



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2448933 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07D 403/12 (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2013.12.09
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2013.08.28
(86)	Europeisk søknadsnr	10728558.7
(86)	Europeisk innleveringsdag	2010.06.28
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2012.05.09
(30)	Prioritet	2009.06.30, US, 221708 P
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR
	Utpekte samarbeidende stater	BA ME RS
(73)	Innehaver	Eli Lilly and Company, Lilly Corporate Center, Indianapolis, IN 46285, US-USA
(72)	Oppfinner	CHEN, Xinchao, Eli Lilly And CompanyLilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, US-USA FRANK, Scott, Alan, Eli Lilly And CompanyLilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, US-USA REMICK, David, Michael, Eli Lilly And CompanyLilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, US-USA PEDERSEN, Steven, Wayne, Eli Lilly And CompanyLilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, US-USA
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

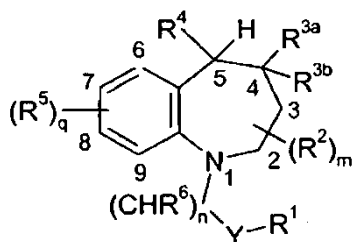
(54)	Benevnelse	Trans-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-BIS(trifluormetyl)fenyl]metul](2-metyl-2H-tetrazol-5-YL)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-YL]metyl]-sykloheksankarboksylysyre
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A1-2006/002342

TRANS-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-BIS(TRIFLUORMETYL)FENYL]METYL](2-METYL-2H-TETRAZOL-5-YL)AMINO]-2,3,4,5-TETRAHYDRO-7,9-DIMETHYL-1H-1-BENZAZEPIN-1-YL]METYL]-SYKLOHEKSANKARBOKSYLSYRE

Den foreliggende oppfinnelsen vedrører *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre, farmasøytisk akseptable salter og krystallinske former av denne forbindelsen, så vel som fremstilling derav og anvendelser av forbindelsen.

Dyslipidemi er en stor risikofaktor for hjerte- og karsykdommer (HK). Lave plasmanivåer av høydensitetlipoproteinkolesterol (HDL-c) med enten normale eller forhøyede nivåer av lavdensitetkolesterol (LDL-c) er en betydelig risikofaktor for utvikling av aterosklerose og assosiert koronar arteriesykdom. Kolesteryl- (eller kolesterol-) estertransferprotein (CETP) er et glykoprotein som forenkler utvekslingen av kolesterylester i HDL for triglyserider i triglyseridrike lipoproteiner. Sluttresultatet av CETP-aktivitet er en senkning av HDL-kolesterol og en økning i LDL-kolesterol. Denne effekten på lipoproteinprofil er antatt å være pro-aterogen, spesielt hos subjekter hvis lipidprofil utgjør en økt risiko for CHD.

Den publiserte PCT-søknaden WO 06/002342 beskriver enkelte forbindelser som har strukturen nedenfor hvor R¹-R⁶ er beskrevet deri, som er nyttige for behandling av hjerte- og karsykdommer.

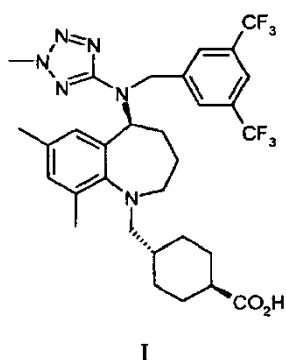


Til tross for den ovennevnte beskrivelsen er det fortsatt et stort behov for effektive forbindelser som er nyttige for å behandle hjerte- og karsykdommer, inkludert aterosklerose og/eller dyslipidemi.

Det er et behov for å tilveiebringe forbindelser som er effektive for å behandle hjerte- og karsykdom via oral dosering, og som er stabile i et surt miljø så som i magesekken. Videre må forbindelsene, etter administrasjon, fremvise tilstrekkelig høy biotilgjengelighet og/eller oral eksponering for mer effektiv behandling.

Den foreliggende oppfinnelsen er rettet mot disse behovene og tilveiebringer en forbindelse som er egnet for behandling av hjerte- og karsykdommer inkludert, men ikke begrenset til dyslipidemi og aterosklerose. Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en forbindelse som fremviser særlig fordelaktige og uventede egenskaper. De fysiske og farmakologiske egenskapene av forbindelsen det nå gjøres krav på, gjør den særlig egnet for formulering til tabletter for oral dosering. De særlig fordelaktige egenskapene inkluderer, blant annet, større stabilitet, oppløselighet og/eller biotilgjengelighet.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en forbindelse som er *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksan]karboksylsyre, (identifisert ifølge sitt Chemical Abstracts-indeksnavn (eng.: Chemical Abstracts Index Name) (henvist til heri som BCCA)) som har strukturen med formel I illustrert nedenfor, og farmasøytisk akseptable salter av denne forbindelsen.



Forbindelsen, BCCA, kan være en fri syre (henvist til heri som fri BCCA-syre), eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som et solvat (henvist til heri som BCCA•solvat) og et hydrat (henvist til heri som BCCA•hydrat). Solvatmolekylene inkluderer vann (som hydratet), metanol, etanol, maursyre, eddiksyre og isopropanol.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en forbindelse som er BCCA, et farmasøytisk akseptabelt salt derav, eller et hydrat eller solvat derav. I én form tilveiebringes forbindelsen BCCA som en fri syre. I andre former tilveiebringes BCCA som BCCA•hydrat eller BCCA•solvat (enten som en fri syre eller et salt) i krystallinsk form. I enda andre former tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen BCCA fra BCCA•hydrat eller BCCA•solvat til en amorf fast form.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en forbindelse som er BCCA•hydrat i krystallinsk form, kjennetegnet ved et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å), som omfatter topper ved: a) 7,5, 9,2, 10,7 og 15,5 $\pm 0,2$ i 2θ ; b) 7,5, 9,2, 10,7, 13,8, 15,0, 15,5 og 19,5 $\pm 0,2$ i 2θ ; eller c) 7,5, 9,2, 10,7, 13,8, 11,3, 15,0, 15,5, 17,7, 19,5 og 25,1 $\pm 0,2$ i 2θ .

I en annen form tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en forbindelse som er BCCA•hydrat i krystallinsk form, kjennetegnet ved et NMR-spektrum i fast tilstand som omfatter topper referert til adamantan ($\delta = 29,5$ ppm) ved: a) 175,6, 168,0, 61,1, 21,2 og 18,3 $\pm 0,2$ ppm; b) 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 61,1, 45,0, 21,2 og 18,3 $\pm 0,2$ ppm; eller c) 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 139,9, 136,3, 61,1, 53,0, 49,8, 45,0, 21,2 og 18,2 $\pm 0,2$ ppm.

I enda andre former tilveiebringes BCCA som BCCA•hydrat i krystallinsk form som kjennetegnet ved minst ett av følgende: a) et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å) som omfatter topper ved 7,5, 9,2, 10,7, og 15,5 $\pm 0,2$ i 2θ eller b) et NMR-spektrum i fast tilstand som omfatter topper referert til adamantan ($\delta = 29,5$ ppm) ved 175,6, 168,0, 61,1, 21,2 og 18,3 $\pm 0,2$ ppm.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en forbindelse som er BCCA•hemitert-butylaminsalt•hemietanolsolvat i krystallinsk form, kjennetegnet ved et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å), som omfatter topper ved: a) 5,5, 9,0, 14,3, 22,0 og 22,5 $\pm 0,2$ i 2θ ; eller b) 5,5, 9,0, 14,3, 17,5, 18,2, 19,4, 20,6, 22,0 og 22,5 $\pm 0,2$ i 2θ ; eller c) 5,5, 9,0, 13,2, 13,6, 14,3, 15,2, 17,5, 18,2, 19,4, 19,8, 20,6, 22,0 og 22,5 $\pm 0,2$ i 2θ .

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en forbindelse som er BCCA•maursyresolvat i krystallinsk form, kjennetegnet ved et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å), som omfatter toppe ved: a) 15,4, 16,9, 18,2 og 18,6 $\pm 0,2$ i 2 θ ; eller b) 15,4, 15,7, 16,9, 18,2, 18,6, 19,5, 22,8, 25,7 og 25,5 $\pm 0,2$ i 2 θ ; eller c) 13,0, 13,9, 15,4, 15,7, 16,9, 16,4, 18,2, 18,6, 19,5, 20,8, 22,8, 25,7 og 25,5 $\pm 0,2$ i 2 θ .

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en forbindelse som er BCCA•eddiksyresolvat i krystallinsk form, kjennetegnet ved et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å), som omfatter toppe ved: a) 12,9, 15,1, 18,4, 19,4 og 20,8 $\pm 0,2$ i 2 θ ; eller b) 12,9, 13,8, 15,1, 16,4, 17,8, 18,4, 19,4, 20,1 og 20,8 $\pm 0,2$ i 2 θ ; eller c) 11,00, 12,9, 13,8, 15,1, 15,6, 16,4, 17,8, 18,4, 19,4, 20,1, 20,8 og 21,7 $\pm 0,2$ i 2 θ .

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en forbindelse som er BCCA-*tert* butylaminsalt•isopropanolsolvat i krystallinsk form, kjennetegnet ved et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å), som omfatter toppe ved: a) 5,6, 11,3, 12,6 og 17,9 $\pm 0,2$ i 2 θ ; eller b) 5,6, 8,0, 11,3, 12,6, 17,9, 20,4 og 24,1 $\pm 0,2$ i 2 θ .

I en annen form tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en BCCA, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som et solvat, hvor solvatet er valgt fra: vann (også henvist til som et hydrat), metanol, etanol, isopropanol, maursyre, eller eddiksyre. Molforholdet mellom BCCA og solvat kan være fra 1:0,3 to 1:1, mer foretrukket mellom 1:0,5 til 1:1 $\pm 0,2$ (BCCA eller salt:solvat). Foretrukne solvater inkluderer vann, isopropanol og etanol.

I en annen form tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen BCCA som et farmasøytisk akseptabelt salt. Foretrukne kationer for det farmasøytisk akseptable saltet kan velges fra: natrium, kalium, magnesium, kalsium, sink eller et *tert*-butylamin (eller *tert*-butylammonium). Mer foretrukne kationer er natrium, kalsium og *tert*-butylamin.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer vesentlig ren BCCA som fri BCCA-syre eller farmasøytisk akseptable salter derav, BCCA•hydrat, BCCA•solvat (eller BCCA•hydrat) og BCCA salt•solvatet i krystallinsk form (hver for seg den

"refererte BCCA-formen") Som anvendt heri henviser betegnelsen "vesentlig ren" til en sammensetning omfattende mer enn 80 % vekt/vekt av den refererte BCCA-formen, foretrukket mer enn 95 % vekt/vekt av den refererte BCCA-formen, og enda mer foretrukket, mer enn 98 % vekt/vekt av referert BCCA-form. I et særlig foretrukket trekk tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen vesentlig rent BCCA•hydrat i krystallinsk form.

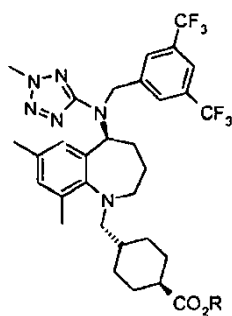
Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en farmasøytisk sammensetning omfattende BCCA, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og minst ett av et farmasøytisk akseptabelt: bærestoff, hjelpestoff eller fortynningsmiddel. I utvalgte former omfatter den farmasøytiske sammensetning en vesentlig ren BCCA som fri BCCA-syre eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, BCCA•solvat, BCCA-salt•solvat eller BCCA•hydrat i krystallinsk form. I et særlig foretrukket trekk tilveiebringer den farmasøytiske sammensetningen vesentlig rent BCCA•hydrat i krystallinsk form.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer anvendelsen av BCCA (som fri BCCA-syre eller dets farmasøytisk akseptable salt, BCCA-salt•solvat, BCCA•hydrat eller BCCA•solvat i krystallinsk form eller BCCA•hydrat i krystallinsk form) ifølge den foreliggende oppfinnelsen for produksjon av et medikament for behandling av hjerte- og karsykdommer inkludert, men ikke begrenset til dyslipidemi og aterosklerose.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer BCCA (som fri BCCA-syre; BCCA-salt•solvat, BCCA•hydrat eller BCCA•solvat i krystallinsk form ifølge den foreliggende oppfinnelsen) som et medikament. Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer også BCCA (som fri BCCA-syre; eller BCCA-salt•solvat, BCCA•hydrat, BCCA•solvat i krystallinsk form, i krystallinsk form ifølge den foreliggende oppfinnelsen) for anvendelse i terapi.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer BCCA (som fri BCCA-syre; eller BCCA•hydrat, BCCA salt•solvat eller BCCA•solvat i krystallinsk form ifølge den foreliggende oppfinnelsen) for anvendelse i behandlingen av hjerte- og karsykdommer inkludert, men ikke begrenset til dyslipidemi og aterosklerose.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer også en forbindelse med en struktur illustrert nedenfor:

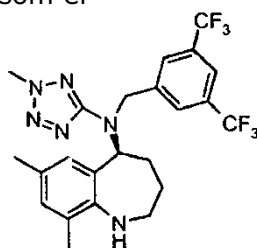


II;

hvor R er valgt fra en C₁₋₄-alkyl, C₃₋₆-sykloalkyl, C₁₋₄-alkyl-C₃₋₆-sykloalkyl, fenyl og C₁₋₅-alkylfenyl for å tilveiebringe en forbindelse med formel I eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. Foretrukne R-grupper inkluderer C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-haloalkyl, C₃₋₆-sykloalkyl, C₁₋₄-alkyl-C₃₋₆-sykloalkyl, fenyl og C₁₋₅-alkylfenyl. Særlig foretrukne R-grupper inkluderer metyl, etyl, fenyl og benzyl.

Betegnelsen C₁₋₄-alkyl eller C₁₋₅-alkyl som henvist til heri inkluderer en rettlinjert eller forgrenet alkylkjede som henholdsvis har fra 1 til 4 karbonatomer eller 1 til 5 karbonatomer. Betegnelsen haloalkyl henviser til en alkylgruppe som har det ene eller de flere halogenet/halogenene bundet til ett eller flere karbonatomer. Som oppgitt ovenfor kan alkylgruppen være en rettlinjert eller forgrenet kjede. Foretrukne halogener er fluor, klor og brom. Fluor er særlig foretrukket.

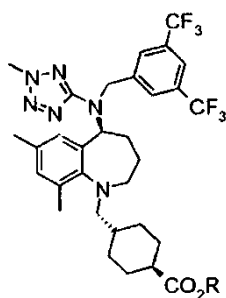
I enda en annen form tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en forbindelse som er



III

eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en fremgangsmåte for fremstilling av BCCA. Fremgangsmåten inkluderer deesterifisering av en forbindelse med formelen II nedenfor:

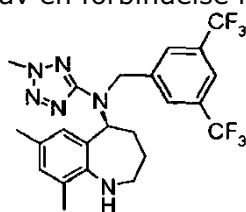


II

hvor R er valgt fra en C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-haloalkyl, C₃₋₆-sykloalkyl, C₁₋₄-alkyl-C₃₋₆-sykloalkyl, fenyl eller C₁₋₅-alkylfenyl for å tilveiebringe en forbindelse med formel I, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for å tilveiebringe BCCA eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. Foretrukne R-grupper inkluderer C₁₋₄-alkyl, fenyl og C₁₋₅-alkylfenyl. Særlig foretrukne R-grupper inkluderer metyl, etyl, fenyl og benzyl.

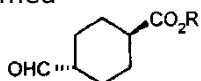
Fremgangsmåten kan også inkludere å avbeskytte en beskyttet karboksylsyresubstituent på sykloheksylgruppen. Eksempler på ulike syrebeskyttende funksjonaliteter, fremgangsmåter for fremstilling av de beskyttede syrene og fremgangsmåter for avbeskyttelse av syrene finnes i "Protecting Groups in Organic Synthesis", 3. utg. Greene, T.W., Wuts, P.G.M., utg. av John Wiley and Sons, New York, 1999. Fagmannen vil forstå at i tillegg til karboksylsyren og den beskyttede karboksylsyren kan andre funksjonelle grupper som lett kan omdannes til en karboksylsyre, anvendes i stedet karboksylsyren eller den beskyttede syren. Slike funksjonelle grupper, fremstillinger og omdannelser av disse gruppene til karboksylsyrer finnes i "Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations" av Larock, R.C, Wiley VCH, 1999 og i "March's Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure" Smith, M.B., og March, J., Wiley-Interscience, 6. utg. 2007.

I enda en annen form tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en fremgangsmåte som beskrevet ovenfor og som videre inkluderer kondensasjon av en forbindelse med formel III nedenfor



III

med



hvor R er som beskrevet ovenfor, for å tilveiebringe forbindelsen med formel I eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. Som oppgitt ovenfor kan karboksylsyren, esteren eller den beskyttede syren illustrert som CO₂R i strukturen like ovenfor, erstattes med en funksjonell gruppe som kan omdannes til karboksylsyren eller den beskyttede syren.

En effektiv CETP-hemmerforbindelse bør være stabil både kjemisk og termisk, fremvise tilstrekkelig oppløselighet for enkel administrasjon og formulering, og opprettholde tilstrekkelig aktivitet. Dessuten bør forbindelser fremvise en tilstrekkelig høy biotilgjengelighet for å tilveiebringe mengder av forbindelsen *in vivo* for effektiv behandling. Disse egenskapene som fremvises av BCCA, instrueres ikke og kan ikke forutses av kjent teknikk.

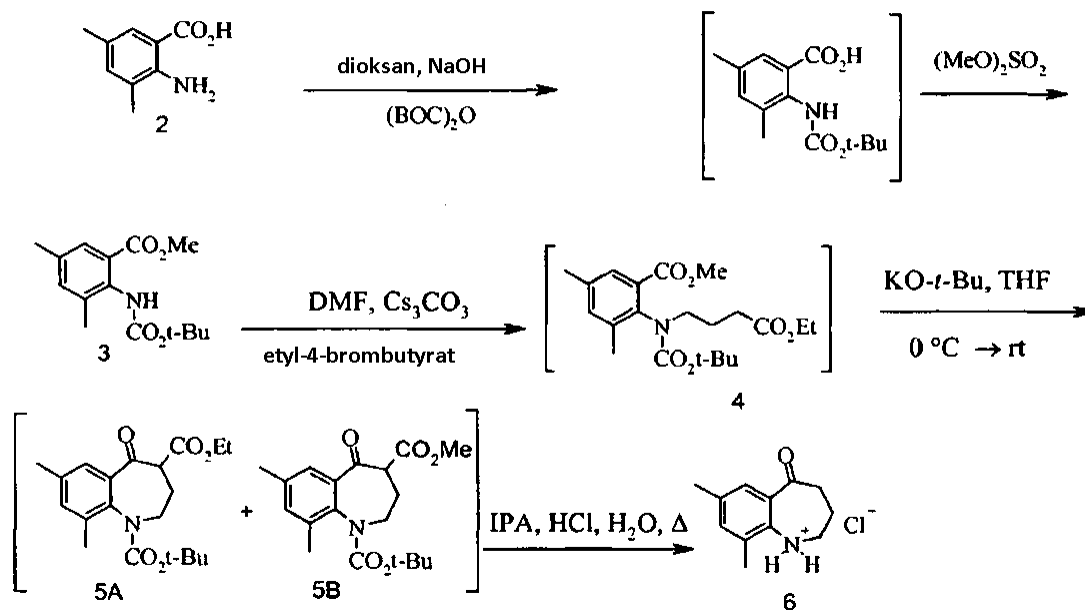
BCCA•hydrat kan lagres ved romtemperatur med mindre eller svært liten nedbrytning. Forbindelsen, BCCA•hydrat i krystallinsk form har en inntreden av desolvatering og/eller smelting, som målt ved differensiell skanning-kalorimetri, større enn omtrent 50 °C, som gjør den akseptabel for standard industriprosesser så som maling. Videre er BCCA, BCCA-*tert*-butylaminsalt • isopropanolsolvat, BCCA-hemi-*tert*-butylaminsalt • hemietanolsolvat og BCCA • hydrat i krystallinsk form er ikke-hygroskopiske ved lagring ved romtemperatur. I tillegg er farmasøytisk akseptable salter, så som kalsium- og sinksalter, vesentlig ikke-hygroskopiske ved lagring ved romtemperatur.

BCCA som fri syre, salt, solvat eller hydrat i krystallinsk form kan fremstilles ifølge de følgende prosedyrer, generelt illustrert nedenfor i skjema 1, 2, 3 og 4, mer spesifikt beskrevet i de følgende fremstillingene og eksemplene.

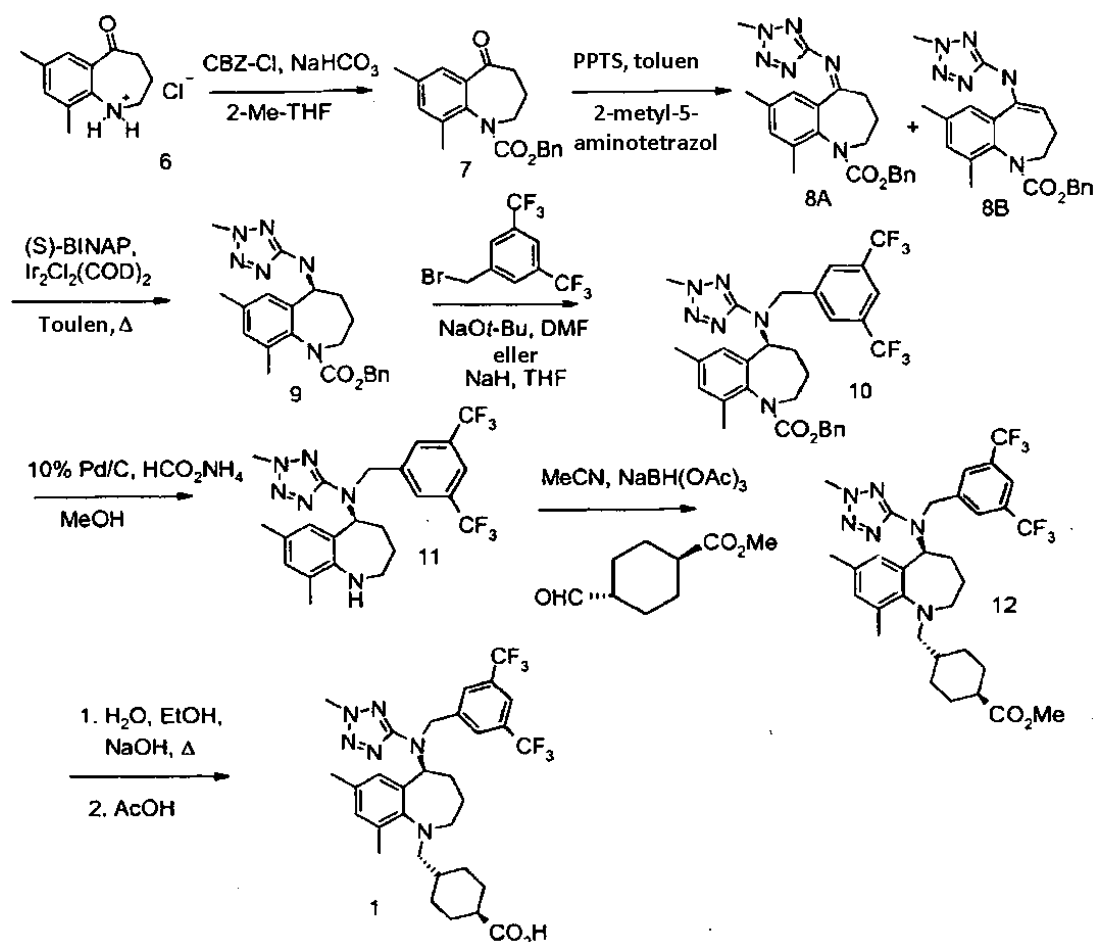
Følgende forkortelser er anvendt heri: ACN henviser til acetonitril; AcOH henviser til eddiksyre, S)-BINAP henviser til S-(-)-2,2'-bis(difenylfosfin)-1,1'-binaftyl; CBZ-Cl henviser til benzylklorformat; forb henviser til forbindelse; Bn henviser til benzyl; DMF henviser til dimetylformamid; Δ henviser til bruk av varme; DI-vann henviser til deionisert vann; ekv henviser til ekvivalenter; erbumin henviser til *tert*-butylamin (eller *tert*-butyl-ammoniumsalt), 2,2-dimetyletylamin eller 2-metyl-2-propanamin; IPA henviser til isopropylalkohol; M

- 5 henviser til mol/liter; mol henviser til mol; MTBE henviser til metyl-tert-butyl-eter; N henviser til en normal oppløsning; PPTS henviser til pyridinium-p-toluensulfonat; TFA henviser til trifluoreddiksyre; THF henviser til tetrahydrofuran; RT henviser til romtemperatur. Med mindre noe annet er oppgitt, er forbindelsene som illustreres heri navngitt og nummerert ved hjelp av CHEMDRAW ULTRA AUTONOM versjon 7.0.1 eller Symyx® Draw versjon 3.2.

Skjema 1



Skjema 2

**Fremstillinger:**

- 5 Alle ikke-vandige reaksjoner ble utført under en tørr nitrogenatmosfære med mindre noe annet er oppgitt. Med mindre noe annet er oppgitt, ble kommersielt klassifiserte reagenser og vannfrie løsemidler anvendt som mottatt fra leverandørene, og det ble ikke gjort forsøk på å rense eller tørke disse bestanddelene ytterligere. Fjerning av løsemidler under redusert trykk ble
- 10 gjennomført med en rotasjonsfordamper fra Buchi ved omtrent 28 mm Hg trykk ved hjelp av en teflonbelagt vakuumpumpe fra KNF. Flashkolonnekromatografi ble utført ved hjelp av Kieselgel silikagel 60. Proton-NMR-spektre ble oppnådd på et Bruker AC 300 MHz magnetresonansspektrometer og rapporteres i ppm δ -verdier ved hjelp av tetrametylsilan som en intern referanse. API-
- 15 massespektroskopianalysene ble utført på en Finnegan LCQ Duo-ione-felle eller et PSciex API 150EX-massespektrometer, ved hjelp av elektro-spray-ionisering (ESI) eller atmosfæretrykk-kjemisk-ionisering (eng.: atmospheric pressure

chemical ionization, APCI). HPLC-analyser ble utført ved hjelp av kolonne av typen Waters Symmetry C 18,5 μ m, WAT046980, 3,9 x 150 mm. Elueringssystemet besto av 95:5 (0,1 % TFA i H₂O)/(0,1 % TFA i CH₃CN) gradient elusjon til 0:100 (0,1 % TFA i H₂O)/(0,1 % TFA i CH₃CN) i 10 min, etterfulgt av 0,1 % TFA i CH₃CN isokratisk elusjon i 15 min. Gjennomstrømningsmengden var 1 ml/min. UV-deteksjon ble utført ved 254 nm eller 220 nm. Utvalgte fysiske egenskaper, som oppført ovenfor, av fremstillingene og eksemplene ble sammenlignet med kjente prøver for identifisering og vurdering av renhet.

10 **Fremstilling 1**

Metyl-2-(*tert*-butoksykarbonylamino)-3,5-dimetylbenzoat (3)

Fyll en 22 l kolbe, utstyrt med risting, kondensator, varmekappe, en 5 l tilsetningstrakt og N₂-spyling, med 2-amino-3,5-dimetylbenzosyre (2) (705 g, 4,27 mol, 1,0 ekv., fremstilt i hovedsak etter fremgangsmåtene beskrevet i Chemische Berichte 1992, 125(4), 849-855) og natriumhydroksid (8,08 kg, 8,46 mol). Varm opp den resulterende mørke oppløsningen til 45 °C under omrøring. Fyll tilsetningstrakten med di-*t*-butyldikarbonat (1,92 kg, 9,08 mol) oppløst i 1,4-dioksan (2,75 l, 22,7 mol). Tilsett di-*t*-butyldikarbonatoppløsningen i kolben og rør om over natten mens reaksjonstemperaturen holdes ved omtrent 45 °C. Fyll tilsetningstrakten med ytterligere di-*t*-butyldikarbonat (0,961 kg, 4,27 mol), oppløst i 1,4-dioksan 500 ml), og tilsett innholdet sakte i kolben under omrøring og mens reaksjonstemperaturen holdes ved omtrent 45 °C. Etter at reaksjonen er fullført, tilsett dråpevis dimetylsulfat (607,1 ml, 6,40 mol); rør om over natten mens reaksjonstemperaturen får avkjøle seg til romtemperatur. Filtrer den resulterende slurryen, samle opp faststoffet og vask med vann (2 x 2 l). Tørk i et vakuum (50 °C) for å avgi tittelforbindelsen som et ubearbeidet stoff (748 g).

30 **Fremstilling 2**

Metyl-2-(*tert*-butoksykarbonyl(4-etoksy-4-oksobutyl)amino)-3,5-dimetylbenzoat (4)

Fyll en 22 l kolbe, utstyrt med risting, varmekappe, kondensator og N₂-spyling, med DMF (10 l), etyl-4-brombutyrat (1,07 kg, 787,8 ml, 5,32 mol), cesiumkarbonat (2,92 kg, 22,5 mol) og metyl-2-(*tert*-butoksykarbonylamino)-3,5-dimetylbenzoat (1 000,0 g, 3,54 mol). Varm den resulterende blandingen opp til omtrent 55 °C og rør om i omtrent 48 timer. Avkjøl; filtrer faststoffet av; og vask faststoffet med MTBE (2 x 4 l). Kombiner filtratet og MTBE-vaskene i en 50 l kolbe, og avkjøl til mindre enn omtrent 5 °C. Tilsett vann (6 l) for å bråkjøle reaksjonen. Separer lagene. Vask det vandige laget med MTBE (3 l); kombiner de organiske lagene; og vask den resulterende organiske oppløsningen med saltløsning (2 x 3 l). Tørk den organiske oppløsningen over Na₂SO₄; filtrer; og vask de oppsamlede faststoffene med MTBE for å avgi 1,582 kg av tittelforbindelsen.

Fremstilling 3

***Tert*-butyl 4-etyl 7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-1,4-dikarboksylat (5A) og *tert*-butyl 4-metyl 7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-1,4-dikarboksylat (5B)**

Fyll en 22 l kolbe, utstyrt med en øvre omrører, et termoelement, en 5 l tilsetningstrakt, nitrogenspyling og kjølebad, med metyl 2-(*tert*-butoksykarbonyl(4-etoksy-4-oksobutyl)amino)-3,5-dimetylbenzoat (700 g, 1,78 mol) oppløst i THF (3,5 l) og avkjøl til mindre enn 5 °C. Fyll tilsetningstrakten med 1 M kalium-*tert*-butoksid i THF (KO^t-Bu, 3,56 mol, 1M) og tilsett dråpevis i den avkjølte THF-oppløsningen mens reaksjonens temperatur opprettholdes ved en temperatur på rundt 5 °C. La reaksjonsblandingen varme seg til romtemperatur etter tilsetningen, hvis den er fullført. Etter at reaksjonen er fullført, avkjøl blandingen til mindre enn 10 °C og tilsett sakte 2,5 M HCl for å tilveiebringe en blanding med en pH på mindre enn omtrent 3. Tilsett MTBE (4 l) og rør om; separer deretter det organiske laget fra det vandige laget. Ekstraher det vandige laget med MTBE (2 l). Kombiner de organiske lagene, og vask sekvensielt med og saltløsning (2 x 3 l). Tørk det organiske laget over MgSO₄; filtrer; og skyll det oppsamlede faststoffet med MTBE. Kombiner filtratoppløsningene og fjern løsemidlet under vakuum for å avgi en blanding av tittelforbindelsen som en oransje olje (670 g).

Fremstilling 4**7,9-dimetyl-3,4-dihydro-1H-benzo[b]azepin-5(2H)-on-hydroklorid (6)**

5

Fyll en 5 l kolbe, utstyrt med en øvre omrører, varmekappe, termoelement, nitrogenspyling og en overføringslinje av teflon, med blandingen av *tert*-butyl-4-etyl 7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1,4-dikarboksylat og *tert*-butyl 4-metyl-7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1,4-dikarboksylat (1286 g, 3,56 mol) oppløst i IPA (2 l) og varm opp den resulterende blandingen til 50 °C. Tilsett 5 N NaOH (1 l) og H₂O (3 l) i en separat 12 l kolbe, utstyrt med en øvre omrører, varmekappe, et termoelement og nitrogenspyling til et renseapparat. Tilsett deretter HCl (kons, 1,87 l, 21,8 mol) i 12 l kolben og varm opp til 50 °C. Overfør innholdet av 5 l kolben til 12 l kolben via overføringslinjen mens det spyles med N₂ for å fjerne utslippsgassene fra reaksjonen. Etter tilsetningen, varm den resulterende blandingen til 80 °C, og fortsett N₂-spylingen. Etter at reaksjonen er fullført, la reaksjonsblandingen avkjøle seg til mindre enn omtrent 20 °C. Tilsett MTBE (4 l), og juster til nøytral pH med vandig NaOH. Overfør den resulterende reaksjonsblandingen til en 22 l kolbe og separer lagene. Vask det vandige laget med MTBE (2 x 2 l). Kombiner de organiske vaskene og vask med saltløsning (2 l), tørk over MgSO₄, filtrer og skyll med MTBE. Konsentrer filtratet til en mørk olje. Oppløs i IPA (8 volumer) og overfør til en 12 l kolbe utstyrt med en øvre omrører, termoelement, 1 l tilsetningstrakt og N₂-spyling. Fyll tilsetningstrakten med HCl (kons. 765 ml) og tilsett dråpevis i løpet av omtrent 1 time i IPA-oppløsningen. Rør om den resulterende slurryen i omtrent 1-2 timer, filtrer, skyll faststoffene med kald IPA (3 x 500 ml) og tørk faststoffet over natten ved omtrent 50 °C for å avgi 561 g av tittelforbindelsen.

30

Fremstilling 5**Benzyl-7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1-karboksylat (7)**

Fyll en 22 l kolbe med en øvre omrører, et termoelement, 3 l tilsetningstrakt, dampspærre, kjølebad og N₂-spyling og 7,9-dimetyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-5(2*H*)-on hydroklorid (1 000 g, 4,43 mol). Tilsett 2-metyltetrahydrofuran (6,44 kg, 7,5 l, 74,5 mol) og rist den off-white slurrien.

5 Avkjøl til 5-15 °C. Tilsett vann 2,5 l, 138,8 mol og Na₂CO₃ (1,12 kg, 3 mol) sakte i tilsetningstrakten og tilsett deretter sakte til reaksjonsblandingen ved et hurtig drypp i løpet av omtrent 25 min. Fyll en 2 l tilsetningstrakt med benzylklorformat (91,59 kg, 8,86 mol), tilsett dråpevis i reaksjonen, mens reaksjonsblandingen holdes under omtrent 15 °C. Overfør den resulterende blandingen til en kolbe

10 utstyrt med en kondensator, og varm opp til 25-25 °C, og rør om i omtrent 50 t. Avkjøl til omtrent 15 °C, tilsett HCl (5 M, til pH-verdien er omtrent 5). Separer lagene. Ekstraher det vandige laget med metyltetrahydrofuran (4 l); kombiner de organiske lagene og vask med vann (4 l). Konsentrer det organiske laget ved omtrent 40 °C. Tilsett IPA (4 l) og konsentrer deretter til 2 l. Overfør til en 12 l

15 kolbe utstyrt med en øvre omrører, termoelement, varmekappe kondensator, 2 l tilsetningstrakt og N₂-spyling. Varm kolbeinnholdet opp til omtrent 70-80 °C og tilsett heptan (5 l). Avkjøl sakte til RT over natten; så blandingen ved behov for å indusere krystallisering av tittelforbindelsen. Avkjøl og samle opp faststoffet; skylle faststoffet med kald heptan og tørk i et vakuum ved 50 °C for å

20 tilveiebringe 1,316 g av tittelforbindelsen.

Fremstilling 6

Blanding av (Z)-benzyl 7,9-dimetyl-5-(2-metyl-2*H*-tetrazol-5-ylimino)-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-1-karboksylat (8A) og (E)-benzyl 7,9-dimetyl-5-(2-metyl-2*H*-tetrazol-5-ylamino)-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-1-karboksylat (8B)

25

Fyll en 12 l kolbe utstyrt med en øvre omrører, varmekappe, varmeelement, kondensator, Dean-Stark-felle og N₂-spyling, med benzyl 7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-1-karboksylat (920 g, 2,84 mol) og toluen (400 ml). Tilsett toluen (500 ml) i Dean-Stark-fellen, og start ristingen. Tilsett 2-metyl-5-aminotetrazol (563,8 g, 5,69 mol) og PPTS 364,8 g, 0,5 mol) og varm opp den resulterende blandingen til tilbakebøl. Tilsett 5 l kaldt vann og

30

35 hell opp i en NaHCO₄-oppløsning (850 g) mens pH-verdien overvåkes for å hindre at blandingen blir sur. Separer lagene og vask det vandige laget med

toluen (4 l). Kombiner de organiske lagene og vask med vann (2 x 4 l), tørk over NaSO₄, filtrer og skyll faststoffet med toluen. Konsentrer filtratet in vacuo ved omtrent 55 °C for å avgi 1,186 kg av en blanding av forbindelser med tittel ovenfor.

5

Fremstilling 7

(S)-benzyl 7,9-dimetyl-5-(2-metyl-2H-tetrazol-5-ylamino)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1-karboksylat (9)

10

Fyll en autoklav med en blanding av (Z)-benzyl 7,9-dimetyl-5-(2-metyl-2H-tetrazol-5-ylimino)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1-karboksylat og (E)-benzyl 7,9-dimetyl-5-(2-metyl-2H-tetrazol-5-ylamino)-2,3-dihydro-1H-benzo[b]azepin-1-karboksylat (4,04 g, 10 mmol), S-(-)-2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-binaftyl ((S)-BINAP, 60 mg, 96,3 µmol), KI (415 mg 24 mmol, KI kan utelates om ønsket.) og di klor-bis((1,2,5,6 eta)-1,5-syklooktadien)diiridium (Ir₂Cl₂(COD)₂ (927 mg 40,2 µmol). Spyl autoklaven med nitrogen. Tilsett avgasset toluen (50 ml, 472,8 mmol) mens miljøet holdes oksygenfritt og forsegl autoklaven. Varm opp til 100 °C under 500 psi H₂ i 66 t. Avkjøl reaksjonsblandingen til RT og ventiler. Avkjøl faststoffene og samle opp den organiske blandingen. Vask den organiske blandingen med vann (2 x 25 ml); tørk over Na₂SO₄ og filtrer. Samle opp filtratet og fjern løsemidlet under vakuum for å tilveiebringe tittelforbindelsen (3,99 g, 88,7 % ee ved HPLC).

15

20

25

Fremstilling 8

(S)-benzyl 5-((3,5-bis(trifluormetyl)benzyl)(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino)-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1-karboksylat (10)

30

Fyll et hetteglass med (S)-benzyl 7,9-dimetyl-5-(2-metyl-2H-tetrazol-5-ylamino)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1-karboksylat (100 mg 246 µmol), NaH (23 mg 60-% i mineralolje, 575,1 µmol) og THF (9,2 ml, 24,6 mmol). (Alternativt kan kalium-tert-butoksid i DMF anvendes i stedet for NaH og THF.) Rør om reaksjonsblandingen ved RT i 10 min. Tilsett 3,5

35

bis(trifluormetyl)benzylbromid (173,8 mg 566,2 μ mol) dråpevis i løpet av 30 min. Etter omtrent 19 t, tilsett NaH (10 mg, 60-% mineralolje) og rør om i ytterligere 1 t. Fordel reaksjonsblandingen mellom EtOAc (50 ml) og saltløsning (2 x 25 ml). Samle opp de organiske lagene og tørk over Na₂SO₄. Filtrer og konsentrer deretter filtratet for å avgi en olje. Fordel oljen mellom ACN (50 ml) og heptan (2 x 25 ml). Samle opp CAN-laget; tørk for å avgi en olje (189 mg) av tittelforbindelsen.

Fremstilling 9

(S)-N-(3,5-bis(trifluormetyl)benzyl)-7,9-dimetyl-N-(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-5-amin (11)

Fyll en 1 l kolbe med ammoniumformatsalt (39,0 g, 618,0 mmol) og 10-% Pd/C (3,91 g) og (S)-benzyl5-((3,5-bis(trifluormetyl)benzyl)(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino)-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1-karboksylat (39,1 g, 61,8 mmol) oppløst i MeOH (391 ml, 966 mol). Rør om den resulterende slurryen ved RT og overvåk ved HPLC. Etter at reaksjonen er fullført, filtrer for å samle opp faststoffet. Skyll faststoffet med MeOH (100 ml). Kombiner filtratets oppløsninger og organiske vasker og tørk deretter over Na₂SO₄. Filtrer og konsentrer til tørr tilstand. Oppløs i MeOH (92 ml) og så med frøkrystaller av tittelforbindelsen. Avkjøl og lagre over natten for å avgi 14,03 g, 45,5 % av tittelforbindelsen, 99,92 % ee ved HPLC.

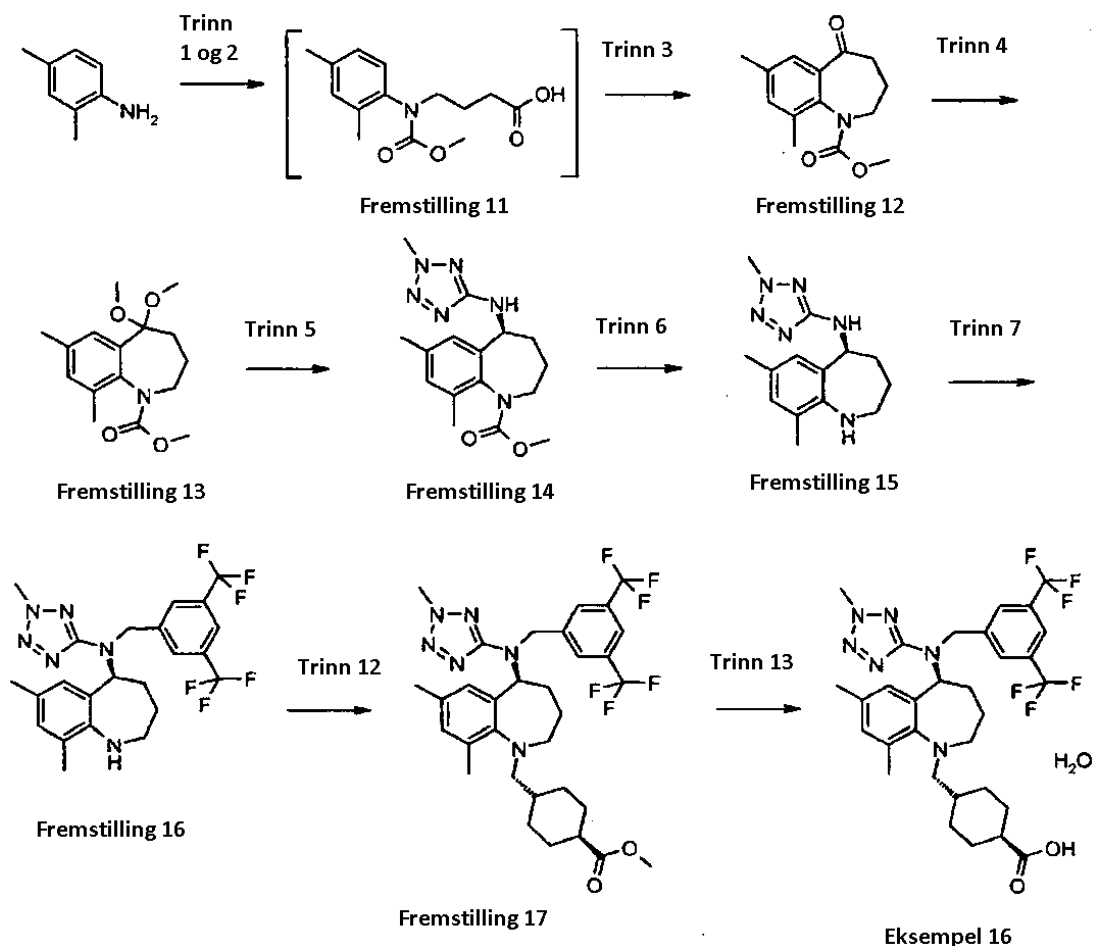
Fremstilling 10

(Trans)-metyl4-(((S)-5-((3,5-bis(trifluormetyl)benzyl)(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino)-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1-yl)metyl)sykloheksankarboksylat (12)

Fyll en kolbe utstyrt med en øvre omrører, temperaturprobe, nitrogeninntak med (S)-N-(3,5-bis(trifluormetyl)benzyl)-7,9-dimetyl-N-(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-5-amin (5 g, 10,03 mmol,) og natrium triacetoksyborhydrid (3,19 g, 15,05 mmol) og acetonitril (40 ml). Senk kolben

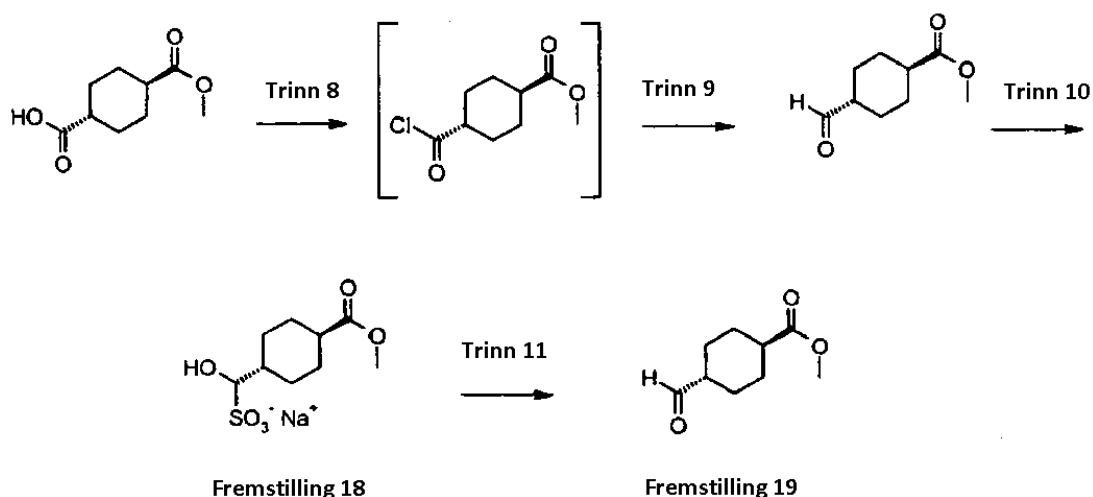
ned i et isbad for å avkjøle slurryen til under omtrent 5 °C, tilsett deretter (trans)-metyl 4-formylsykloheksankarboksylat (2,99 g, 17,57 mmol, fremstilt i hovedsak ifølge prosedyrene i Houpis, I. N. et al, Tetrahedron Let. 1993, 34(16), 2593-2596 og JP49048639) oppløst i THF (10 ml) via en sprøyte mens reaksjonsblandingen holdes ved eller under omtrent 5 °C. La reaksjonen varme seg til RT og rør om over natten. Tilsett NH₄Cl (25 ml, 50-% mettet vandig oppløsning) og separer det vandige laget fra det organiske laget. Det organiske lagets pH bør være omtrent 5,5. Varm det organiske laget til omtrent 45 °C og tilsett vann (16 ml). Tilsett en frøkrystall av tittelforbindelsen og avkjøl til omtrent 35 °C. Samle opp det resulterende faststoffet gjennom filtrering og skyll med ACN. Tørk for å tilveiebringe 5,80 g av tittelforbindelsen.

Skjema 3: Alternativ fremgangsmåte for fremstilling av BCCA



18

Skjema 4



Fremstilling 12

5 Metyl-7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-karboksylat

Trinn 1: Evakuer en 3 000 l emaljert reaktor til mindre enn -0,08 MPa, og fyll deretter med N₂ til normalt trykk, og gjenta tre ganger. Under N₂, fyll reaktoren med 2,4-dimetylanilin (300,0 kg) og trietylamin (873,0 kg) under omrøring. Varm blandingen til 70-75 °C, og tilsett deretter etyl-4-brombutyrat (604,0 kg) i en hastighet av 20-25 kg/time gjennom en 500 l ekstra beholder mens temperaturen på 70-75 °C opprettholdes. Rør om blandingen ved 70-75 °C i 2 timer og test deretter for fullført reaksjon gjennom GC. Reaksjonen anses fullført når 2,4-dimetylanilin-innholdet av to sammenhengende prøver er mindre enn 3 % og innholdet av urenheten (etyl 4-((2,4-dimetylphenyl)(3-(propionyloksi)propyl) amino)butanoat) er mindre enn 10 %. 56 timer senere er innholdet av urenheten mindre enn 10 %, men innholdet av 2,4-dimetylanilin er fortsatt større enn 3 %, så ekstra etyl-4-brombutyrat (6,0 kg) tilsettes i blandingen, deretter, 17,5 timer senere, er innholdet av 2,4-dimetylanilin fortsatt større enn 3 %, men reaksjonen bråkjøles.

Avkjøl reaksjonen til 15-25 °C, og overfør til to 5 l emaljerte reaktorer. For hver reaktor, tilsett vann (1 200,0 kg) og toluen (1 044,0 kg). Rør om blandingen i én time og la stå én time før separasjon. Kombiner den organiske fasen fra de to

reaktorene og vask med vann (1 200,0 kg x 2) to ganger. Ta prøver av den organiske fasen for å sikre at trietylamin er mindre enn 23 %.

5 Konsentrer den organiske fasen ved 50-60 °C under redusert trykk ($\leq -0,08$ MPa) til det ikke kommer ut noen fraksjon og vektprosenten av trietylamin er mindre enn 0,1 % og KF er mindre enn 1 %. Avkjøl blandingen til 20-30 °C og anvend produktet (etyl-4[(2,4 dimetylfenyl)amino]butanoat) direkte i trinn 2.

10 Gasskromatograf (GC): kolonne: HP-5, 30m lengde x 0,32 mm ID x 0,25 µm film eller kolonneekvivalent; bæregass: Heliumgass; gjennomstrømningsmengde 1,90 ml/min; kjøretid: 22,5 min; Program: Starttemp.: 50 °C (På) og Starttid: 2,00 min; Stigninger: 1 Hastighet: 20 Sluttemp.: 260 Sluttid: 10,00; Stigning #2: 0,0 (Av); inntakstemp. 250 °C; deteksjonstemp.: 300 °C.

15 Retensjonstider: 1) (13,56 min) etyl-4[(2,4 dimetylfenyl)amino]butanoat; 2) (17,40) etyl-4-((2,4-dimetylfenyl)(3-(propionyloksi)propyl)amino)butanoat; 3) (8,38 min) 2,4-dimetylanilin.

20 Trinn 2: Fyll en 2000 l emaljert reaktor med toluen (742,0 kg) og etyl-4[(2,4 dimetylfenyl)amino]butanoat (171,0 kg). Rør om blandingen og tilsett natriumkarbonat (77,0 kg) i porsjoner. Oppretthold temperaturen ved 20-25 °C og tilsett metylklorformat (96,2 kg) i en hastighet av 18 kg/time. Rør om blandingen ved 20-25 °C og overvåk etter én time ved GC. Reaksjonen betraktes som fullført når innholdet av etyl-4[(2,4 dimetylfenyl)amino]butanoat er mindre
25 enn 1 %. Overfør blandingen til en 5 000 l emaljert reaktor, og skyll de 2 000 l med toluen (75 kg). Tilsett en oppløsning av NaOH (87,2 kg), metanol (934,0 kg) og vann (1 482,0 kg) i en hastighet av 360-400 kg/time mens temperaturen opprettholdes ved 20-25 °C. Varm deretter opp blandingen til 55-65 °C og rør om ved 55-60 °C. Etter én time, test en prøve ved HPLC for å bestemme nivået
30 av etyl-4[(2,4 dimetylfenyl)amino]butanoat. Avkjøl blandingen til 20-30 °C, la den stå i én time og separer deretter. Konsentrer den vandige fasen ved 40-50 °C under redusert trykk (mindre enn eller lik 0,09 MPa) til 929 kg metanol er destillert ut.

35 Avkjøl blandingen til 15-25 °C, tilsett vann (256,5 kg), rør om i 0,5 t og ekstraher med diklormetan (342,0 kg x 2). Reduser temperaturen til 0-5 °C og oppretthold, og tilsett kons. HCl (269,0 kg) i hastigheten av 40-50 kg/time for å

justere pH-verdien til 1-2. Varm opp blandingen til 15-25 °C og rør om i 1 time mens denne temperaturen opprettholdes. Separer, ekstraher den vandige fasen med diklormetan (684,0 kg × 2), og kombiner de organiske fasene. Vask den organiske fasen to ganger med 0,5-% HCl (342,0 kg × 2) og deretter to ganger med kons. HCl (3,4 × 2 kg). Konsentrer den organiske fasen under redusert trykk (mindre enn eller lik -0,08 MPa; 40-50 °C) til ingen fraksjon kommer ut. Tilsett diklormetan (250,0 kg) i resten (4-[(2,4-dimetylfenyl)-metoksykarbonyl-amino]butansyre) (Fremstilling 11), og anvend direkte i neste trinn. 190,0 kg (407,4 kg oppløsning); Utbytte: 98,5 %; Renhet: 97,8 %.

HPLC: kolonne: Waters XTerra MS C18; 4,6 x 150 mm, 3,5 µm; 230 nm deteksjon; gjennomstrømningshastighet på 1,0 ml/min; temp 25 °C; isokratisk mobilfase: A:ACN; B:H₂O+ 0,1-% H₃PO₄ (v/v). Retensjonstid: (13,86 min) 4-[(2,4-dimetylfenyl)-metoksykarbonyl-amino]butansyre.

Trinn 3: Evakuer en 3000 l emaljert reaktor til mindre enn -0,08 MPa, fyll med nitrogengass til normalt trykk, og gjenta 3 ganger. Fyll med diklormetan (1900,0 kg), 4-[(2,4-dimetylfenyl)-metoksykarbonyl-amino]butansyre (190,0 kg) og DMF (11,4 kg) og rør om. Avkjøl blandingen til -5-0 °C, og tilsett tienylklorid (85,3 kg) i en hastighet av 18 kg/t mens denne temperaturen opprettholdes. Rør om blandingen ved -5-0 °C. Én senere, overvåk reaksjonen ved HPLC for å bestemme om innholdet av 4-[(2,4-dimetylfenyl)-metoksykarbonyl-amino]butansyre er mindre enn 1 %. For prøvetaking, tilsett prøven i metanol og evaluer ved HPLC. Konsentrer blandingen ved 40-45 °C under normalt trykk til det ikke observeres fraksjoner, og avkjøl deretter til 15-25 °C. Konsentrer deretter ved 40-45 °C under redusert trykk (mindre enn eller lik -0,08 MPa) til det ikke observeres fraksjoner. Fortynn med diklormetan (1031,0 kg). Tilsett dråpevis en oppløsning av diklormetan (1 030,0 kg) og vannfritt aluminiumkloridheksahydrat (287,2 kg) ved 30-35 °C. Rør om blandingen ved 35-45 °C i 2 timer senere og overvåk deretter ved HPLC til innholdet av metyl-7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-karboksylat er større enn 80 %. (Ta blandingen, tilsett den i metanol og send den til deteksjon ved HPLC) Bråkjøl blandingen med en blanding av vann (1 140,0 kg) og is (570,0 kg) og oppretthold temperaturen ved 0-10 °C og rør om i 1 time. Varm blandingen til 15-25 °C, rør om i 0,5 t, la stå i 0,5 t og separer. Vask den organiske fasen med vann (814,0 kg × 2). Tilsett silikagel (380,0 kg) i den organiske fasen, og rør om blandingen i 1 time. Filtrer blandingen, skylk kaken

med diklormetan (339,0 kg) og kombiner filtratet. Konsentrer filtratet ved 40-45 °C under redusert trykk (mindre enn eller lik -0,08 MPa) til 150-200 l blanding er igjen.

5 Tilsett heptan (190,0 kg), avkjøl blandingen til 15-20 °C med resirkulert vann og avkjøl deretter til 0-5 °C med saltløsning. Rør om blandingen ved denne temperaturen for å krystallisere. Filtrer blandingen, tørk filterkaken ved 35-40 °C i et tørkerom for å oppnå 80,9 kg off-white faststoff. HPLC 97,9 %. Lagre på et tørt og lukket sted under nitrogenbeskyttelse.

10

HPLC-prosedyre: samme som for trinn 2 ovenfor. Retensjonstid (14,71 min) metyl-7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-karboksylat.

Fremstilling 13

15

Metyl-5,5-dimetoksy-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-karboksylat

20

Trinn 4: Til en oppløsning av metyl-7,9-dimetyl-5-okso-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-karboksylat (1 000 g; 1,00 ekviv; 4,04 mol) i metanol (2,50 l) og trimetoksymetan (9,10 mol; 995,42 ml; 965,55 g) utstyrt med en øvre omrører ved romtemperatur under nitrogenteppes, tilsett Amberlyst™ 15 (100 g). Varm opp reaksjonsblandingen til 50 °C og opprettholdt temperaturen i 1 time. Etter 1 time er reaksjonen fullført.

25

Avkjøl reaksjonsblandingen til romtemperatur og filtrer Amberlyst-perlene og skyll med metanol (500 ml). Sett opp en kanyle, og tilsett oppløsningen i en 0,1 M KOH-oppløsning (1 l) med øvre omrøring, etterfulgt av H₂O (1500 ml). Rør om slurryen i 20 min og filtrer deretter ved hjelp av et 32-cm keramisk filter med et polypropylensjikt. Vask kaken med 4 x 1 l vann og trekk den til tørk på filteret. Tørk i vakuumovnen over natten ved 60 °C. Bryt stykkene opp dagen etter og fortsett å tørke ved 60 °C over natten. Ubearbeidet utbytte etter tørking: 1 235 g. Oppløs ubearbeidede faststoffer i 5 volumer heptan (6 l), varm opp til 70 °C og rør om 15 min ved 70 °C. Avkjøl oppløsningen til 55 °C, på hvilket punkt reaksjonen blir sådd. Fortsett å avkjøle langsomt og produktet begynner å komme ut ved ~45 °C. Fortsett å avkjøle sakte til romtemperatur og la deretter

35

slurrien stå til omrøring over natten. Filtrer produktslurrien over et polypropylensjikt. Skyll kaken med 2 x 500 ml heptan. Trekk den tørr på filteret og plasser deretter i vakuumovnen ved 45 °C til den er tørr (~4 dager). 766 g. 99,9 % ren ved HPLC.

5

HPLC: Zorbax Bonus-RP 50 x 4,6 mm, 1,8 µm; 2 ml/min, 40 °C, 10-30 % ACN i løpet av 12 min, til 95 % ved 14 min, la stå 2 min, ekstraksjonsmidlets reekvilibreingsbalanse er 10 mM NH₄acetat. Retensjonstid = 13,77 min.

10

Fremstilling 14

Metyl-(5S)-7,9-dimetyl-5-[(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-karboksylat

15

Trinn 5: Sikre at hydrogenreaktoren er tørr ved å tørke med N₂ i 1-2 timer. Tilsett 2-metyl-2H-tetrazol-5-amin (52,0 g), metyl-5,5-dimetoksy-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-karboksylat (140,0 g), Ir₂CL₂(COD)₂ (0,080 g), TBAI (1,76 g), (1S)-(+)-10-kamfersulfonsyre (2,2 g) og (S)-difluorfos (0,163 g) i reaktoren. Sett 5 psi nitrogen på reaktoren. Tilsett 600 ml toluen (boblet med N₂ i 75 min.) via kanyle/nitrogen. Spyl reaktoren 2 ganger med 20 psi nitrogen, og ikke la trykket komme under 5 psi. Sett 500 psi hydrogen på reaktoren og varm sakte til 115 °C. Hold ved denne temperaturen over natten. Avkjøl til 50 °C og ta prøve for HPLC-analyse. For kiral HPLC, fortynn prøve med toluen, vask med natriumbikarbonat, tørk på Na₂SO₄, fortynn med heptaner/etanol.

20

25

30

35

Hell toluenoppløsningen opp i en separasjonstrakt og tilsett 140 ml etylacetat for å få alt opp i separasjonstrakten og for å holde alt i oppløsning under bearbeidingen (eng.: work-up). Vask oppløsningen med 420 ml 1 M NaOH-oppløsning (det organiske laget ser uklart ut; det vandige laget ser klart ut). Separer lagene og vask det organiske laget med 420 ml H₂O. Destiller det organiske laget ved atmosfæretrykk til 1,5 volumer toluen (2,5 volumer total resterende oppløsning). Avkjøl oppløsningen til 60 °C og tilsett 700 ml heptan (~5V) sakte i løpet av 3 min ved 60 °C og varm den resulterende klare oppløsningen ved 60 °C over natten med øvre omrøring (150 rpm). Etter 15 minutter er det mer faststoff. Avkjøl slurrien neste morgen, filtrer, samle opp

faststoffet og tørk i en vakuumovn ved 60 °C i 3 timer. 126,97 g, HPLC: 99,4 % rent, Kiral HPLC: 94,6 % ee.

5 HPLC: Zorbax Bonus-RP 50 x 4,6 mm, 1,8 µm; 2 ml/min, 40 °C, 10-30 % ACN i løpet av 12 min, til 95 % ved 14 min, la stå 2 min, ekstraksjonsmidlets reekvilibreingsbalanse er 10 mM NH₄acetat. Retensjonstid = 11,36 min.

10 Kiral HPLC: Chiralpak IA 250 x 4,6 mm, 2 ml/min, 40 °C, 5 % IPA i 11 min, til 50 % IPA ved 12 min, la stå til 15 min, tilbake til 5 % IPA ved 15,1 min, la stå i 20 min. Retensjonstid = 11,48 min.

Fremstilling 15

15 **(5S)-7,9-dimetyl-N-(2-metyltetrazol-5-yl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-5-amin**

20 Trinn 6: Kombiner metyl-(5S)-7,9-dimetyl-5-[(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-karboksylat (20,1 g), NaOH (12,10 g) og etanol (80 ml) i en 250 ml teflonkolbe med øvre omrøring. Boble med nitrogen i 10 minutter, varm opp til tilbakeløp (85 °C) i ~5,5 timer. Avkjøl til romtemperatur med et kjølig vannbad. Tilsett eddiksyre/vann (17,5 ml)/53 ml) sakte ved romtemperatur, og overfør til 500 ml kolbe omtrent halvveis i tilsetningen (~30 min. total tilsetningstid). Så med - 5 mg (5S)-7,9-dimetyl-N-(2-metyltetrazol-5-yl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-5-amin. Varm opp til 25 50 °C (opp til temperatur på omtrent 15 minutter). Tilsett 54 ml vann i løpet av omtrent 30 minutter. Avkjøl i isbad neste dag, filtrer og skyll med metanol:vann (1:1; 2 x 30 ml). Tørk våtkake in vacuo ved 60 °C for å avgi 13,99 g (5S)-7,9-dimetyl-N-(2-metyltetrazol-5-yl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-5-amin. HPLC-analyse: 99,4 %, retensjonstid er 4,84 min. Kiral HPLC: 98,5 % kiralt renhet. 30

HPLC-fremgangsmåte: Zorbax SB-C8 75 x 4,6 mm, 3,5 µm, 2 ml/min, 40 °C, 225 nm bølgelengde, 5 % acetonitril (ACN) i 2 min til 95 % ACN i 10 på min og la stå i 1 min. 35

Kiral HPLC: Chiralpak AD-H 150 x 4,6 mm, 5 µm, 1 ml/min, 30 °C, isokratisk 50-% etanol i heptan.

Fremstilling 16

5

(5S)-N-[3,5-bis(trifluormetyl)benzyl]-7,9-dimetyl-N-(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-5-amin

10

Trinn 7: Avgass alle væsker forut for tilsetning i reaksjonen ved å mette hver oppløsning gjennom tilsetning av N₂ under overflaten. Tilsett (5S)-7,9-dimetyl-N-(2-metyltetrazol-5-yl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-5-amin (18,36 mmol; 5,00 g) og toluen (15,00 ml) i en 250 ml kolbe med nitrogeninntak. Tilsett kaliumheksametyldisilazid (19,28 mmol; 38,55 ml) dråpevis i løpet av 30 minutter som en 0,5-M-oppløsning i toluen. En eksoterm observeres til 21,5 °C.

15 Rør om reaksjonsblandingen i 30 minutter. Tilsett 1-(klormetyl)-3,5-bis(trifluormetyl)benzen (25,71 mmol; 25,7 ml) i løpet av 30 minutter som en 1-M-oppløsning i toluen. En eksoterm observeres til 25,5 °C. Rør om reaksjonsblandingen ved romtemperatur i 16 timer. Vask reaksjonsblandingen med vann (2 x 20 ml). Kombiner vannlagene og reekstraher med toluen (1 x 25

20 ml). Kombiner toluenlagene, konsentrer til tørr tilstand og rekrystalliser resten fra 92 ml 60-% 1-propanol i vann. Rør om det krystalliserte produktet i 2 timer ved 0 °C, filtrer, og skyll med 10 ml 50-% 1-propanol i vann. Tørk det isolerte produktet i vakuum ved 45 °C. 7 735 gram. HPLC viser 98,3 % ren, retensjonstid = 10,62 min.

25

Gradient-HPLC: Kolonnen er Zorbax Bonus RP 5 µm, 4,6 x 150 cm, Strømning = 2 ml/min; Bølgelengde = 225 nm; Kolonnetemp = 40 °C; Løsemiddel A = vann; Løsemiddel B = ACN; Tid 0 min 85 % A 15% B; 12 min 10 % A 90 % B; 13 min 10 % A 90 % B; 13,5 min 85 % A 15 % B.

30

Fremstilling 17

Metyl-trans-4-{[(5S)-5-{[3,5-bis(trifluormetyl)benzyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino}-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl}sykloheksankarboksylat

35

Trinn 12: Avkjøl en suspensjon av (5S)-N-[3,5-bis(trifluormetyl)benzyl]-7,9-dimetyl-N-(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-5-amin (3,40 g, 6,82 mmol), natriumtriacetoksyborhydrat (3,01 g, 13,64 mmol), og ACN (28 ml) til -12 °C til -10 °C i et is-/acetonbad og tilsett en oppløsning av (trans)-4-formylsykloheksankarboksylat (2,03 g, 11,93 mmol) i toluen (18,5 ml) i løpet av 30 min via en sprøytepumpe (0,66 ml/min). Fortsett å røre om reaksjonen i et is-/acetonbad i 2 timer. Tilsett 44 ml 10-(vekt-)% NH₄Cl i vann til reaksjonen og rør om i 30 min ved romtemperatur. Avslutt omrøring og det er to lag. Separer lagene, konsentrer det organiske laget ned til én mengde løsemiddel. Tilsett 24 ml etanol og konsentrer til et faststoff (eller til ett volum). Tilsett 24 ml etanol, 2 ml vann og varm opp til 60 °C (fortsatt en suspensjon). Tilsett 2 ml vann dråpevis. La suspensjonen avkjøle seg til romtemperatur og rør om over natten ved romtemperatur. Etter omrøring over natten ved romtemperatur, avkjøl suspensjonen til -10 °C i 0,5 t, filtrer deretter. Vask filterets faststoffer med 3 ml -10 °C EtOH:vann (4:1). Tørk faststoffene over natten i en vakuumovn ved 50 °C for å gi 4,24 g metyl-*trans*-4-{[(5S)-5-{[3,5-bis(trifluormetyl)benzyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino}-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl}sykloheksankarboksylat som et fargeløst faststoff. HPLC viser 99,75 % ren.

HPLC-analyse: Zorbax Bonus RP 150 mm x 4,6 mm, 3,5 µm, 30 °C, 260 nm UV-deteksjon, strømning: 2,0 ml/min, gradient: A=0,05 % TFA i H₂O, B=0,05 % TFA i ACN; 0 min 95 % A til 30 min 0 % A til 30,5 min 95 % A til 35 min 95 % A. Metyl-*trans*-4-{[(5S)-5-{[3,5-bis(trifluormetyl)benzyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino}-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl}sykloheksankarboksylat eluerer ved 23,33 min og cis-isomeren eluerer ved 23,05 min.

Fremstilling 18

Natriumbisulfataddukt av (trans)-metyl-4-formylsykloheksankarboksylat

Trinn 8: Plasser en 12 l trehalset rundbunnet kolbe i et kjølekar utstyrt med en mekanisk omrører, termoelement med display, nitrogeninntak og tørkerør. Fyll

(*trans*)-4-metoksykarbonylsykloheksankarboksylysyre (450 g) i kolben. Fyll diklormetan (2,25 l) i kolben og rør om under nitrogen. Tilsett oksalyklorid (364 g oppløst i CH₂Cl₂ (100 ml)) til kolben via tilsetningstrakten ved romtemperatur. Rør om reaksjonsblandingen i 10 minutter ved romtemperatur. Tilsett katalytisk mengde DMF (1,82 g oppløst i CH₂Cl₂ (10 ml)) til kolben via tilsetningstrakten ved romtemperatur. Rør om reaksjonsblandingen ved en temperatur lavere enn 20 °C i 2 timer. Overvåk reaksjonens fremgang ved GC: [DBI 30m x 0,25 mm, 0,5 µ), fjern en prøve av den omrørte oppløsningen ved en temperatur lavere enn 20 °C. Retensjonstid (Rt) for (*trans*)-4-klorkarbonylsykloheksankarboksylat = 7,3 minutter; Rt for (*trans*)-4-metoksykarbonylsykloheksankarboksylysyre = 7,75 minutter. Reaksjonen anses fullført når < 3,0 % av startmaterialet (*trans*)-4-metoksykarbonylsykloheksankarboksylysyre er igjen.

Trinn 9: Konsentrer reaksjonsblandingen under redusert trykk ved en temperatur lavere enn 35 °C. Samle opp overskudd av oksalyklorid sammen med destillatet; anvend en kaustisk felle for å hindre at syreholdig damp kommer inn i vakuumsystemet. Ko-fordamp resten med THF (2 x 900 ml). Fortynn resten med THF (4,5 l) og 2,6-lutidin (321 g). Overfør til en autoklavreaktor for hydrogenering. Fyll 5-% Pd-en på aktivert karbon {(45 g rørt ut i THF (500 ml)) i reaksjonsblandingen. Spyl reaktoren med nitrogengass (20 til 30 psi) 2 til 3 ganger. Spyl med hydrogengass (20 til 30 psi) 2 til 3 ganger. Rør om reaksjonen under hydrogenatmosfære (50 til 60 psi) i 15 timer ved 30 til 35 °C. Etter 15 timer, tøm hydrogengassen til det lokale utløpet og spyl reaktoren med nitrogengass (20 til 30 psi) 2 til 3 ganger. Overvåk reaksjonen ved GC. Rt for (*trans*)-metyl-4-formylsykloheksankarboksylat = 6,46 minutter; Rt for (*trans*)-4-klorkarbonylsykloheksankarboksylat = 7,3 minutter. Reaksjonen anses fullført når mindre enn 1,0 % (*trans*)-4-klorkarbonylsykloheksankarboksylat er igjen.

Filtrer reaksjonsblandingen gjennom celittsjiktet under nitrogen. Konsentrer mesteparten av THF-løsemidlet under redusert trykk ved en temperatur mindre enn 35 °C. Fortynn resten med MTBE (1,8 l) og overfør til en separasjonstrakt. Vask den organiske oppløsningen med vann (2,25 l) og separer lagene. Reekstraher den vandige fasen med MTBE (2 x 1,8 l) og kombiner de fullorganiske lagene. Vask med en 0,5-N vandig oppløsning av hydrokloridsyre (1 x 2,25 l). Vask den organiske fasen med en mettet vandig oppløsning av natriumbikarbonat (1 x 2,5 l). Vask den organiske fasen med en saltoppløsning

(1 x 2,5 l). Tørk den organiske fasen over magnesiumsulfat og filtrer blandingen over et glassfiberfiltersjikt. Konsentrer filtratet under redusert trykk ved en badtemperatur på mindre enn 35 °C. Isoler det ubearbeidede stoffet som en fargeløs olje og anvend uten ytterligere rensing.

5

Trinn 10: Tilsett 1 ml vann til et hetteglass inneholdende 0,49 g natriumbisulfitt. Sett hetteglasset i sonikatorene for å oppløse natriumbisulfittet. Tilsett 5 ml THF i hetteglasset (en tofase-oppløsning dannes – ingen faststoffer) Tilsett denne tofase-oppløsningen av THF og vandig natriumbisulfitt i en 50 ml kolbe utstyrt med en magnetisk omrører, inneholdende (*trans*)-4-formylsykloheksankarboksylat (1 g, 5,88 mmol). (Bemerk: (*trans*)-4-formylsykloheksankarboksylatet er kun omtrent 80 % rent, så det er derfor 0,8 ekv NaHSO₃ anvendes.) Fortynn oppløsningen med ytterligere 5 ml THF, og innen ett minutt dannes en svært tykk krystallmasse. Varm opp krystallmassen til tilbakeløp. Fortynn blandingen med 3 x 5 ml THF. Krystallene er svært klumpete. Omrøres ved romtemperatur i flere timer, filtrer deretter, skyll med 20 ml THF og tørk på filteret i en time (1,27 g). Tørk over natten i vakuumovn ved 40 °C for å gi 1,19 g natriumbisulfataddukt av (*trans*)-metyl-4-formylsykloheksankarboksylat som et fargeløst faststoff.

10

15

20

Fremstilling 19

(*trans*)-4-formylsykloheksankarboksylat

Trinn 11: Tilsett natriumbisulfataddukt av (*trans*)-metyl-4-formylsykloheksankarboksylat (3,92 g, 11,93 mmol) til en blanding av natriumkarbonat (5,06 g, 47,72 mmol), toluen (17 ml) og vann (33 ml) og rør om ved romtemperatur. Etter 1 times omrøring ved romtemperatur, separer lagene og vask toluenlaget med 15 ml vann. Anvend denne toluenoppløsningen som inneholder (*trans*)-4-formylsykloheksankarboksylat i trinn 12.

25

30

Eksempel 1

Trans-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre

Amorft faststoff

5

Fyll en kolbe med (*trans*)-metyl4-(((*S*)-5-((3,5-bis(trifluormetyl)benzyl)(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino)-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[*b*]azepin-1-yl)metyl)sykloheksankarboksylat (149 mg). Tilsett MeOH (6 ml) og 1,0 N NaOH (3,0 ml). Varm opp den resulterende blandingen til omtrent 60 °C. Overvåk reaksjonen via TLC. Etter omtrent 7 timer eller når startesteren har reagert, avkjøl blandingen til omtrent 0 °C og bråkjøl med 1 N HCl. Fortynn blandingen med EtOAc (60 ml). Vask blandingen sekvensielt med vann (20 ml), saltløsning (20 ml) og tørk over Na₂SO₄. Filtrer og konsentrer filtratet. Rens via flash-kromatografi med CH₂Cl₂. Fjern løsemidlet for å tilveiebringe tittelforbindelsen (125 mg) som et hvitt faststoff.

10

15

Eksempel 2

Trans-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre

20

Amorft faststoff

Fyll en 500 ml 3-halset kolbe, utstyrt med en mekanisk omrører, tilsetningstrakt og termoelement, med vann (265 ml), og avkjøl i et isbad. Oppløs BCCA (22,0 g) i 40 ml aceton i en andre kolbe og tilsett blandingen til den trehalsede kolben via tilsetningstrakten. Skyll kolben med ytterligere 4 ml aceton og tilsett til trakten. Tilsett tilsetningstraktens innhold dråpevis til kolben og la den resulterende blandingen røres om mens temperaturen opprettholdes ved omtrent 0-1 °C. Samle opp det resulterende faststoffet, vask to ganger med vann, tørk deretter ved 40 °C over natten for å tilveiebringe 22,3 g av et hvitt pulver.

25

30

Eksempel 3

35

***Trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre-Hydrat**

- 5 Spyl en kolbe utstyrt med en øvre omrører, temperaturprobe, nitrogeninntak med nitrogen, deretter, mens det opprettholdes en positiv nitrogenatmosfære i kolben, tilsett (*trans*)-metyl4-(((*S*)-5-((3,5-bis(trifluormetyl)benzyl)(2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino)-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-1-yl)metyl)sykloheksankarboksylat (1,0 kg 1,53 mol), MeOH (10 l), og NaOH 2 M (10 1,53 l, 3,06 mol.). Varm opp den resulterende blandingen til tilbakeløp rundt 68 °C. Etter omtrent 4 timer, la reaksjonsblandingen avkjøle seg til RT og rør om over natten. Filtrer blandingen og samle opp filtratet. Tilsett en MeOH:vannblanding (500 ml 1:1 v/v) og tilsett deretter eddiksyre sakte (260 ml) for å indusere utfelling. Samle opp det resulterende faststoffet som en 15 blanding av BCCA, BCCA-hydratet og BCCA-metanolsolvatet. Tørk faststoffet i en ovn ved 40 °C.

- Fyll en 2 l kolbe utstyrt med en kondensator, termoelement, varmekappe og mekanisk omrører med BCCA-faststoffet (109 gm), MeOH (900 ml) og vann (10 20 ml). Varm opp den resulterende slurrien til tilbakeløp under nitrogenatmosfære. Etter at alle faststoffene er oppløst, fjern varmen og la blandingen avkjøle seg til romtemperatur. Om ønsket kan en frøkrystall av BCCA-hydrat i krystallinsk form tilsettes. Samle opp det faste stoffet. Vask faststoffet sekvensielt med metanol:vann (9:1 v/v, 100 ml) og vann (1 l). Tørk faststoffet i et vakuum ved 25 omtrent 40 °C for å tilveiebringe 100 g av et hvitt faststoff. Slurry deretter faststoffet på nytt i isopropanol:vann (1:1 v/v 1 l). Samle opp det resulterende faststoffet og skyll med vann (500 ml) og tørk over natten in vacuo ved omtrent 40 °C for å tilveiebringe 60 g av tittelforbindelsen. Karl-Fisher-analyse 2,53 % vann, elementanalyse: C₃₁H₃₆F₆N₆O₂ · H₂O teoretisk (%) C 56,70, H 5,83, N 12,80 funnet (%): C 56,59, H 5,28, N 12,55. 30

Fast-tilstands-NMR

- ¹³C krysspolarisering/magisk-vinkelspinning (CP/MAS, eng.: cross 35 polarization/magic angle spinning) NMR-spektre (fast-tilstands-NMR eller SSNMR) av krystallinsk BCCA•hydrat i krystallinsk form som ble oppnådd ved

hjelp av et Bruker Avance II 400 MHz NMR-spektrometer som betjenes ved en karbonfrekvens på 100,622 MHz og er utstyrt med en Bruker 4-mm dobbel resonansprobe (K299552). TOSS sidebåndssuppresjon ble anvendt sammen med krysspolarisering som benyttet SPINAL64-avkobling (95,4 Watt) og en RAMP-100-formet H-kjerne CP-puls. Akkvisisjonsparametrene var som følger: 90° proton r.f. pulsbredde på 2,50 µs, kontakttid var 1,5 ms, pulsrepetisjonstid på 20 s, MAS-frekvens på 5 kHz, spekterbredde på 30 kHz, akkvisisjonstid var 34 ms og antallet skanninger var 3,844. Representative resonanser fra ¹³C-SSNMR-BCCA•hydratet inkluderer: 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 143,5, 139,9, 136,3, 132,8, 132,1, 129,2, 127,3, 126,2, 122,7, 121,0, 61,1, 53,0, 49,8, 45,0, 40,2, 38,7, 31,4, 30,4, 29,0, 27,8, 27,0, 21,2, 18,3, +/-0,2 ppm. Kjemiske skift ble referert til adamantan (δ = 29,5 ppm) i et separat forsøk.

Eksempel 4

Trans-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyrehydrat og -etanolsolvat i krystallinsk form.

Fyll en kolbe med (*trans*)-metyl 4-(((S)-5-((3,5-bis(trifluormetyl)benzyl)(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino)-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepin-1-yl)metyl)sykloheksankarboksyilat (12,95 kg) EtOH (129,5 l) og 2 M NaOH (9,9 l, 2 ekv.), rør den resulterende blandingen i omtrent 10 minutter og varm deretter reaksjonsblandingens opp til omtrent 40-45 °C i 6 timer. Overvåk reaksjonen ved HPLC. Tilsett deretter eddiksyre (3,75 kg) etterfulgt av vann (15,5 l) og så med BCCA•hydrat i krystallinsk form. Etter omrøring i omtrent 2 timer, avkjøl reaksjonsblandingens til RT og rør om i ytterligere 2 timer. Samle opp de resulterende faststoffene, vask faststoffene med EtOH:vann (1:1, 2 x 26 l) og tørk over natten for å avgi tittelforbindelsen 15,87 kg (våt) til som en blanding av etanolsolvatet og hydratet.

Eksempel 5

***Trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyrehydrate i krystallinsk form**

- 5 Fyll en kolbe med *Trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]- sykloheksankarboksylsyre (15,87 kg) og vann (158,8 l). Rør om den resulterende blandingen ved RT i 2 timer. Filtrer deretter den resulterende blandingen for å samle opp faststoffene. Tørk faststoffene over natten. De
- 10 resulterende faststoffene ble oppløst i MeOH varmet opp til omtrent 65-70 °C i 2 timer for å tilveiebringe en klar oppløsning. Filtrer den klare oppløsningen, avkjøl deretter filtratet til omtrent 0 til 5 °C for å indusere krystallisering. Samle opp de resulterende krystallene og tørk over natten. Suspender det krystallinske stoffet i vann (158,8 l) og rør om i omtrent 2 timer ved RT. Samle opp det krystallinske
- 15 faststoffet; tørk ved høyvakuum ved 40-45 °C for å tilveiebringe et faststoff som fremviser ett vanninnhold på mellom 2,7 og 3,1 som fastsatt gjennom Karl-Fischer-metoden.

Eksempel 6

20

Krystallisering av *Trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyrehydrat

25

Fyll en 250 ml kolbe utstyrt med en omrører, med etanol (100 ml), (trans)-metyl 4-(((*S*)-5-((3,5-bis(trifluormetyl)benzyl)(2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino)-7,9-dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-1-yl)metyl)sykloheksankarboksyilat (10,0 g, 15,32 mmol) og NaOH (2 M, 15,0 ml, 30,0 mmol). Varm den resulterende blandingen opp til omtrent 40 °C og rør om ved den temperaturen i omtrent 4 timer. La reaksjonsblandingens avkjøle seg til RT. Tilsett eddiksyre (2,7 ml, 45,4 mmol) og varm opp til 40 °C. Tilsett vann (40 ml) sakte i løpet av 2,5 t for å tilveiebringe en tykk, hvit slurry. Fortsett oppvarmingen i ytterligere 1,5 t og la deretter slurrien avkjøle seg til RT. Samle

30 opp faststoffet gjennom filtrering, og vask faststoffet sekvensielt med etanol:vann (20 ml, 1:1), vann (20 ml). Suspender faststoffet i vann (70 ml);

35

5 samle opp faststoffet gjennom filtrering; vask deretter faststoffet med vann (2 x 20 ml). Gjenta til vannslurrien ytterligere to ganger. Samle opp det resulterende faststoffet og tørk ved 60 °C for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et hvitt faststoff (6,1 g).

Eksempel 7

10 **Krystallisering av *Trans-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyrehydrat***

15 Fyll et scintillasjonshetteglass med BCCA (60 mg) og tilsett 1,5 ml MeOH. Varm opp den klare oppløsningen til omtrent 45 °C. Tilsett 1,5 molekvivalent maursyre i 100 µl vann for å danne en hvit suspensjon. Tilsett 0,5 ml MeOH til den hvite suspensjonen, og varm forsiktig opp til omtrent 55 °C. Etter flere timer, avkjøl suspensjonen til RT; og samle opp det hvite krystallinske faststoffet gjennom vakuumfiltrering; og la faststoffet lufttørke. Analyse av dette krystallinske faststoffet ved NMR i oppløsning avdekker ingen tilstedeværende maursyreløsemiddel. Den krystallinske formen kan kjennetegnes ytterligere ved differensiell termisk/termogravimetrisk analyse, som avslører at den krystallinske formen har et prosentvis tap av flyktig innhold på 2,6 fra 38 til 133 °C, som ble bestemt til å være vann ved TGA-MS, og har en inntredende hendelse ved 81 °C.

Differensiell termisk/termogravimetrisk analyse

30 Differensiell termisk/termogravimetrisk analyse gjennomføres på en Mettler Toledo DTA- og TGA-enhet (modell TGA/SDTA 851). Prøvene varmes opp i forseglede aluminiumspanner med et nålehull fra 25 til 300-350 °C ved 10 °C/min med en nitrogenspyling på 50 ml/min. TGA-temperaturen kalibreres med indium/aluminumstandard, SP = 156,6 og 660,3 °C. Vektkalibreringen utføres med produsentleverte standarder og verifiseres mot natriumcitratdihydrat-desolvatering.

Røntgendiffraksjonsspektrografanalyse

5 Røntgendiffraksjonsspekteret ble hentet ved hjelp av et Bruker-AXS D4 Endeavor røntgendiffraktometer som benytter en CuK-kilde ($\lambda = 1,54056$, Styrke: 40kV, 50mA) og en Vantec-detektor. Data hentet i et område fra 4-40 2 θ -grader med en med en sprangstørrelse på 0,009 2 θ -grader og en tid per sprang på 0,5 sekunder. Fremgangsmåte: USP 29 <941>, korrigering av forskyvningsfeil ble gjort ved hjelp av den interne standardens 8,853-graders eller 17,759-graders 2 θ -topp.

10

En oppføring av de 29 største toppene tilveiebringes i tabell 1 nedenfor:

Tabell 1

Vinkel: (2- θ°)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångstrøm)
7,5	28,7	11,83
9,2	20,6	9,62
10,7	50,7	8,28
10,9	24,5	8,09
11,3	43,5	7,82
12,2	13,8	7,26
12,4	21,9	7,11
12,7	17,6	6,95
13,8	49,8	6,41
15,0	64,7	5,90
15,5	100,0	5,70
16,5	22,6	5,37
16,7	25,7	5,32
17,7	33,1	5,00
18,5	32,9	4,80
18,7	33,2	4,75
19,0	28,0	4,66
19,5	54,5	4,54

Vinkel: (2- θ°)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångstrøm)
20,5	12,8	4,32
20,7	13,6	4,30
21,0	23,7	4,23
21,7	18,8	4,09
21,8	15,1	4,08
22,1	23,7	4,02
22,7	12,4	3,92
25,1	32,6	3,55
26,9	10,6	3,31

Det er velkjent innen krystallografiteknikken at diffraksjonstoppenes relative intensitet kan variere, for en gitt krystallform, på grunn av foretrukket orientering som skyldes faktorer så som krystallmorfologi. Der effektene av foretrukket orientering er tilstedeværende forandrer toppintensitetene seg, men polymorfens karakteristiske toppposisjoner er uendret. Se *f.eks.* The United States Pharmacopeia #23, National Formulary #18, side 1843-1844, 1995. Dessuten er det også kjent innen krystallografiteknikken at vinkeltopposisjonene kan variere litt, for en gitt krystallform. For eksempel kan toppposisjoner skifte på grunn av en variasjon i temperaturen som prøven analyseres ved, prøveforskyvning eller nærvær eller fravær av en intern standard. I det foreliggende tilfellet til en toppposisjonsvariabilitet på $\pm 0,2^\circ$ i 2θ ta hensyn til disse potensielle variasjonene uten å hindre den utvetydige identifiseringen av de krystallinske saltene ifølge den foreliggende oppfinnelsen.

En velkjent og akseptert fremgangsmåte for å søke etter krystallformer i litteraturen er "Fink"-fremgangsmåten. Fink-fremgangsmåten anvender de fire mest intense linjene for det første søket, etterfulgt av de fire nest mest intense linjene.

Eksempel 8

Trans-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre-metanolsolvat

5 Suspend BCCA (4 gram) i 4 ml metanol og varm opp til tilbakebøl. Tilsett omtrent 50 ml mer metanol for å skape en lett suspensjon. Avkjøl blandingen til romtemperatur og sett til side en dag. Isoler faststoffproduktet gjennom vakuumfiltrering og lagre i et metanolkammer for å beskytte denne metastabile krystallen fra fukt.

10

Eksempel 9

Trans-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre-etanolisolvat

15

Suspend BCCA (3 gram) i 10 ml etanol i noen timer. Isoler faststoffproduktet gjennom vakuumfiltrering og lagre i et etanolkammer for å beskytte denne metastabile krystallen fra fukt.

20

Eksempel 10

Trans-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre-maursyresolvat

25

Oppløs BCCA i 7 ml isopropanol. Tilsett maursyre (3 ml) i oppløsningen. Tilsett vann til tåkepunkt (4 ml) ved romtemperatur. Varm opp suspensjonen til 70 °C i 6 timer etterfulgt av avkjøling til romtemperatur. Isoler faststoffproduktet gjennom vakuumfiltrering og lufttørk. Røntgendiffraksjonsspekteret ble hentet som beskrevet i eksempel 7. Tabell 2 nedenfor lister opp toppene oppnådd fra røntgendiffraksjonsspekteret.

30

Tabell 2

Vinkel (2- θ °)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångström)
6,3	3,5	13,94968
9,3	17,7	9,51672
9,9	16,5	8,88574
10,7	8,5	8,26542
11,1	16	7,96996
11,5	4,9	7,66788
12,2	11,6	7,26781
12,7	5,7	6,9724
13,0	30,5	6,79403
13,9	32,7	6,34956
14,4	1,3	6,15366
14,9	13,2	5,93156
15,4	94,8	5,73681
15,7	51,8	5,64135
16,4	33,8	5,40178
16,9	69,1	5,25235
18,2	62,3	4,86504
18,6	100	4,76188
19,5	39,9	4,54984
19,9	22,2	4,46884
20,3	84	4,37738
20,8	34,3	4,25735
21,2	25,3	4,18
21,8	28,9	4,0714
22,1	21,7	4,02645
22,3	12,9	3,98942
22,8	42,2	3,89217

Vinkel (2- θ °)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångström)
23,5	1,6	3,78509
23,9	10,5	3,72471
24,4	26,9	3,64202
25,7	54,3	3,46701
26,3	13,3	3,38649
26,9	28,1	3,31071
27,4	3	3,25174
27,7	7,9	3,21293
28,1	18,9	3,17584
28,8	0,3	3,09618
29,3	4,7	3,04676
29,6	9,5	3,01312
30,1	9,9	2,97021
30,5	2,2	2,92929
31,1	17,2	2,87149
31,5	6	2,83836
32,1	3	2,78284
32,8	1,4	2,725
33,3	8,4	2,68817
33,7	2,4	2,65549
34,1	1,9	2,62877
35,0	3,6	2,56476
35,2	5,2	2,54651
36,2	8,8	2,4816
37,1	5,3	2,41971
37,6	4,4	2,38904
38,1	1	2,35966

Vinkel (2- θ °)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångstrøm)
38,5	1,8	2,33689
38,8	4,4	2,31826
39,1	6,1	2,30101
39,5	0,5	2,27748
25,5	47,3	3,49258

Eksempel 11

5 ***Trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylysyre-eddiksyresolvat**

10 Suspender *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylysyre (1,5 gram) i 10 ml heptan. Varm opp suspensjonen til 50 °C. Tilsett 1 ml eddiksyre, og suspensjonen blir klar. Tilsett 10 ml mer heptan og avkjøl til romtemperatur. Isoler faststoffproduktet gjennom vakuumfiltrering og lufttørk. Røntgendiffraksjonsspekteret ble hentet som beskrevet i eksempel 7. Tabell 3 nedenfor lister opp toppene oppnådd fra

15 røntgendiffraksjonsspekteret.

Tabell 3

Vinkel (2- θ °)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångstrøm)
6,1	13,9	14,44535
7,4	5,5	11,91759
7,7	3,9	11,43266
9,1	36,1	9,71543
9,5	7,2	9,26358
10,3	7,2	8,56123
10,6	9,9	8,35606

Vinkel (2- θ °)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångström)
11,0	49,7	8,03505
11,3	9,4	7,85127
12,0	17,1	7,34832
12,3	8,7	7,15849
12,6	11,4	6,99570
12,9	69,1	6,84536
13,8	59,9	6,42263
14,1	12,0	6,28300
14,6	18,4	6,04828
14,9	42,7	5,93036
15,1	64,5	5,85341
15,6	47,5	5,68615
16,1	25,3	5,48924
16,4	60,8	5,40742
16,6	15,5	5,33346
17,8	62,9	4,99156
18,4	100,0	4,82513
18,6	25,0	4,75791
19,0	22,8	4,67246
19,4	70,3	4,57246
19,6	36,3	4,51720
20,1	54,0	4,40286
20,8	68,0	4,26852
21,1	42,1	4,19902
21,4	17,2	4,15565
21,7	52,5	4,08624
22,2	31,5	3,99752

Vinkel (2- θ °)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångström)
22,7	40,3	3,90975
23,3	14,1	3,81432
24,2	23,9	3,66935
24,9	33,2	3,56724
25,5	40,1	3,49233
25,8	10,4	3,44753
26,2	19,8	3,39235
26,6	29,0	3,34914
26,9	8,1	3,31407
27,6	9,9	3,23104
27,9	11,3	3,19103
28,9	8,0	3,08812
29,6	5,4	3,01802
30,2	5,4	2,95795
30,6	4,3	2,91735
31,3	5,5	2,85866
32,1	6,1	2,78825
32,7	5,2	2,73423
33,0	7,2	2,71300
33,9	5,1	2,63900
34,3	3,5	2,61366
35,0	7,1	2,56146
35,7	3,2	2,51192
36,1	3,9	2,48827
36,3	3,8	2,47610
36,7	3,4	2,44761
37,0	4,4	2,42813

Vinkel (2-θ °)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångstrøm)
37,3	3,3	2,40594
37,7	4,2	2,38107
38,5	4,6	2,33422
39,3	4,1	2,28755

Eksempel 12

5 ***Trans*-4-[[*(5S)*-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksytsyre-natriumsalt**

10 Tilsett *trans*-4-[[*(5S)*-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksytsyrehydrat (20,16 g) etanol SDA 3A (200,94 ml) i en 500 ml flaske. Rør om ved hjelp av en magnetisk rørepinne og tilsett sakte 1 N natriumhydroksid (31,95 g). Dette er en klar oppløsning.

15 Spraytørking: Anvend en spraytørker (Niro SD Micro spraytørker) og anvend en tørkegass med gjennomstrømningsmengde 32,5 kg/t, 2,8 bar, forstøvningsgass med gjennomstrømningsmengde 2,0 kg/t, 0,3 bar, og inntakstemperatur (automatisk kontroll) 115 °C. Så snart inntakstemperaturen er på 115 °C og uttakstemperaturen er stabilisert (109 °C), start strømning av 83:17 (vekt/vekt) etanol:vann til forstøver. Ved en pumpeinnstilling på 3,0 treffer ingen dråper kammerets vegger/uttak. La systemet nå termisk likevekt - uttak = 104 °C. Bytt

20 fra etanol:vann (ved romtemp.) til å tørke prøven i en oppløsning av etanol/vann. Resulterer i 13,51 g etter spraytørking.

Eksempel 13

25

***Trans*-4-[[*(5S)*-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksytsyre-magnesiumsalt**

Oppløs *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksytsyre-natriumsalt (2 gram) i 5 ml metanol. Oppløs
 5 magnesiumacetat (335 mg) i 20 ml vann. Tilsett magnesiumacetatoppløsningen dråpevis ved romtemperatur med energisk omrøring og etterfølg med oppvarming til 65 °C. Utfelling inntreffer. Ved den forhøyede temperaturen, tilsett ytterligere 10 ml vann. Avkjøl suspensjonen til romtemperatur og isoler
 10 faststoffproduktet gjennom vakuumfiltrering og skyll med vann. Tørk produktet i en vakuumovn ved romtemperatur.

Kalsium- og sinksaltene av BCCA kan fremstilles gjennom en tilsvarende prosedyre som den for fremstillingen av BCCA-magnesiumsaltet. Kaliumsaltet kan fremstilles gjennom en tilsvarende prosedyre som den for fremstillingen av
 15 BCCA-natriumsaltet.

Eksempel 14

***Trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksytsyre-tert-butylamin-isopropylalkoholsolvat (1:1:1)**

Sett opp en 1 l trehalset rundbunnet kolbe utstyrt med en mekanisk omrører, temperaturkontroll, tilsetningstrakt og varmekappe. Suspender *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksytsyrehydrat (50 g) i heptan (500 ml). Varm opp slurryen til
 25 69 °C og tilsett tert-butylamin (5,57 g) som en oppløsning i isopropylalkohol (70 ml) og skyll i med ytterligere 5 ml isopropylalkohol. En oppløsning dannes umiddelbart etter tilsetning. Under tilsetning faller temperaturen til 63°C, men varmes opp igjen til 69 °C etter at tilsetning er fullført. Så med spateltupp av
 30 *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksytsyre-tert-butylamin. En suspensjon begynner å dannes –
 35 fortsett å røre om ved 69 °C. Begynn å avkjøle reaksjonen til 55 °C. Innen

omtrent en time dannes en tykk slurry. Fortsett å avkjøle til 45 °C. Innen omtrent en time, bring slurryens temperatur ned til 35 °C. Innen omtrent 2 timer, fjern varmekilden og la den avkjøle seg til romtemperatur. Innen omtrent 3 timer, filtrer slurryen (temperaturen er nå 21 °C) og skyll med 100 ml heptan. Tørk ved hjelp av vakuum i omtrent 1,5 time. Tørk over helgen in vacuo ved 33 °C. Dette resulterer i 55,9 g. Røntgendiffraksjonsspekteret ble hentet som beskrevet i eksempel 7. Tabell 4 nedenfor lister opp toppene oppnådd fra røntgendiffraksjonsspekteret.

10

Tabell 4

Vinkel (2-θ°)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångstrøm)
5,6	44,1	15,66139
8,0	25,8	11,06129
8,9	14,1	9,90002
10,9	7,3	8,08475
11,3	49,2	7,84359
11,5	2,6	7,67967
12,3	1,9	7,19816
12,6	50,1	7,01593
12,8	2,2	6,88749
13,5	5,5	6,52796
14,4	9,4	6,14491
15,2	3,5	5,81628
15,7	1,7	5,62539
16,0	3,0	5,54451
16,2	6,6	5,45377
16,5	9,5	5,38135
16,9	1,4	5,22767
17,3	1,7	5,11298
17,9	100,0	4,95461

Vinkel ($2\theta^\circ$)	Intensitet I/I_0 (%)	d-verdi (Ångström)
19,0	2,6	4,67047
19,4	9,2	4,56973
19,8	18,4	4,47579
20,0	4,3	4,43314
20,4	31,4	4,34849
20,6	10,7	4,30398
20,9	7,4	4,25624
21,2	2,6	4,18059
21,6	16,3	4,11389
22,5	15,6	3,94560
22,7	10,1	3,92057
22,9	4,9	3,88729
23,4	14,3	3,79936
24,1	32,8	3,69727
24,4	2,7	3,64309
25,4	17,6	3,50430
25,7	2,8	3,46139
26,2	2,2	3,40048
26,5	3,9	3,36314
27,4	1,7	3,25294
27,7	3,4	3,21470
28,4	2,2	3,13589
28,8	1,9	3,09670
29,0	10,9	3,07330
30,0	1,7	2,97494
30,3	2,2	2,94722
30,7	3,6	2,91172

Vinkel (2-θ°)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångstrøm)
31,1	2,7	2,87130
31,5	1,8	2,83951
32,0	1,6	2,79091
32,3	1,8	2,77270
32,5	3,5	2,74970
33,3	2,7	2,69165
34,2	2,5	2,62286
34,5	1,7	2,59477
34,8	1,6	2,57771
35,9	1,4	2,49750
36,2	2	2,48053
36,6	2,7	2,45071
37,1	1,2	2,42094
37,3	1,7	2,40638
37,7	1,2	2,38295
38,0	1,5	2,36721
38,3	2	2,34975
38,8	2.8	2,31827
40,0	1,4	2,25835

Eksempel 15

5 ***Trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre-hemi- tert-butylaminsalt-hemi-etanol-solvat (2:1:1) i krystallinsk form**

Suspender *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylysyrehydrat (50,5 g) i heptan (404,00 ml) med mekanisk øvre omrøring. Tilsett etanol (25,25 ml) og varm opp til 55 °C. En oppløsning dannes. Tilsett tert-butylamin (2,81 g) ved 55 °C. Så med solvat av *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylysyre hemi-tert-butylamin hemi-etanol (2:1:1) og såingen fortsetter. Oppretthold temperaturen ved 50 °C. Det dannes en ganske tykk slurry i løpet av noen minutter med en eksoterm reaksjon opp til 60 °C. Fortsett å røre om og avkjøles tilbake til 50 °C. Etter omtrent 5,5 timer, skru av varmen og la den avkjøle seg til romtemperatur. Innen omtrent 3 timer, filtrer, skyll kolben ut med del av moderluten, og skyll deretter kaken med 100 ml heptan. Tørk over natten in vacuo ved 45 °C. 50,9 g. Røntgendiffraksjonsspekteret ble hentet som beskrevet i eksempel 7. Tabell 5 nedenfor lister opp toppene oppnådd fra røntgendiffraksjonsspekteret.

Tabell 5

Vinkel (2- θ °)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångstrøm)
4,4	7,9	19,89438
5,5	100,0	15,98834
7,0	11,1	12,56184
9,0	68,2	9,80480
10,5	2,8	8,37905
11,0	6,7	8,03163
13,2	14,6	6,72015
13,6	15,4	6,51691
14,3	91,3	6,16773
14,7	6,5	6,03809
15,2	19,3	5,81709
16,4	7,7	5,38980
17,1	8,5	5,16503

Vinkel ($2\text{-}\theta^\circ$)	Intensitet I/I_0 (%)	d-verdi (Ångström)
17,5	47,8	5,06441
18,2	56,5	4,87353
19,4	42,7	4,58173
19,8	13,6	4,47894
20,0	16,8	4,44358
20,6	36,0	4,31170
21,3	4,7	4,16561
22,0	66,4	4,04259
22,5	60,2	3,95496
22,8	8,5	3,89683
23,6	10,5	3,76398
24,2	8,0	3,66760
24,5	9,1	3,63014
25,2	3,0	3,53057
25,5	11,9	3,48459
26,0	4,9	3,42535
26,5	10,1	3,36294
26,8	8,5	3,32729
27,4	7,4	3,24977
28,2	3,6	3,16032
29,0	10,2	3,07299
29,8	2,6	2,99108
30,3	1,7	2,94967
30,8	2,8	2,90463
31,3	1,8	2,85529
31,6	2,2	2,83127
31,9	2	2,80658

Vinkel (2-θ°)	Intensitet I/I ₀ (%)	d-verdi (Ångstrøm)
32,2	1,3	2,77693
32,5	2,1	2,75134
32,8	2,8	2,72867
33,1	2,6	2,70617
33,4	4,0	2,68312
33,6	2,1	2,66202
33,9	1,3	2,64016
34,3	2,6	2,61178
34,9	1,9	2,57048
35,3	3,5	2,54278
35,9	1,6	2,50187
36,2	1,2	2,47774
36,6	2	2,45291
37,1	3,7	2,42008
37,5	1,6	2,39905
37,9	2	2,37147
38,5	2,5	2,33798

Eksempel 16

5 ***Trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylysyre • hydrat**

10 Trinn 13 av skjema 3: Tilsett 2 M NaOH-oppløsning (9,9 l) til metyl-trans-4-
 {[[(5S)-5-{[3,5-bis(trifluormetyl)benzyl](2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino}-7,9-
 dimetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl}sykloheksankarboksylylat
 (12,95 kg) ved romtemperatur og rør om reaksjonen i 10 minutter. Rør om
 reaksjonen ved 40 °C til 45 °C i 6 timer. Overvåk reaksjonen ved HPLC. Tilsett

5 eddiksyre (3,75 kg) til blandingen etterfulgt av vann (1,2 volumer), så med BCCA•hydrat og rør om i 2 timer ved 40 °C til 45 °C. Tilsett vann (2,8 volumer) til reaksjonsblandingen og rør om i 2 timer ved 40 °C til 45 °C. Avkjøl reaksjonsblandingen til romtemperatur, rør om i 2 timer og filtrer. Samle opp faststoffene, vask med etanol:H₂O (1:1; 2 x 2 volumer), og tørk på trykkfilteret over natten. Dette resulterer i 15,87 kg fast stoff for anvendelse i trinn 2.

10 Tilsett metanol i det faste stoffet fra trinn 1, og rør om ved 65 °C til 70 °C i 2 timer for å få en klar oppløsning. Gni filteret gjennom et trykkplatefilter til en sekundær reaktor, rør om filtratet i 2 timer ved 0 °C til 5 °C, filtrer og tørk på et trykkfilter over natten. Rør om det rekrystalliserte faststoffet i vann (10 volumer) ved romtemperatur i 2 timer, filtrer og tørk på et trykkfilter. Tørk i ovnen under høyvakuum ved 40 °C til 45 °C til tilnærmet 2,7 til 3,1 % vann ved Karl-Fisher-analyse. Dette resulterer i 11,80 kg stoff.

15

Karl-Fisher-analyse = 3,16 %

20

Massespektrometri ved ES-API i positiv modus = 639,30; i negativ modus 637,20.

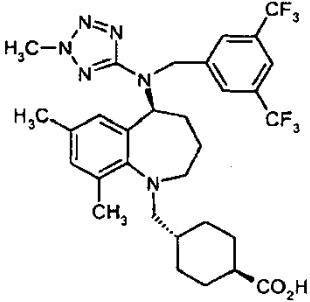
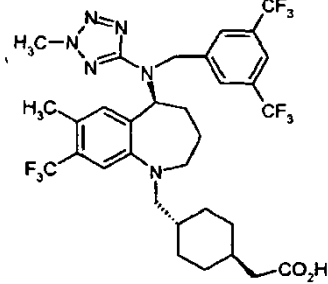
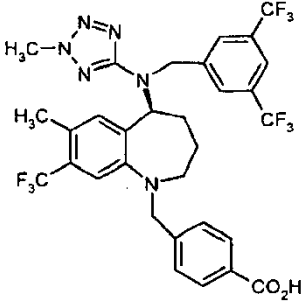
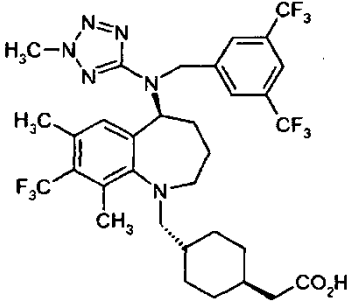
Kjemisk stabilitet

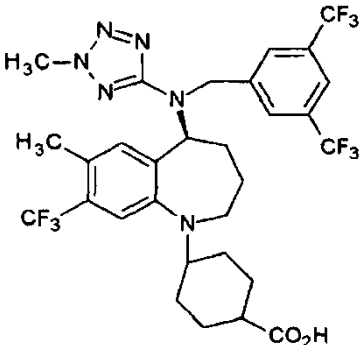
25

Tabell 5 nedenfor lister opp den kjemiske stabiliteten av fri BCCA-syre samt stabiliteten av utvalgte eksempler 31, 89, 153, og 175 beskrevet i WO 06/002342, nummerert på nytt nedenfor som henholdsvis forbindelse 13, 14, 15 og 16. Dataene nedenfor demonstrerer at fri BCCA-syre tilveiebringer fordelaktige egenskaper ved å fremvise en økt stabilitet i vandig surt medium som er betydelig større enn den som fremvises av forbindelse 13, 14 og 16. Denne økte syrestabiliteten for fri BCCA-syre instrueres ikke og kan ikke forutses i betraktning av WO 06/002 342.

30

Tabell 6 Syrestabilitet

Forb.	Struktur	Navn	0,1 N HCl 40 °C†	
			8 timer	24 timer
Eks. 1		Fri BCCA-syre	97,3	91,3
13		(4-{5-[(3,5-bis-trifluormetylbenzyl)-(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)-amino]-7-metyl-8-trifluormetyl-2,3,4,5-tetrahydro-benzo[b]azepin-1-ylmetyl}-sykloheksyl)-eddiksyre	14,5	0
14		(S)-(4-{5-[(3,5-bis-trifluormetyl-benzyl)-(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)-amino]-7-metyl-8-trifluormetyl-2,3,4,5-tetrahydro-benzo[b]azepin-1-ylmetyl}-benzosyre	52	13,4
15		(S)-(4-{5-[3,5-bis-trifluormetyl-benzyl)-(2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-7,9-dimetyl-8-trifluormetyl-2,3,4,5-tetrahydro-benzo[b]azepin-1-ylmetyl}-sykloheksyl)-eddiksyre	100,4	99,1

Forb.	Struktur	Navn	0,1 N HCl 40 °C†	
			8 timer	24 timer
16		(S)-4-{5-[(3,5-bis-trifluormetylbenzyl)-2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)-amino]-7-metyl-8-trifluormetyl-2,3,4,5-tetrahydro-benzo[b]azepin-1-yl}-sykloheksankarboksylsyre	37,8	13,4*
† Prosent resterende; hver forbindelse ble kjørt i separat forsøk ifølge prosedyren like nedenfor. * Prosent resterende etter 16 timer				

Prøvefremstillinger: 1) Bruksløsning forbindelse 0,9 mg/ml i ACN; 2) 100 µl bruksløsning + 700 µl ACN + 1 ml medium (0,1 N HCl, 50 mM PO₄, pH 8, og 0,3-% H₂O₂); 3) Sett hetteglassene i oppvarmet (40 °C) automatisk prøvemater, injiser ved 4 tidsintervaller i 16 eller 24 timer.

Betingelser for kromatografiprøvemater

Kolonne: Alltech Alltima Phenyl, 3 µm, 4,6 x 150 mm eller Waters XTerra MS C 18, 3,5 µm, 4,6 x 150 mm Kolonnetemperatur: 50 °C, Injeksjonsvolum: 10 µl. Deteksjon: UV @ 226, 254 eller 266 nm (avhengig av forbindelse) Gjennomstrømningsmengde: 1,5 ml/min. Mobilfase: 0,1-% TFA i 50 % vann/50 % ACN (kan være nødvendig å justere ACN-% for å holde forbindelsens toppretensjonstid ~5 min.) endelig prøvekons. 0,05 mg/ml; ACN-innhold 44 %.

Bestemmelse av IV og PO farmakokinetikk av CETP-hemmerforbindelser hos Sprague-Dawley-hannrotter for sammenligning

Det følgende er for å bestemme de farmakokinetiske parametrene, inkludert oral biotilgjengelighet, etter administrasjon av en enkelt intravenøs éndose på 1 mg/kg eller administrasjon av en oral dose på 3 mg/kg av forbindelsen til

Sprague-Dawley-hannrotter (n=4) i et krysningsstudieoppsett. Det intravenøse vehikkelet er 20 % solutolmikroemulsjon/80 % deionisert vann. Det orale vehikkelet er povidon USP 10 %/SLS 0,5 %/QS deionisert vann. I den intravenøse armen tas det blodprøver 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 5, 8, 12, og 24 timer etter dosen. I den orale armen tas det blodprøver 0, 0,25, 0,5, 1, 2, 5, 8, 12, og 24 timer etter dosen. Plasma oppnås ved sentrifugering, plassert på is, og fryses til prøvene sendes på tørris til Bioanalytical Systems, Inc. (BASi; West Lafayette, IN, USA) for bioanalytisk analyse. Konsentrasjoner av BCCA bestemmes ved LC/MS/MS og farmakokinetiske parametre beregnes ved hjelp av et godkjent dataprogram (Watson, versjon 7.1). Andre vehikler kan anvendes for å evaluere biotilgjengeligheten av BCCA, inkludert: 1 % w/v natriumkarboksymetylcellulose, 0,25 % w/v polysorbat 80 (Tween 80) og 0,05 % 0,05-% Dow Coming Antifoam 1510-US i renset vann eller; 1 % w/v natriumkarboksymetylcellulose, 0,5 % w/v natriumlauratsulfat og 0,05 % 0,05-% Dow Coming Antifoam 1510-US i renset vann i renset vann, hver anvendt enden med eller uten sonifikasjon for å forenkle oppløsning av forbindelsene.

Dataene nedenfor i tabell 7 demonstrerer at fri BCCA-syre tilveiebringer fordeler som fremviser mer enn 4 ganger så stor biotilgjengelighet som den som fremvises av forbindelse 15.

(Eksempel 153 i WO 06/002 342). Denne økte biotilgjengeligheten instrueres ikke og kan ikke forutses i betraktning av WO 06/002 342.

Tabell 7: Farmakokinetiske data (FK-data)

Forb. nr.	Cmax p.o. (ng/ml) ± sd	Tmax p.o. (t) ± sd	F-% (ekstrap. AUC) ± sd †
Fri BCCA-syre	208 ± 41	3,5 ± 1,7	38 ± 4
15	85 ± 43	5,0 ± 0	8 ± 3
† 3 mg/kg PO (2 ml/kg dosevolum), 1 mg/kg IV (1 ml/kg dosevolum)			

Assayer

De følgende assayprotokollene og resultat(er) derav som demonstrerer nytten og effekten av forbindelsen og/eller anvendelser av den foreliggende oppfinnelsen, er gitt til illustrasjonsformål og er ikke ment å være begrensende på noen måte.

In vitro CETP-hemmer-assay: SPA-ASSAY

Et scintillasjonsnærhetsassay (eng.: scintillation proximity assay, SPA) in vitro er anvendt for å evaluere evnen til forbindelser ifølge denne oppfinnelsen til å hemme overføringen av radiomerkede kolesterollestere mellom HDL og LDL. Dette assayet overvåker hemmingen av overføringen av [³H]kolesterollestere fra HDL (Amersham) til biotinyleret LDL (Amersham) ved en CETP-kilde. CETP-kilden for dette assayet kan fremstilles av AV-12 celler som er skapt for å uttrykke humant CETP. Den radiomerkede kolesterollesteren overføres i en HEPES-NaCl-basert buffer, etter 30 minutters inkubering stoppes reaksjonen og det biotinylerede LDL-et bindes til streptavidin/scintillerende belagte SPA-perler (Amersham). Det radioaktive signalet måles i en Packard 96-brønners scintillasjonstoppteller med helt åpne vindusinnstillinger. En reduksjon i radioaktivt signal fra LDL-et i forhold til en standard indikerer forbindelsers evne til å hemme aktiviteten av CETP.

Alternativt kan andre CETP-kilder anvendes for å mediere overføringen av radiomerket kolesterollester i dette assayet. For eksempel kan CETP fra humant plasma, CETP fra mus som uttrykker humant CETP og endogent CETP fra hamstre anvendes som CETP-kilde i dette assayet.

Andre buffere enn HEPES-NaCl-basert buffer kan anvendes i dette assayet, for eksempel kan human plasma, museplasma eller en Tris-buffer med høyt albuminnhold anvendes.

Det vil forstås av fagmannen at andre radioaktivetskilder kan anvendes for å spore CETP-aktiviteten i dette assayet.

35

I tillegg kan radiomerket LDL anvendes i dette assayet.

In-vivo-assay av CETP-aktivitet

Syriske gullhamstre, som uttrykker endogent CETP, kan anvendes for å evaluere forbindelsenes aktivitet in vivo. Testforbindelser administreres oralt 30 mpk dose et vehikkel av 79,5 % maisolje, 20 % oleinsyre, 0,5 % Lubrafil til en stamme av genmodifiserte mus som uttrykker humant CETP (heterozygote CETP- og Apo-A1- hunn- eller hannmus Taconic, Germantown, NY, USA). På ulike tidspunkter etter dosering, i området fra 4t til 48t, kan blod/plasma oppnås. CETP-aktiviteten kan bestemmes ved en fremgangsmåte lignende den som er beskrevet ovenfor for CETP-aktivitetsassayet in vitro, med den modifikasjonen at plasma fra de behandlede dyrene anvendes som CETP-kilden i assayet.

In-vivo-aktiviteten av BCCA ifølge dette assayet er listet opp nedenfor i tabell 8.

In-vivo-assay av plasmalipider

Aktivitet av forbindelser ifølge denne oppfinnelsen in vivo kan evalueres ved å sammenligne det forhøyede nivået av HDL-kolesterol i forhold til en kontroll ved en gitt mengde av en forbindelse i en CETP-inneholdende dyreart. Testforbindelsene administreres som beskrevet ovenfor for in-vivo-assayet av CETP-aktivitet. På ulike tidspunkter etter dosering, i området fra 4t til 24t, oppnås det blod/plasma. Blodet får koagulere, og serum oppnås fra det koagulerende blodet ved sentrifugering. HDL-kolesterolnivåene i serumet kan bestemmes ved kjente prosedyrer ved hjelp av HDL-C pluss reagenser (Roche/Hitachi, Indianapolis, IN) med en klinisk-kjemi-analysator (Roche/Hitachi, Indianapolis, IN). Ytterligere serumlipider kan analyseres ved enzymatiske fremgangsmåter. Lipider i VLDL-, LDL- og HDL-fraksjonene analyseres ved enzymatiske fremgangsmåter etter utfelling eller eksklusjonskromatografi (eng.: size exclusion chromatography). Et eksempel på forhøyelsen av HDL-kolesterolnivåer 8 t etter administrasjon av amorft BCCA er oppsummert nedenfor i tabell 8.

Tabell 8

Forb. nr.	% CETP-hemming timert†	8 % HDL-kolesteroløkning ved 8 timert†
BCCA	98,6	129,7.
†79,5 % maisolje, 20 % oleinsyre, 0,5-% Lubrafil, 30 mpk dose, heterozygote CETP- og Apo-A1-hunn- eller hannmus (Taconic).		

Anvendelse

5

Som anvendt heri betyr betegnelsen "effektiv mengde" en mengde forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen, dvs. amorf BCAA, BCCA•solvat, BCCA-salt•solvat og/eller BCCA•hydrat i krystallinsk form eller en kombinasjon derav, som er i stand til å mildne symptomene på de ulike patologiske tilstandene som tilskrives hjerte- og karsykdommer. Eksempler på hjerte- og karsykdommer inkluderer, men er ikke begrenset til: koronar hjertesykdom, slag, arteriosklerose, dyslipidemi, lavt høydensitetslipoprotein (HDL) hyperkolesterolemi, og perifer karsykdom.

10

15

En spesifikk dose av en forbindelse som administreres ifølge denne oppfinnelsen kan bestemmes utfra de bestemte omstendighetene som omgir tilfellet, inkludert for eksempel, men ikke begrenset til: forbindelsen som administreres, administrasjonsmåten, pasientens helsetilstand og den patologiske tilstanden som behandles som bestemt av den behandlende legen. En typisk daglig dose vil inneholde fra omtrent 10 mg til omtrent 750 mg/dag av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen. Foretrukket vil daglige doser som regel være fra omtrent 30 mg til omtrent 600 mg/dag, enda mer foretrukket fra omtrent 50 og til omtrent 300 mg/dag.

20

25

Forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen kan administreres på ulike måter. Forbindelsen ifølge oppfinnelsen er foretrukket formulert som tabletter, faste eller gelfylte kapsler, pulver, oppløsninger eller suspensjoner.

30

Farmasøytiske formuleringer av den foreliggende oppfinnelsen kan fremstilles ved prosedyrer som er kjent teknikk, ved hjelp av velkjente og lett tilgjengelige ingredienser. Betegnelsen "farmasøytisk akseptabel" som anvendt heri, viser til

ett eller flere bærestoffer, fortynningsmidler, hjelpestoffer og salter er forenlige med de andre ingrediensene i formuleringen og ikke skadelig for resipienten derav. Farmasøytiske sammensetninger og fremgangsmåter for fremstilling derav kan er kjent i teknikken, og eksempler finnes i Remington, "The Science and Practice of Pharmacy" (A. Gennaro, et al. eds. 19. utg. Mack Publishing Co.)

Ikke-begrensede eksempler på farmasøytisk akseptable bærestoffer, hjelpestoffer og fortynningsmidler som er egnet for slike formuleringer, inkluderer følgende: stivelse, sukker, mannitol og silikaderivater; bindemidler så som karboksymetylcellulose og andre cellulosederivater, alginater, gelatin og polyvinyl-pyrrolidon; fuktemidler så som glyserol; desintegreringsmidler så som kalsiumkarbonat og natriumbikarbonat, midler for å forsinke oppløsning så som parafin; resorpsjonsakseleratorer så som kvaternære ammoniumforbindelser; overflateaktive midler så som cetylalkohol, glyserolmonostearat; adsorberende bærestoffer så som kaolin og bentonitt; og smøremidler så som talkum, kalsium og magnesiumstearat, og faste polyetylglukoler. I én form inkluderer den farmasøytiske formuleringen mannitol, natriumlaurylsulfat, kolloidalt silisiumdioksid, natriumkroskarmellose, mikrokrystallinsk cellulose og magnesiumstearat, og kan inkludere legemiddelsubstansen, BCCA, fri BCCA-syre, BCCA-hydrat eller BCCA-hydrat i krystallinsk form i et område på mellom omtrent 2 og omtrent 21 % vekt/vekt.

Således er et annet trekk ved den foreliggende oppfinnelsen et farmasøytisk akseptabelt salt av en forbindelse tilveiebrakt av denne oppfinnelsen. Eksempler på farmasøytiske salter finnes i S. M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," J. Phar. Sci., 66: 1-19 (1977) og "A Handbook of Pharmaceutical Salts Properties, Selection og Use", Wermuth, C. G. og Stahl, P. H. (utg.) Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002, som er inkorporert heri.

Patentkrav

5 **1.** Forbindelse som er *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre, et hydrat eller et farmasøytisk akseptabelt salt av forbindelsen.

10 **2.** Forbindelse ifølge krav 1 som er *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre
• hydrat.

15 **3.** Forbindelse ifølge krav 1 eller 2 som er *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre
• hydrat i krystallinsk form **karakterisert ved** et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å) som omfatter topper ved:

- 20 a) 7,5, 9,2, 10,7 og 15,5 +/-0,2 i 2 θ ; eller
b) 7,5, 9,2, 10,7, 13,8, 15,0, 15,5 og 19,5 +/-0,2 i 2 θ ; eller
c) 7,5, 9,2, 10,7, 13,8, 11,3, 15,0, 15,5, 17,7, 19,5 og 25,1 +/-0,2 i 2 θ .

25 **4.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 2 som er *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1H-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre • hydrat i krystallinsk form **karakterisert ved** et NMR-spektrum i fast tilstand som omfatter topper referert til adamantan ($\delta = 29,5$ ppm) ved:

- 30 a) 175,6, 168,0, 61,1, 21,2 og 18,3 +/- 0,2 ppm; eller
b) 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 61,1, 45,0, 21,2 og 18,3 +/- 0,2 ppm; eller
c) 175,6, 168,0, 145,6, 144,8, 139,9, 136,3, 61,1, 53,0, 49,8, 45,0, 21,2 og 18,2 +/- 0,2 ppm.

5. Forbindelse ifølge krav 1 som er *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2H-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-

tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt av forbindelsen.

5 **6.** Forbindelse ifølge krav 1 hvori kationet for det farmasøytisk akseptable saltet er valgt fra et natrium, kalium, magnesium, kalsium, sink eller *tert*-butylammonium.

10 **7.** Sammensetning omfattende mer enn 80 % av *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre, -hydrat eller -hydrat i krystallinsk form, ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4.

15 **8.** Sammensetning ifølge krav 7 omfattende mer enn 80 % *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre

- hydrat i krystallinsk form.

20 **9.** Sammensetning ifølge krav 7 omfattende mer enn 95 % av *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre

- hydrat i krystallinsk form.

25 **10.** Forbindelse som er *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav; som et solvat hvor solvatet er valgt fra: vann, metanol, etanol, isopropanol, maursyre eller eddiksyre.

30 **11.** Forbindelse ifølge krav 10 hvori *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyren, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, og solvatet er i et molforhold på mellom 1:0,3 til 1:1 +/- 0,2 (syre eller salt:solvat).

35 **12.** Forbindelse ifølge krav 10 som er *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-

tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre

• hemi-*tert*-butylaminsalt • hemi-etanolsolvat i krystallinsk form **karakterisert ved** et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å) som omfatter topper ved:

5 a) 5,5, 9,0, 14,3, 22,0 og 22,5 +/-0,2 i 2 θ ; eller

b) 5,5, 9,0, 14,3, 17,5, 18,2, 19,4, 20,6, 22,0 og 22,5 +/-0,2 i 2 θ ; eller

c) 5,5, 9,0, 13,2, 13,6, 14,3, 15,2, 17,5, 18,2, 19,4, 19,8, 20,6, 22,0 og 22,5 +/-0,2 i 2 θ .

10 **13.** Forbindelse ifølge krav 10 som er *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]--sykloheksankarboksylsyre

• maursyresolvat i krystallinsk form **karakterisert ved** et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å) som omfatter topper ved:

15 a) 15,4, 16,9, 18,2 og 18,6 +/-0,2 i 2 θ ; eller

b) 15,4, 15,7, 16,9, 18,2, 18,6, 19,5, 22,8, 25,7 og 25,5 +/-0,2 i 2 θ ; eller

c) 13,0, 13,9, 15,4, 15,7, 16,9, 16,4, 18,2, 18,6, 19,5, 20,8, 22,8, 25,7 og 25,5 +/-0,2 i 2 θ .

20 **14.** Forbindelse ifølge krav 10 som er *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]--sykloheksankarboksylsyre

• eddiksyresolvat i krystallinsk form **karakterisert ved** et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å) som omfatter topper ved:

25 a) 12,9, 15,1, 18,4, 19,4 og 20,8 +/-0,2 i 2 θ ; eller

b) 12,9, 13,8, 15,1, 16,4, 17,8, 18,4, 19,4, 20,1 og 20,8 +/-0,2 i 2 θ ; eller

30 c) 11,0, 12,9, 13,8, 15,1, 15,6, 16,4, 17,8, 18,4, 19,4, 20,1, 20,8 og 21,7 +/-0,2 i 2 θ .

15. Forbindelse ifølge krav 10 som er *trans*-4-[[[(5*S*)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre

• tert-butylaminsalt • isopropanolsolvat i krystallinsk form **karakterisert ved** et røntgenpulverdiffraksjonsmønster oppnådd fra en CuK α -kilde ($\lambda=1,54056$ Å) som omfatter toppe ved:

a) 5,6, 11,3, 12,6 og 17,9, +/-0,2 i 2 θ ; eller

b) 5,6, 8,0, 11,3, 12,6, 17,9, 20,4 og 24,1, +/-0,2 i 2 θ .

16. Farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse eller en sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 15, og minst ett av et farmasøytisk akseptabelt bærestoff, hjelpestoff eller fortynningsmiddel.

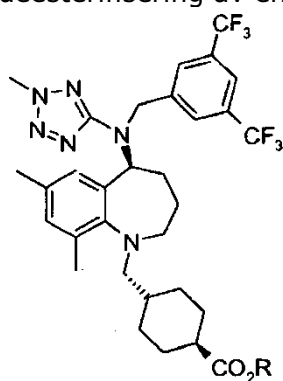
17. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 16 omfattende *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre

• hydrat i krystallinsk form.

18. Forbindelse eller sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 17 for anvendelse i terapi.

19. Forbindelse eller sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 17 for anvendelse i behandlingen av hjerte- og karsykdom.

20. Fremgangsmåte for fremstilling av *trans*-4-[[[(5S)-5-[[[3,5-bis(trifluormetyl)fenyl]metyl] (2-metyl-2*H*-tetrazol-5-yl)amino]-2,3,4,5-tetrahydro-7,9-dimetyl-1*H*-1-benzazepin-1-yl]metyl]-sykloheksankarboksylsyre, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvor fremgangsmåten omfatter deesterifisering av en forbindelse med formel II:

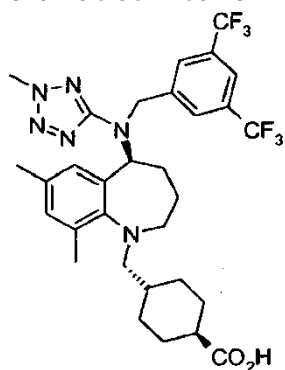


II;

hvor R er valgt fra en C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-haloalkyl, C₃₋₆-sykloalkyl,

61

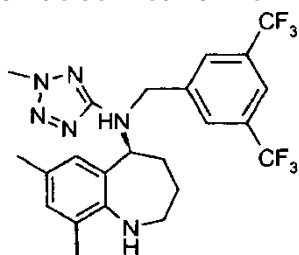
C₁₋₄-alkyl-C₃₋₆sykloalkyl, fenyl eller C₁₋₅-alkylfenyl for å tilveiebringe en forbindelse med formel I eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.



I.

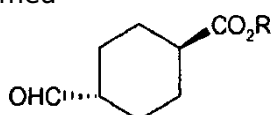
5

21. Fremgangsmåte ifølge krav 20, videre omfattende: kondensasjon av en forbindelse med formel III



III

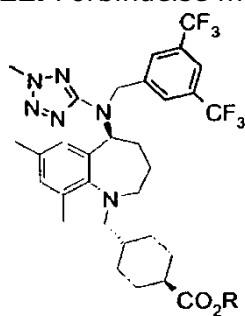
med



10

for å tilveiebringe forbindelsen med formel I eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

22. Forbindelse med en struktur illustrert nedenfor:



II

15

hvor R er valgt fra: C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-haloalkyl, C₃₋₆-sykloalkyl, C₁₋₄-alkyl-C₃₋₆-sykloalkyl, fenyl eller C₁₋₅-alkylfenyl.