomoćnih sredstava: vezivne tvari kao što su mikrokristalična celuloza, tragakant guma ili želatina; pomoćne tvari kao što su škrob ili laktoza, sredstva za dezintegraciju kao što su alginska kiselina, Primogel, kukuruzni škrob i slično; lubrikante kao što su magnezij stearat, silicij ulje, ili Sterotex; glidanti kao što su koloidni silicij dioksid; a i sredstva zaslađivanja kao što su sukroza ili saharin mogu biti dodana ili sredstva koja daju okus kao što su pepermint, metil salicilat ili sredstvo okusa naranče. Kada je jedinična doza u obliku kapsula, može sadržavati, u dodatku materijala gore navedenog oblika, tekući

nosač kao što su polietilen glikol ili masno ulje. Drugi oblici doza mogu sadržavati različite materijale koji modificiraju fizički oblik jedinične doze, na primjer, kao ovojnicu. Prema tome, tablete ili pilule mogu biti presvučene sa šećerom, šelakom, ili drugim sredstvom koje stvara ovojnicu. Sirup može sadržavati, u dodatku nazočnih spojeva, sukrozu kao sredstvo zaslađivanja i određene konzervanse, boje i sredstva koja daju okus. Materijali upotrijebljeni za dobivanje tih različitih pripravaka trebali bi biti farmaceutski čisti i netoksični u upotrijebljenim količinama.

Spoj ovog izuma koji se namjerava parenteralno primijeniti može biti pomiješan u otopini ili suspenziji. Ti pripravci uobičajeno sadrže 0,1% spoja ovog izuma, ali ta količina može varirati između 0,1 i oko 90% njegove mase. Količina spoja prisutna u takvim pripravcima je takva da se postigne pogodna doza. Otopine ili suspenzije također mogu uključivati jedan ili više sljedećih pomoćnih sredstava: sterilne diluente kao što su voda za injekcije, otopina soli, zgusnuta ulja, polietilen glikol, glicerol, propilen glikol ili druga sintetička otapala; antibakterijska sredstva kao što su benzil alkohol ili metil paraben; antioksidante kao što su askorbinska kiselina ili natrij bisulfit; sredstva keliranja kao što su etilen diamintetraoctena kiselina; pufere kao što su acetati, citrati ili fosfati i sredstva za podešavanje volumena kao što su natrij klorid ili dekstroza. Parenteralni preparati mogu se nalaziti u ampulama, raspoloživim špricama ili višestrukim vialama načinjenim od stakla ili plastike. Preferirane pripreme i preparate može odrediti prosječno stručna osoba.

Spoj ovog izuma također se može primijeniti lokalno, a tada nosač pogodno sadržava otopinu, mast ili gel bazu. Baza, na primjer, može uključivati jedan ili više od sljedećih sastojaka: bijeli vazelin, lanolin, polietilenske glikole, pčelinji vosak, mineralno ulje, diluente kao što su voda i alkohol, te sredstva emulgiranja i stabilizatore. Formulacija za lokalnu primjenu može sadržavati spoj prikazan formulom I ili njegovu farmaceutsku sol u koncentraciji od oko 0,1 do oko 10% mas/v (masa po jedinici volumena).

Druga preferirana formulacija ovog izuma uključuje oblike za transdermalnu aplikaciju ("flastere"). Takvi transdermalni flasteri mogu biti upotrijebljeni kako bi omogućili kontinuirano ili diskontinuirano infuziju spoja ovog izuma u kontroliranim količinama. Izrada i upotreba transdermalnog flastera za primjenu farmaceutskog sredstva dobro je poznata struci. Vidi, npr., U. S. patent 5,023,252, izdan 11. lipnja, 1991, ovdje u tekstu uključen u referencama. Takvi flasteri mogu biti izrađeni za kontinuiranu, pulsirajuću ili prema zahtjevu dostavu farmaceutskog sredstva.

Kako bi se potpunije opisalo djelovanje spoja ovog izuma, uobičajeni farmaceutski pripravci opisani su dolje u tekstu. Primjeri su samo ilustrativni i ne pokušavaju ograničiti cilj ovog izuma na bilo koji način.

Formulacija primjera 1

Tvrde želatinozne kapsule koji sadrže sljedeće sastojke dobivaju se kako slijedi:

Sastojak	Količina (mg/kapsuli)
Djelatna tvar	30,0
Škrob	305,0
Magnezij stearat	5,0

Gore navedeni sastojci se pomiješaju i oblikuju u tvrde želatinozne kapsule veličine 340 mg.

Formulacija primjera 2

Tableta se dobiva upotrebom sastojka navedenih dolje u tekstu:

Sastojak	Količina (mg/tableti)
Djelatna tvar	25,0
Celuloza, mikrokristalična	200,0
Koloidni silicij dioksid	10,0
Stearinska kiselina	5,0

Sastojci se izmiješaju i komprimiraju dajući tablete, svaka težine 240 mg.

Formulacija primjera 3

Formulacija inhalatora sa suhim prahom dobiva se iz sljedećih sastojaka:

Sastojak	Maseni %
Djelatna tvar	5
Laktoza	95

Djelatna tvar se izmiješa sa laktozom i smjesa se doda u inhalator suhog praha.

Formulacija primjera 4

5

Tablete, od kojih svaka sadrži 30 mg djelatnog sastojka, dobivaju se kako slijedi:

Sastojak	Količina (mg/tableti)
Djelatna tvar	30,0 mg
Škrob	45,0 mg
Mikrokristalična celuloza	35,0 mg
Polivinilpirolidon (kao 10% otopina u sterilnoj vodi)	4,0 mg
Natrij karboksimetilni škrob	4,5 mg
Magnezij stearat	0,5 mg
Talk	1,0 mg
Ukupno	120 mg

10

Djelatni sastojak, škrob i celuloza propuste se kroz sito s veličinom zrna U. S. br. 20 i temeljito pomiješaju. S nastalim prahom pomiješa se otopina polivinil-pirolidona, a nastala se smjesa zatim propusti kroz sito veličine zrna U. S. 16. Tako nastale granule osuše se na 50 do 60 °C i propuste kroz sito s veličinom zrna U. S. 16. Zatim se granulama dodaju natrij karboksimetil škrob, magnezij stearat i talk, prije propušteni kroz sito veličine zrna U. S. br. 30, te se nakon miješanja, smjesa komprimira u tablete dajući tablete svaku težine 150 mg.

15

Formulacija primjera 5

Kapsule, od kojih svaka sadrži 40 mg medikamenta dobivaju se kako slijedi:

Sastojak	Količina (mg/kapsuli)
Djelatna tvar	40,0 mg
Škrob	109,0 mg
Magnezij stearat	1,0 mg
Ukupno	150,0 mg

20

Djelatni sastojak, škrob i magnezij stearat pomiješaju se, propuste kroz sito veličine zrna U. S. br. 20, te se pune u tvrde želatinozne kapsule svaka težine 150 mg.

Formulacija primjera 6

25

Čepići, od kojih svaki sadrži 25 mg djelatnog sastojka dobivaju se kako slijedi:

Sastojak	Količina
Djelatna tvar	25 mg
Gliceridi zasićenih masnih kiselina	2,000 mg

30

Djelatni sastojak propusti se kroz sito veličine zrna U. S. br. 60 i suspendira u gliceridima zasićenih masnih kiselina koji su prije otopljeni upotrebom najmanje potrebne topline. Smjesa se zatim izlije u kalup za čepiće nominalne veličine od 2,0 g i ostavi se da se ohladi.

Formulacija primjera 7

Suspenzije, od kojih svaka sadrži 50 mg medikamenta po 5,0 ml doze, dobivaju se kako slijedi:

35

Sastojak	Količina
Djelatna tvar	50,0 mg
Ksantan guma	4,0 mg
Natrij karboksimetil celuloza (11%)	
Mikrokristalična celuloza (89%)	50,0 mg
Sukroza	1,75 mg

Natrij benzoat	10,0 mg
Okus i boja	p.p.
Pročišćena voda do	5,0 ml

Djelatni sastojak, sukroza i ksantan guma pomiješaju se, propuste kroz sito veličine zrna U. S. br. 10 i zatim pomiješaju s prije pripremljenom otopinom mikrokristalične celuloze i natrij karboksimetil celuloze u vodi. Natrij benzoat, sredstvo koje daje okus i boju razrijede se s malo vode i dodaju uz miješanje.

Dovoljna količina vode se zatim doda dajući potrebni volumen.

Formulacija primjera 8

Kapsule, od kojih svaka sadrži 15 mg lijeka dobivaju se kako slijedi:

Sastojak	Količina (mg/kapsuli)
Djelatna tvar	15,0 mg
Škrob	407,0 mg
Magnezij stearat	3,0 mg
Ukupno	425,0 mg

Djelatni sastojak, škrob i magnezij stearat pomiješaju se, propuste kroz sito veličine zrna U. S. 20 i punc u tvrde želatinozne kapsule svaka veličine 560 mg.

Formulacija primjera 9

Supkutana formulacija se može pripremiti kako slijedi:

Sastojak	Količina
Djelatna tvar	1,0 mg
Kukuruzno ulje	1 ml

Ovisno o topivosti djelatnog sastojka u kukuruzno ulju, ako je potrebno sve do oko 5,0 mg ili više djelatnog sastojka može biti uključeno u ovu formulaciju).

Formulacija primjera 10

Formulacija za lokalnu primjenu može se pripremiti kako slijedi:

Sastojak	Količina
Djelatna tvar	1-10 g
Emulgirajući vosak	30 g
Tekući parafin	20 g
Bijeli mekani Parafin	do 100 g

Bijeli mekani parafin se zagrijava dok se ne otopi. Tekući parafin i emulgirajući vosak pomiješaju se i miješaju dok se ne otope. Djelatni sastojak se dodaje i miješanje se nastavlja do disperzije uzorka. Smjesa se ohladi dok se ne stvrdne.

U jednom od aspekata postupka, ovaj izum je usmjeren na postupak za inhibiciju otpuštanja i/ili sinteze β -amiloid peptida, a postupak uključuje primjenu, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine kristaličnog (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata. U određenom postupku izvedbe, ovaj izum opisuje postupak liječenja Alzheimerove bolesti koji uključuje primjenu, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine kristaličnog dihidrata (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona.

Također je prepoznato da prosječno stručna osoba može djelovati na Alzheimerovu bolest liječenjem pacijenta koji boluje od te bolesti ili profilaktičkim djelovanjem na pacijentu koji ima rizik za nastanak bolesti. Prema tome, izrazima "liječenje" i "postupak liječenja" nastojalo se da se odnose na sve postupke kojima se može usporiti, ometati, obustaviti, kontrolirati ili zaustaviti napredak Alzheimerove bolesti, ali neophodno taj postupak ne indicira na totalnu eliminaciju svih simptoma. Kao takvi, ovi postupci uključeni su u prevenciju početka Alzheimerove bolesti kod pacijenta koji ima rizik za razvoj Alzheimerove bolesti, inhibiciju napretka Alzheimerove bolesti i liječenje uznapredovale Alzheimerove bolesti.

Kao što je upotrijebljen ovdje, izraz "pacijent" odnosi se na toplokrvnu životinju, kao što su sisavci, koja je pogođena poremećajem povezanim s povećanim otpuštanjem i/ili sintezom β -amiloid peptida, uključujući Alzheimerovu bolest. Podrazumijeva se da zamorci, psi, mačke, štakori, miševi, konji, goveda, ovce i ljudi su primjeri životinja koje podrazumijeva značenje izraza. Pacijenti koji imaju potrebu za takvim liječenjem su lako dijagnosticiraju.

Kao što je upotrijebljen ovdje, izraz "djelotvorna količina" spoja prikazanog formulom I odnosi se na količinu koja je djelotvorna za inhibiciju otpuštanja i/ili sinteze β -amiloid peptida, a specifično, za liječenje Alzheimerove bolesti.

Djelotvornu količinu lako se može odrediti dijagnostički, prosječno stručnom osobom, upotrebom uobičajenih tehnika i promatranjem rezultata dobivenih pod jednakim okolnostima. U određivanju djelotvorne količine, doze kristaličnog N-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona, prisutni dijagnostičar razmatra čitav niz faktora, uključujući, ali ne ograničavajući na: potencijal i karakteristike N-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona; vrstu pacijenta; njegovu veličinu, dob i opće zdravstveno stanje; stupanj razvoja ili ozbiljnost bolesti; odgovor svakog pojedinog pacijenta; način primjene; bioraspoložive karakteristike primijenjenog pripravka; odabranog režima doziranja; upotrebe drugih popratnih lijekova i drugih relevantnih okolnosti.

Djelotvorna količina kristaličnog N-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata očekivano je u rasponu od oko 0,1 miligrama po kilogramu tjelesne težine po danu (mg/kg/dan) do oko 100 mg/kg/dan. Preferirane količine može odrediti prosječno stručna osoba.

N-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat ovog izuma može se testirati u različitim biološkim sustavima uključujući sljedeće primjere.

Primjer A

Stanični test za određivanje inhibicije produkcije β -amiloida

Čitav niz spojeva prikazanih formulom I gore u tekstu, testirani su za sposobnost inhibicije produkcije β -amiloida u staničnom nizu koji posjeduje Švedsku mutaciju. Taj *screening* test uključuje stanice (K293=ljudske stanice bubrega) koje su stabilno infektirane s genom za amiloidni prekursor proteina 751 (APP751) koji sadrži dvostruku mutaciju LyS₆₅₁Met₆₅₂ do Asn₆₅₁Leu₆₅₂ (APP751 oznaka) na način opisan u International Patent Application Publication br. 94/10569⁸ i prema Citronu i suradnicima¹². Ta mutacija je uobičajeno zvana Švedska mutacija, a stanice, označene kao "293 751 SWE", stave se u Corningove ploče s 96 jažica 2-4 x 10⁴ stanica po jažici u Dulbeccovom minimalno esencijalnom mediju (Sigma, St. Louis, MO) plus 10% fetalnog govedeg seruma. Broj stanice je važan u svrhu postizanja ELISA rezultata β -amiloida unutar linearnog raspona testa (-0,2 do 2,5 ng po mL).

Nakon inkubacije preko noći na 37 °C u inkubatoru uravnoteženom s 10% ugljičnim dioksidom, medij se ukloni i zamjeni s 200 μ L spoja prikazanog formulom I (lijeak) koji sadrži medij za jažice kojim su jažice tretirane 2 sata prije testa, a stanice se inkubiraju kao što je gore opisano. Ishodna otopina lijeka pripremi se u 100% dimetil sulfoksidu tako da je uz konačnu koncentraciju lijeka upotrijebljenu u liječenju, koncentracija dimetil sulfoksida ne prelazi 0,5% i, u biti, obično je jednaka 0,1%.

Na kraju pretretmana, medij se ponovo ukloni i zamjeni sa svježim lijekom koji sadrži medij kao i gore u tekstu, a stanice se inkubiraju dodatna dva sata. Nakon tretmana, ploče se centrifugiraju u Beckman GPR na 1200 rpm tijekom pet minuta na sobnoj temperaturi odvajajući stanične ostatke od kondicioniranog medija. Iz svake jažice, 100 μ L kondicioniranog medija ili odgovarajuće njegovo razrjeđenje prenese se u ELISA ploču presvučenu s antitijelima 266 [P. Seubert, *Nature* (1992) 359: 325-327] za aminokiseline 13-28 iz β -amiloid peptida kao što je opisano u International Patent Application Publication br. 94/105698 i sve se pohrani na 4 °C tijekom noći. ELISA test uključuje označena antitijela 3D6 [P. Seubert, *Nature* (1992) 359: 325-327] za aminokiseline 1-5 iz β -amiloid peptida i izvodi se sljedeći dan kako bi se odredila količina nastalog β -amiloid peptida.

Citotoksični utjecaji spojeva određuju se modificiranim postupkom Hansena i suradnika. Stanicama preostalim u tkivnoj kulturi na ploči doda se 25 μ L izvorne otopine 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolij bromida (MTT) (Sigma, St. Louis, MO) (5 mg/mL) do konačne koncentracije od 1 mg/mL. Stanice se inkubiraju na 37 °C tijekom jednog sata, a stanična aktivnost se zaustavi dodatkom jednakog volumena MTT lizirajućeg pufera (20% mas/vol natrij dodecilsulfat u 50% dimetilformamida, pH 4,7). Potpuna ekstrakcija se postigne mućkanjem preko noći na sobnoj temperaturi. Razlika u OD_{562nm} i OD_{650nm} mjeri se u molekularnom čitaču UV_{max} mikroploče kao indikator stanične sposobnosti za život.

Rezultati ELISA testa β -amiloid peptida prilagođeni su standardnoj krivulji i izraženi su kao ng/mL β -amiloid peptida. Sa svrhom normaliziranja citotoksičnosti, ti rezultati se dijele s MTT rezultatima i izražavaju kao postotak rezultata od

kontrole koja ne sadrži lijek. Svi rezultati su srednja vrijednost i standardna devijacija od barem šest ponovljenih testiranja.

Primjer B

In Vivo inhibicija otpuštanja i/ili sinteze β -amiloida

Ovaj primjer ilustrativno opisuje kako spojevi ovog izuma mogu biti testirani za *in vivo* inhibiciju otpuštanja i/ili sinteze β -amiloida. Za te eksperimente upotrebljavaju se 3 do 4 mjeseca stari PDAPP miševi [Games i suradnici, (1995) *Nature* 373: 523-527]. Ovisno o tome koji se spoj testira, spoj je obično formuliran u koncentraciji između 1 i 10 mg/mL. Zbog niskih faktora topivosti spojeva, oni mogu biti formulirani s različitim nosačima, kao što su kukuruzno ulje (Safeway, South San Francisco, CA); 10% etanol u kukuruznom ulju; 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrin (Research Biochemicals International, Natick MA); i karboksi-metil-celuloza (Sigma Kemijski Co., St. Louis MO).

Miševi su dozirani supkutano s iglom debljine 26, a 3 sata nakon što su životinje eutanazirane pomoću CO₂ narkoze, krv se uzme srčanom punkturom upotrebom 1 cc 25G 5/8" tuberkulin injekcije/igle presvučene s otopinom 0,5 M EDTA, pH 8,0. Krv se smjesti u Becton Dickinson vakutenere koji sadrže EDTA, te se oni centrifugiraju 15 minuta na 1500 xg na 5 °C. Mišji mozak se zatim ukloni, a moždana kora i hipokampus se izvade i smjese na led.

Test na mozgu

Za dobivanje tkiva hipokampusa i moždane kore za enzimom označen imuno apsorpcijske testove (ELISA) svaka regija mozga homogenizira se u 10 volumena ledeno hladnog gvanidin pufera (5,0 M gvanidin-HCl, 50 mM Tris-HCl, pH 8,0) upotrebom Kontes motorizirane miješalice (Fisher, Pittsburgh PA). Homogenati se lagano miješaju na rotacijskoj platformi tijekom tri do četiri sata na sobnoj temperaturi i pohrane na -20 °C prije kvantitativnog određivanja β -amiloida.

Homogenati mozga se razrijede 1:10 u ledeno hladnom kazein puferu [0,25% kazein, otopina soli puferirana fosfatom (PBS), 0,05% natrij azid, 20 μ g/ml aprotinina, 5 mM EDTA, pH 8,0, 10 μ g/ml leupeptina], a time se reducira konačna koncentracija gvanidina do 0,5 M prije centrifugiranja na 16,000 xg tijekom 20 minuta na 4 °C. Ako je potrebno uzorci se nadalje razrijede da bi se postigao optimalni raspon za ELISA mjerenje, i to dodatkom kazein pufera s 0,5 M gvanidin hidroklorida. β -amiloid standardi (1-40 ili 1-42 aminokiseline) pripreme se tako da je konačni pripravak ekvivalentan 0,5 M gvanidinu u prisutnosti 0,1% serumskih albumina goveda (BSA).

Ukupni ELISA *sandwich* β -amiloida, kvantitativno određuje i β -amiloid (ak 1-40) i β -amiloid (ak 1-42), a sastoji se od dva monoklona antitijela (mAb) na β -amiloidu. Antitijelo koje se veže, 266 [P. Seubert, *Nature* (1992) **359**: 325-327], specifično je za aminokiseline 13-28 β -amiloida. Antitijelo 3D6 [Johnson-Wood i suradnici, *PNAS USA* (1997) **94**: 1550-1555], koje je specifično za aminokiseline 1-5 β -amiloida, biotinizirano je i djeluje kao reporter antitijelo u testu. 3D6 biotinizirajući postupak uključuje protokol proizvođača (Pierce, Rockford IL) za NHS-biotinom označavanje imunoglobulina osim što se upotrijebi i 100 mM natrij bikarbonatni pufer, pH 8,5. 3D6 antitijelo ne prepoznaje skrivene proteine amiloidnih prekursora (APP) ili APP pune dužine, ali određuje samo β -amiloidne vrste s aspartičnom kiselinom kao terminalnom aminokiselinom. Test ima nižu granicu osjetljivosti od ~50 pg/ml (11 pM) i ne pokazuje križnu reaktivnost na endogeni murin β -amiloid peptida u koncentracijama sve do 1 ng/ml.

Konfiguracija ELISA *sandwicha* za kvantitativno određivanje nivoa β -amiloida (ak 1-42) uključuje mAb 21F12 [Johnson-Wood i suradnici, *PNAS USA* (1997) **94**: 1550-1555] (koji prepoznaje aminokiseline 33-42 β -amiloida) kao antitijelo koje se veže. Biotinizirani 3D6 je također reporter antitijelo u ovome testu koji ima nižu granicu osjetljivosti od ~125 pg/ml (28 pM).

266 i 21F12 mAbs koja se vežu presvučena su s 10 μ g/ml na ploči za imunotest s 96 jažica (Costar, Cambridge MA) preko noći na sobnoj temperaturi. Ploče se zatim ispiraju i postupak se zaustavi s 0,25% albuminima humanog seruma u PBS puferu tijekom barem 1 sata na sobnoj temperaturi, a zatim se pohrane posušeni na 4 °C do upotrebe. Prije upotrebe ploče se ponovo navlaže s puferom za ispiranje (otopina soli puferirana Trisom, 0,05% Tween 20). Uzorci i standardi dodaju se na ploče i inkubiraju preko noći na 4 °C. Ploče se isperu 3 puta s puferom za ispiranje između svakog stupnja u testu. Biotinizirani 3D6, razrijeđen do 0,5 μ g/ml u kazein inkubacijskom puferu (0,25% kazein, PBS, 0,05% Tween 20, pH 7,4) inkubira se u jažicama tijekom 1 sata na sobnoj temperaturi. Avidin-HRP (Vector, Burlingame CA) razrijeđen u omjeru 1:4000 u kazein inkubacijskom puferu doda se u jažice za 1 sat na sobnoj temperaturi. Doda se kolorimetrijski supstrat, spori TMB-ELISA (Pierce, Cambridge MA) i ostavi da reagira tijekom 15 minuta, a nakon toga enzimski reakcija se zaustavi dodatkom 2N H₂SO₄. Reakcijski produkt je kvantitativno određen Molecular Devices Vmax (Molecular Devices, Menlo Park CA) mjerenjem razlike u apsorpciji na 450 nm i 650 nm.

Test krvi

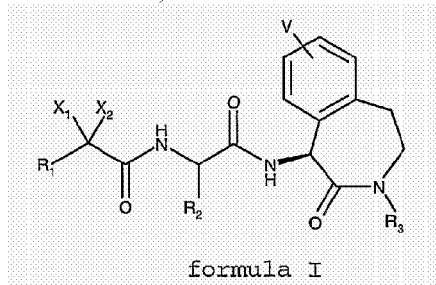
Plazma razrijeđena s EDTA u omjeru 1:1 u uzorku diluenta (0,2 gm/l natrij fosfat-H₂O (monobazični), 2,16 gm/l natrij fosfat-7H₂O (dibazični), 0,5gm/l timerozal, 8,5 gm/l natrij klorid, 0,5 ml Triton X-405, 6,0 g/l albumin goveđeg seruma bez prisutnosti globulina; i voda). Uzorci i standardi u uzorku diluenta testiraju se upotrebom testa za ukupni β-amiloid (266 vezni/3D6 reporter) opisan gore za test mozga osim što se upotrijebi uzorak diluenta umjesto opisanog kazein diluenta.

Iz gore navedenog opisa, prosječno stručnim osobama pojavit će se različite modifikacije i promjene u pripremu i postupku. Za sve takve modifikacije koje su unutar cilja zahtjeva koji slijede nastojalo se da budu uključene u njima.

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Spoj, **naznačen time**, da spoj je (N)-((S)-2-Hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat.
2. Kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da je nadalje okarakteriziran uzorkom difrakcije praha X-zrakom koji obuhvaća pikove na 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 ili 20,63 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
3. Kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da ja nadalje okarakteriziran uzorkom difrakcije praha X-zrakom koji obuhvaća pikove na 8,36 i 15,34 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
4. Kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da ja nadalje okarakteriziran uzorkom difrakcije praha X-zrakom koji obuhvaća pikove na 8,36 i 12,43 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
5. Kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da ja nadalje okarakteriziran uzorkom difrakcije praha X-zrakom koji obuhvaća pikove na 8,36, 12,43 i 15,34 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
6. Kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da ja nadalje okarakteriziran uzorkom difrakcije praha X-zrakom koji obuhvaća pikove na 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 i 20,63 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
7. Kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat prema zahtjevu 2, **naznačen time**, da ja nadalje okarakteriziran ¹³C nuklearnom magnetskom rezonancijom čvrstog stanja uz kemijski pomak (ppm) od 75,6, 35,3, 21,4 ili 16,6 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
8. Kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrat prema zahtjevu 2, **naznačen time**, da ja nadalje okarakteriziran ¹³C nuklearnom magnetskom rezonancijom čvrstog stanja uz kemijski pomak (ppm) od 75,6, 35,3, 21,4 i 16,6 ($2\theta \pm 0,2^\circ$).
9. Farmaceutski pripravak, **naznačen time**, da se sastoji od (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata i farmaceutski prihvatljivog diluenta.
10. Postupak inhibicije otpuštanja i/ili sinteze β-amiloid peptida, **naznačen time**, da se sastoji od primjene, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata.
11. Postupak liječenja Alzheimerove bolesti, **naznačen time**, da se sastoji od primjene, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata.
12. Postupak liječenja Alzheimerove bolesti, **naznačen time**, da se sastoji od primjene, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata prema bilo kojem od zahtjeva 2,3,4,5, 6, ili 7.
13. Postupak prevencije Alzheimerove bolesti, **naznačen time**, da se sastoji od primjene, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata.
14. Postupak prevencije Alzheimerove bolesti, **naznačen time**, da se sastoji od primjene, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata prema bilo kojem od zahtjeva 2,3,4,5,6, ili 7.
15. Postupak inhibicije napredovanja Alzheimerove bolesti, **naznačen time**, da uključuje primjenu, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine kristaličnog (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata.
16. Postupak inhibicije napredovanja Alzheimerove bolesti, **naznačen time**, da uključuje primjenu, na pacijentu koji ima potrebu za takvim postupkom, djelotvorne količine (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata prema bilo kojem od zahtjeva 2,3,4,5,6 ili 7.

17. Postupak dobivanja kristaličnog (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on dihidrata prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da ja nadalje okarakteriziran uzorkom difrakcije praha X-zrakom koja obuhvaća pik na 8,36, 12,43, 15,34, 19,22, 20,50 ili 20,63 ($2\theta \pm 0,2^\circ$) i uključuje kristalizaciju (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona iz vodenog otapala.
18. Postupak prema zahtjevu 17, **naznačen time**, da vodeno otapalo uključuje aceton i vodu.
19. Postupak dobivanja laktama prikazanih formulom I,



pri čemu

R_1 je alkil, alkenil, alkinil, cikloalkil, cikloalkenil, supstituirani alkil, supstituirani alkenil, supstituirani alkinil, supstituirani cikloalkil, supstituirani cikloalkenil, aril, heteroaril i heterocikl;

R_2 je alkil, supstituirani alkil, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, cikloalkil, aril, heteroaril i heterocikl;

R_3 je alkil,

X_1 je vodik, hidroksi ili fluor,

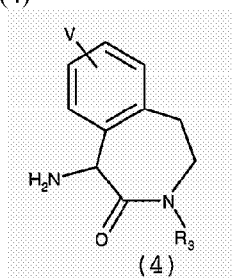
X_2 je vodik, hidroksi ili fluor, ili

X_1 i X_2 zajedno tvore okso skupinu; i

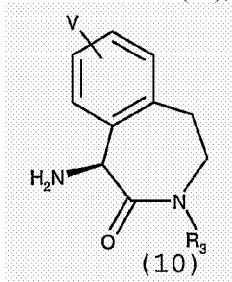
V je od 1 do 3 skupine neovisno odabrane iz skupine koju čine vodik, hidroksi, acil, aciloksi, alkil, supstituirani alkil, alkoksi, supstituirani alkoksi, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, amino, aminoacil, alkaril, aril, ariloksi, karboksil, karboksilalkil, cijano, halo, nitro, heteroaril, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi i trihalometil;

naznačen time, da uključuje:

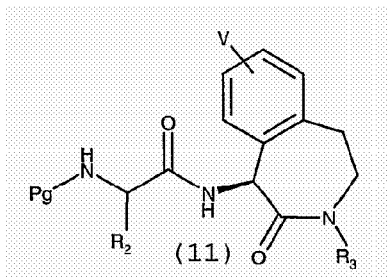
(a) konverziju laktama prikazanog formulom (4)



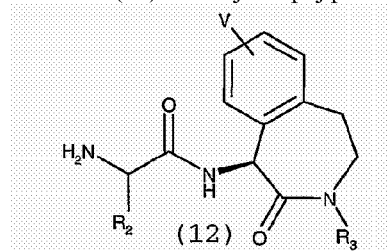
pri čemu R_3 i V jesu kao što su opisani za spoj prikazan formulom I, kristalizacijom njegove kisele adicijske soli kiseline odabrane iz skupine koju čine di-p-tolil-1-vinska kiselina, (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina i (D)-(-)-bademova kiselina pri čemu se dobiva spoj prikazan formulom (10);



(b) spajanje spoja prikazanog formulom (1) s odgovarajućom aminokiselinom sa zaštićenom amino skupinom prikazanom formulom $\text{PgNH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ u kojoj R_2 je kao što je opisan za spoj prikazan formulom I, A je aktivirajuća skupina, na primjer, -OH, -Br ili -Cl, a Pg je zaštitna skupina amina, pri čemu se dobiva spoj prikazan formulom (11)



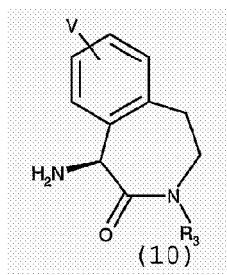
(c) uklanjanje zaštite spoja prikazanog formulom (11) dobivajući spoj prikazan formulom (12); i



(d) spajanje spoja prikazanog formulom (12) s odgovarajućim spojem prikazanim formulom $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)A}_1$ u kojoj R_1 , X_1 i X_2 jesu kao što su opisani za spoj prikazan formulom I, a A_1 je aktivirajuća skupina, na primjer, -OH, -Br ili -Cl; ili

(a2) spajanje spoja prikazanog formulom (10) sa spojem prikazanim formulom $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)NH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ u kojoj R_1 , R_2 , X_1 i X_2 jesu kao što su opisani za spoj prikazan formulom I, a A je aktivirajuća skupina, na primjer, -OH, -Br ili -Cl.

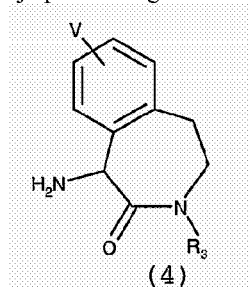
20. Postupak prema zahtjevu 16, **naznačen time**, da V je vodik, a R_3 je niži alkil.
21. Postupak prema zahtjevu 17, **naznačen time**, da kiselu adicijsku sol je od kiseline odabrane iz skupine koju čine di-p-tolil-1-vinska kiselina, (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina i (D)-(-)-bademova kiselina.
22. Postupak prema zahtjevu 18, **naznačen time**, da kiselina je di-p-tolil-1-vinska kiselina.
23. Postupak prema zahtjevu 18, **naznačen time**, da kiselina je (D)-(-)-bademova kiselina.
24. Postupak prema zahtjevu 18, **naznačen time**, da kiselina je (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina.
25. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 17, 18, 19, 20 ili 21, **naznačen time**, da se postupak izvodi u prisutnosti aldehida.
26. Postupak prema zahtjevu 22, **naznačen time**, da aldehid je salicilaldehid.
27. Postupak prema zahtjevu 23, **naznačen time**, da salicilaldehid je odabran iz skupine koju čine salicilaldehid, 5-nitrosalicilaldehid i 3,5-diklorosalicilaldehid.
28. Postupak za dobivanje (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona, **naznačen time**, da uključuje: kristalizaciju 1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona kao kiselu adicijsku sol kiseline odabrane iz skupine koju čine di-p-tolil-1-vinska kiselina, (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina i (D)-(-)-bademova kiselina; spajanje (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona s talogom L-alanina sa zaštićenom amino skupinom, čime se dobiva 1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on sa zaštićenom amino skupinom; uklanjanje zaštitne amino skupine čime se dobiva 1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-on; i spajanje sa (S)-2-hidroksi-3-metilmaslačnom kiselinom.
29. Postupak za dobivanje (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona, **naznačen time**, da uključuje: kristalizaciju 1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona kao kiselu adicijsku sol kiseline odabrane iz skupine koju čine di-p-tolil-1-vinska kiselina, (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina i (D)-(-)-bademova kiselina; spajanje (S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona s talogom (S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninila).
30. Postupak za dobivanje supstancijalno čistih laktama prikazanih formulom (10)



pri čemu
 R_3 je alkil, a

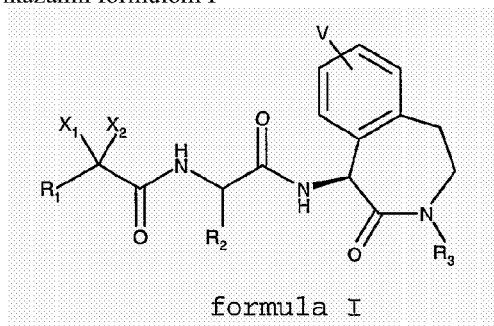
5 V je od 1 do 3 skupine neovisno odabrane iz skupine koju čine vodik, hidroksi, acil, aciloksi, alkil, supstituirani alkil, alkoksi, supstituirani alkoksi, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, amino, aminoacil, alkaril, aril, ariloksi, karboksil, karboksilalkil, cijano, halo, nitro, heteroaril, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi i trihalometil;

10 **naznačen time**, da uključuje: kristalizaciju spoja prikazanog formulom (4)



čime se dobiva spoj prikazan formulom (10) kao njegova kiselna adicijska sol kiseline odabrane iz skupine koju čine di-p-tolil-1-vinska kiselina, (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina i (D)-(-)-bademova kiselina.

31. Postupak prema zahtjevu 27, **naznačen time**, da V je vodik, a R_3 je niži alkil.
- 15 32. Postupak prema zahtjevu 28, **naznačen time**, da kiselna adicijska sol je od kiseline odabrane iz skupine koju čine di-p-tolil-1-vinska kiselina, (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina i (D)-(-)-bademova kiselina.
33. Postupak prema zahtjevu 28, **naznačen time**, da kiselina je di-p-tolil-1-vinska kiselina.
34. Postupak prema zahtjevu 28, **naznačen time**, da kiselina je (D)-(-)-bademova kiselina.
35. Postupak prema zahtjevu 28, **naznačen time**, da kiselina je (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina.
- 20 36. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 29, 30, 31 ili 32, **naznačen time**, da se postupak izvodi u prisutnosti aldehida.
37. Postupak prema zahtjevu 33, **naznačen time**, da aldehyd je salicilaldehid.
38. Postupak prema zahtjevu 34, **naznačen time**, da salicilaldehid je odabran iz skupine koju čine salicilaldehid, 5-nitrosalicilaldehid i 3,5-diklorosalicilaldehid.
- 25 39. Postupak za dobivanje laktama prikazanih formulom I



pri čemu
 R_1 je alkil, alkenil, alkinil, cikloalkil, cikloalkenil, supstituirani alkil, supstituirani alkenil, supstituirani alkinil, supstituirani cikloalkil, supstituirani cikloalkenil, aril, heteroaril i heterocikl;

30 R_2 je alkil, supstituirani alkil, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, cikloalkil, aril, heteroaril i heterocikl;

35 R_3 je alkil,

X_1 je vodik, hidroksi ili fluor,

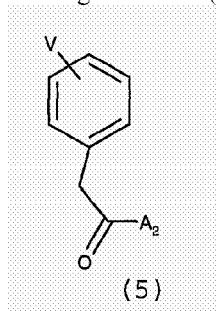
X_2 je vodik, hidroksi ili fluor, ili

5 X_1 i X_2 zajedno tvore okso group; i

10 V je od 1 to 3 skupine neovisno odabrane iz skupine koju čine vodik, hidroksi, acil, aciloksi, alkil, supstituirani alkil, alkoksi, supstituirani alkoksi, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, amino, aminoacil, alkaril, aril, ariloksi, karboksil, karboksilalkil, cijano, halo, nitro, heteroaril, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi i trihalometil;

naznačen time, da uključuje:

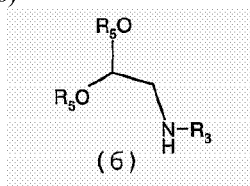
a) spajanje fenilnog derivata octene kiseline prikazanog formulom (5)



15

pri čemu

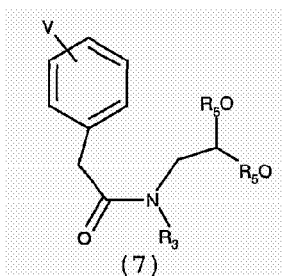
V je kao što je opisan za spoj prikazan formulom I, a A_2 je aktivirajuća skupina odabrana iz skupine koju čine -OH, -Cl ili -Br s acetalom prikazanim formulom (6)



20

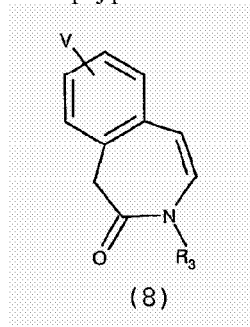
pri čemu

R_3 je kao što se zahtjeva za spoj prikazan formulom I, a R_5 je C_1 - C_4 alkil, pri čemu se dobiva spoj prikazan formulom (7)

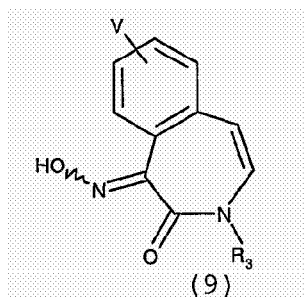


25

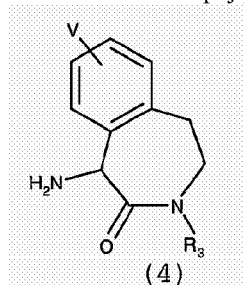
b) ciklizaciju spoja prikazanog formulom (7) u kiselini odabranoj iz skupine koju čine sumporna kiselina i trifluormetansulfonska kiselina pri čemu se dobiva spoj prikazan formulom (8)



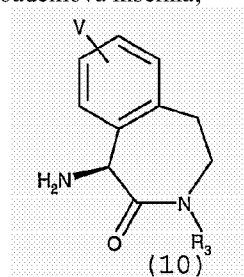
c) reakciju spoja prikazanog formulom (8) u reakciji u kojoj nastaje oksim pri čemu se dobiva spoj prikazan formulom (9)



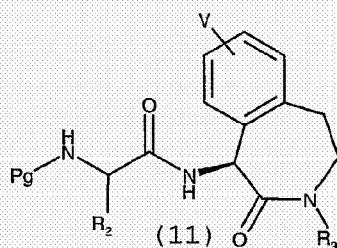
d) redukciju spoja prikazanog formulom (9) pri čemu se dobiva spoj prikazan formulom (4)



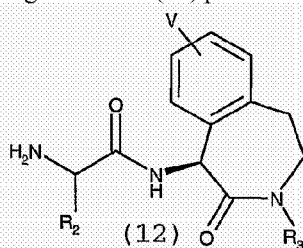
e) konverziju laktama prikazanog formulom (4) frakcionalnom kristalizacijom pri čemu se dobiva spoj prikazan formulom (10) kao njegova kisela adicijska sol kiseline odabrane iz skupine koju čine di-p-tolil-1-vinska kiselina, (R)-(-)-10-kamforsulfonska kiselina i (D)-(-)-bademova kiselina;



f) spajanje s odgovarajućom aminokiselinom sa zaštićenom amino skupinom prikazanom formulom $\text{PgNH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ pri čemu R_2 je kao što je opisan za spoj prikazan formulom I, A je aktivirajuća skupina, na primjer, -OH, -Br ili -Cl, a Pg je zaštitna skupina amina, pri čemu se dobiva spoj prikazan formulom (11)



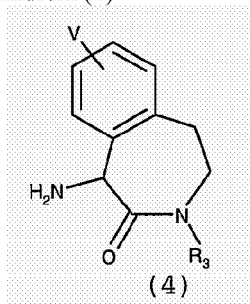
g) uklanjanje zaštitne skupina spoja prikazanog formulom (11) pri čemu se dobiva spoj prikazan formulom (12); i



h) spajanje spoja prikazanog formulom (12) s odgovarajućim spojem prikazanim formulom $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)A}_1$ pri čemu su R_1 , X_1 i X_2 kao što su opisani za spoj prikazan formulom I, a A_1 je aktivirajuća skupina, na primjer, -OH, -Br ili -Cl; ili

i) spajanje spoja prikazanog formulom (10) sa spojem prikazanim formulom $\text{R}_1\text{CX}_1\text{X}_2\text{-C(O)NH-CHR}_2\text{-C(O)-A}$ pri čemu su R_1 , R_2 , X_1 i X_2 kao što su opisani za spoj prikazan formulom I, a A je aktivirajuća skupina, na primjer, -OH, -Br ili -Cl.

40. Postupak za dobivanje laktama prikazanih formulom (4)

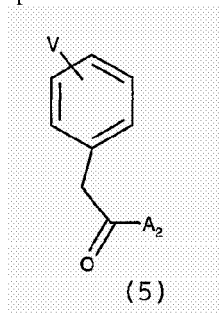


pri čemu
 R_3 je alkil, i

V je od 1 do 3 skupine neovisno odabrane iz skupine koju čine vodik, hidroksi, acil, aciloksi, alkil, supstituirani alkil, alkoksi, supstituirani alkoksi, alkenil, supstituirani alkenil, alkinil, supstituirani alkinil, amino, aminoacil, alkaril, aril, ariloksi, karboksil, karboksilalkil, cijano, halo, nitro, heteroaril, tioalkoksi, supstituirani tioalkoksi, i trihalometil;

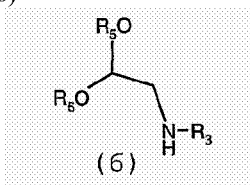
naznačen time, da uključuje:

a) spajanje s fenilnim derivatom octene kiseline prikazanim formulom (5)



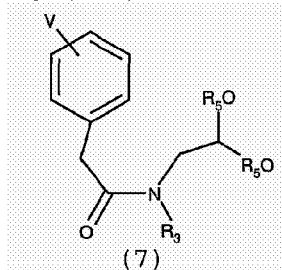
pri čemu

V je kao što je opisan za spoj prikazan formulom I, a A_2 je aktivirajuća skupina odabrana iz skupine koju čine -OH, -Cl ili -Br s acetalom prikazanim formulom (6)

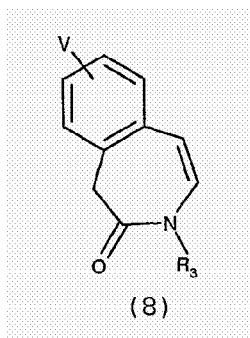


pri čemu

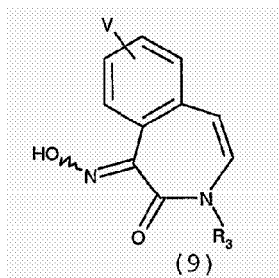
R_3 je kao što je opisano za formulu I, a R_5 je C_1 - C_4 alkil, čime se dobiva spoja prikazan formulom (7)



b) ciklizaciju spoja prikazanog formulom (7) u kiselini odabranoj iz skupine koju čine sumporna kiselina i trifluormetansulfonska kiselina čime se dobiva spoj prikazan formulom (8)



c) reakciju spoja prikazanog formulom (8) u reakciji u kojoj nastaje oksim čime se dobiva spoj prikazan formulom (9)



- 5 d) redukciju spoja prikazanog formulom (9).
41. Spoj prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 8, **naznačen time**, da je za upotrebu kao lijek.
42. Spoj prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 8, **naznačen time**, da je za upotrebu u liječenju Alzheimerove bolesti.
43. Spoj prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 8, **naznačen time**, da je za upotrebu u prevenciji Alzheimerove bolesti.
- 10 44. Spoj prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 8, **naznačen time**, da je za upotrebu za inhibiciju otpuštanja i/ili sinteze β -amiloid peptida.
45. Spoj prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 8, **naznačen time**, da je za upotrebu za sprječavanje napredovanja Alzheimerove bolesti.
46. Upotreba spoja prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 8, **naznačena time**, da je za proizvodnju lijeka za inhibiciju otpuštanja i/ili sinteze β -amiloid peptida, uključujući liječenje Alzheimerove bolesti.
- 15 47. Upotreba spoja prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 7, **naznačena time**, da je za proizvodnju lijeka za prevenciju Alzheimerove bolesti i/ili inhibiciju napredovanja Alzheimerove bolesti.

SAŽETAK

20

Ovaj izum opisuje kristalični (N)-((S)-2-hidroksi-3-metil-butiril)-1-(L-alaninil)-(S)-1-amino-3-metil-4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-on didihidrat, njegove pripravke i postupke za upotrebu istih, postupke za dobivanje istih, te postupke za dobivanje njegovih međuprodukata.