

Данное изобретение относится к новой физической форме производных дигидро-2,3-бензодиазепина полезных в качестве фармацевтического средства при лечении расстройства нервной системы.

В публикации европейской патентной заявки № EP-A1-0492485 раскрывается соединение 1-(4-аминофенил)-3-ацетил-4-метил-7,8-метилendioкси-3,4-дигидро-5H-2,3-бензодиазепин. Данное соединение является сильным и селективным антагонистом возбуждательного аминокислотного AMPA рецептора и считается, что оно обладает способностью лечить разнообразные некрологические нарушения. (P) энантиомер данного соединения, называемый здесь далее (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7H-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]бензодиазепин, является наиболее сильным энантиомером.

Настоящее изобретение предоставляет физическую форму (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7H-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]бензодиазепина, имеющую порошковую рентгенограмму с<sup>d</sup> параметрами при 10.61, 8.83, 6.78, 5.83, 4.13 и 3.74Å. Оно предоставляет также процесс получения данной формы, фармацевтические композиции содержащие ее и методы ее использования.

Было найдено, что (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7H-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]бензодиазепин является полиморфным.

Первая физическая форма (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7H-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]бензодиазепина как было найдено, имеет точку плавления примерно 168 - 172°C и порошковую рентгенограмму с характерными d параметрами при 6.57 и 5.24 Å. Данная физическая форма называется здесь ниже как форма I. Она получается с помощью восстановления (R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7H-1,3-диоксоло-[4,5 - h] [2,3]бензодиазепина в этаноле с использованием водорода и палладия на угле в качестве катализатора, затем удаления катализатора путём фильтрования, выпаривания этанола, нагревания остатка в 5,7 объемах 1 : 1 смеси воды и этанола в условиях дефлегмации, и затем оставления полученного в результате раствора охлаждаться.

Совершенно удивительно, модификация процесса, используемого для получения формы I, с помощью использования формиата аммония и палладия на угле вместо водорода и палладия на угле дала новую физическую форму (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7H-1,3-диоксоло-[4,5 - h] [2,3] - бензодиазепина, называемую ниже формой II. Таким образом, форма II была получена с помощью восстановления (R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7H-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]бензодиазепина в этаноле с использованием формиата аммония и палладия на угле в качестве катализатора, затем удаления катализатора путем фильтрования, выпаривания этанола, нагревания остатка в 6 объемах смеси 1 : 1 воды и этанола в условиях дефлегмации и оставления полученного в результате раствора для охлаждения. Было найдено, что форма II имеет порошковую рентгенограмму с характерными d параметрами при 13.12 и 5.01 Å.

Модификация процесса, используемого для получения формы II с помощью использования формиата калия и палладия на угле вместо формиата аммония и палладия на угле на удивление дала еще одну физическую форму, называемую здесь ниже формой III. Таким образом, форма III была получена с помощью восстановления (R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7H-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]бензодиазепина в этаноле с использованием формиата калия и палладия на угле в качестве катализатора, затем удаления катализатора фильтрованием, выпаривания этанола, нагревания остатка в объемах смеси 1 : 1 воды и этанола в условиях дефлегмации и оставления полученного в результате раствора для охлаждения. Было найдено, что форма III имеет порошковую рентгенограмму с характерными d параметрами при 10.61, 8.83, 6.78, 5.83, 4.13 и 3.84 Å. Данная физическая форма предоставляется в качестве одного из аспектов настоящего изобретения.

На удивление была также найдена еще одна физическая форма, называемая ниже как форма IV. Первоначально было замечено, что данная форма образуется после того, как форма II нагрета. Впоследствии было обнаружено, что форма IV может быть получена непосредственно с помощью модификации процесса, используемого для получения формы III, в частности, путем увеличения объемного соотношения вода / этанол, используемых на стадии кристаллизации. Таким образом форма IV получена путем восстановления (R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7H-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]бензодиазепина в этаноле с использованием формиата калия и палладия на угле в качестве катализатора, затем удаления катализатора с помощью фильтрования, выпаривания этанола, нагревания остатка в 8 объемах смеси 5 : 3 вода / этанол или в 7 объемах смеси 4 : 3 вода / этанол в условиях дефлегмации, с необязательным использованием затравки кристаллами формы IV при 70 - 80°C и оставления полученной в результате смеси охлаждаться. Было найдено, что форма IV имеет порошковую рентгенограмму с характерными d параметрами при 12.78, 9.48, 8.99, 8.64, 8.23, 6.39, 6.27, 5.73, 4.01 и 3.96 Å. Данная физическая форма является предметом находящейся одновременно на рассмотрении патентной заявки (ссылочный № X-9386Д).

Было найдено, что форма I обладает несколькими неблагоприятными свойствами. В частности, было обнаружено, что она кристаллизуется в виде густой суспензии, которую трудно перемешивать и транспортировать. Было найдено, что время фильтрации является неприемлемо длительным для крупномасштабного производства, и время сушки отфильтрованного влажного осадка на фильтре также длительно. Кроме того, было найдено, что форма I является термически нестабильной и, как было обнаружено, превращается в форму IV, или, изредка, в еще одну физическую форму, называемую здесь ниже формой V. Было найдено, что форма V имеет порошковую рентгенограмму с характеристиками d параметров при 6.12, 5.94 и 5.48 Å. Форма V показывает множественные фазовые переходы, когда подвергается дифференциальной сканирующей калориметрии.

Было найдено, что форма II выкристаллизовывается в виде перемешиваемой суспензии, которая

может быть свободно профильтрована. Однако, было обнаружено, что она сохнет медленно и сохраняет кристаллизационный растворитель. Было найдено, что, как и форма I, она термически нестабильна, в отношении превращения в форму IV.

Форма III, как было обнаружено, кристаллизуется в виде способной к перемешиванию суспензии, которую можно свободно фильтровать и подвергать сушке. Было найдено также, что она является термически стабильной.

Форма IV, как обнаружено, также кристаллизуется в виде перемешиваемой суспензии, которую можно свободно фильтровать и сушить. Как и форма III, как было найдено, она также является термически стабильной.

Каждая из форм I, II, III, IV и V была охарактеризована с помощью дифракции рентгеновских лучей,  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии в твердом состоянии и с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии. Используемые приемы и физические характеристики, определенные для образцов каждой формы, даются ниже, вместе (только для формы III и IV) с общими интервалами, полученными с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии с использованием ряда различных образцов.

Картинки дифракции рентгеновских лучей (XRD) получали на рентгеновском дифрактометре Сименс Д5000, снабженном  $\text{Cu K}\alpha$  ( $\lambda = 1,54056\text{\AA}$ ) источником, работающим при капиллярной нагрузке 50Кв и 40мА. Данные были собраны с помощью Kevex детектора в твердом состоянии. Каждый образец сканировался между  $4$  и  $35^\circ 2\theta$  - с размером ступенчатого нарастания  $0,03^\circ\text{C}$  и максимальной скоростью сканирования  $2\text{сек./стадию}$ .

Измерения дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) выполнялись на дифференциальном сканирующем калориметре Сейко7 Образцы (2-5мг), загерметизированные в алюминиевых чашках, нагревались от температуры окружающей среды ( $25^\circ\text{C}$ ) до не менее  $200^\circ\text{C}$  со скоростью  $10^\circ\text{C/мин}$ .

$^{13}\text{C}$  ЯМР спектры поперечная поляризация / вращение под магическим углом (CP / MAS) получались с использованием МГц спектрометра Вариан Юнити 400, работающего при углеродной частоте  $100.577\text{ МГц}$  и снабженном вспомогательным комплектом твердых веществ и Вариан зондом 5 или 7мм УТ CP/MAS. Типичные условия измерений были следующими:  $90^\circ$ (град.) протон f пульсацией 5.0мс, время контакта 1 - 2мс., время повторения пульсации 5с., MAS частота 7кГц, спектральная ширина 50кГц, и время аквизиции 50мс. Химические сдвиги относились к  $\text{CH}_3$  группе гексаметилбензола ( $\delta = 17,3\text{млн.дол.}$ ) при замене образца.

#### Форма I

DSC: Главная эндотерма при  $171,5^\circ\text{C}$ , второстепенная эндотерма при  $207,4^\circ\text{C}$ .

XRD: Параметр, d (Å)	Относительная интенсивность
17.30	100
12.28	34
7.76	71
6.57	37
5.24	35
4.81	94
4.34	30
4.21	29
4.09	19
3.98	14
3.62	18
2.85	12

#### Форма II

DSC: Эндотерма при  $85,2^\circ\text{C}$ , экзотерма при  $91,4^\circ\text{C}$ , эндотерма при  $192,3^\circ\text{C}$ .

XRD: Параметры, d (Å)	Относительная интенсивность
13.12	100
9.72	23
6.73	37
6.61	60
5.25	28
5.01	94
4.89	70
4.75	41
4.24	28
3.74	25

#### Форма III

DSC: Эндотерма для данного образца при  $194,7^\circ\text{C}$ . Другие образцы, как было найдено, показывают эндотерму при температуре в интервале от  $192$  до  $195^\circ\text{C}$ .

XRD: Параметры, d (Å)	Относительная интенсивность
10.61	78
8.83	73

8.33	15
7.85	9
6.78	100
5.83	17
5.68	6
5.31	25
5.11	68
4.94	62
4.78	20
4.55	5
4.41	25
4.13	71
4.07	19
3.90	24
3.74	40
3.53	16
3.42	18
3.37	26
3.28	11
3.21	30
3.02	5
2.85	7
2.78	6

Форма IV

DSC: Эндотерма данного образца при 203.2°C. Найдено было, что другие образцы показывают эндотерму при температуре в интервале от 201 до 207°C.

XRD: Параметры, d (Å)      Относительная  
интенсивность

120,78	100
9,48	29
8,99	17
8,64	23
8,23	59
6,53	58
6,39	13
6,27	20
5,73	33
5,37	44
5,22	14
5,18	11
5,10	15
4,95	32
4,89	61
4,75	12
4,56	10
4,41	29
4,32	20
4,01	53
3,96	35
3,77	22
3,59	31
3,39	15
3,11	19

Форма V

DSC: Эндотерма при 170,6°C, экзотерма при 206,2°C.

XRD: Параметры, d (Å)      Относительная  
интенсивность

17,37	51
12,29	21
7,75	29
6,79	32
6,12	13
5,94	14
5,48	15
5,34	24
4,89	82
4,33	100

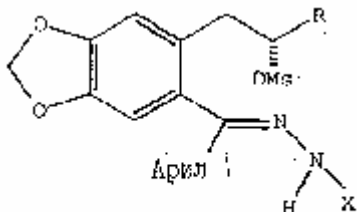
4.26	50
4.08	34
4.02	20
3.65	21
2.86	13

Таблица 1.

Данные химических сдвигов $^{13}\text{C}$ ЯМР в растворе и в твердом состоянии				
Форма I	Форма II	Форма III	Форма IV	Форма V
176.4	173.7	17.4	174.1, 176.3	175.3
128.6	126.9	126.3	127.5, 129.4	148.5
115.9	150.4	109.4	114.1	149.4
148.9	147.6	116.1	116.3	146.7
146.3	134.5	149.9	148.0, 150.2	135.4
136.4	123.3	146.0	146.4	136.7
123.9	129.2	135.9	136.1	151.1
131.7	135.8	124.3	124.7	154.3
154.5	152.1	129.1	131.2, 133.6	155.1
168.4	170.7	132.8	152.7	163.0
22.2	22.2	153.5	167.7, 169.7	167.2
18.6	18.3	171.4	23.2, 23.7	20.6
		24.3	18.5, 19.2	19.1
		19.4		17.4

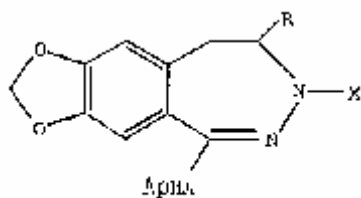
Согласно еще одному аспекту настоящее изобретение предоставляет процесс получения формы III, который включает:

а) взаимодействие соединения формулы



VII

в которой MS представляет метансульфонил, R-метил, X-ацетил и Арил представляет п-нитрофенил, с каустической содой с получением соединения формулы 1



I

в которой R-метил, X-ацетил, и Арил-п-нитрофенил,

в) восстановление п-нитрофенильной группы в соединении формулы I в анилиновую группу с использованием формиата калия в присутствии палладия на активированном угле в качестве катализатора с получением соединения формулы I, в которой Арил представляет п-аминофенил, и

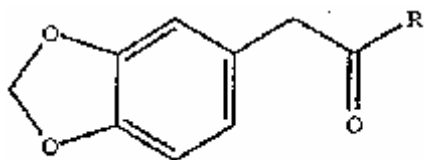
с) кристаллизацию соединения формулы 1, в которой Арил представляет п-аминофенил, из смеси воды и этанола, в которой число объемов воды на объем этанола составляет менее, чем 1,1 - 1,0.

Если используется заправка формой III, на стадии (с) можно использовать более высокое объемное отношение воды к этанолу.

Стадия (а) данного процесса удобно проводится при температуре в интервале от 0 до 100°C. Подходящие растворители включают алканола, такие как метанол или этанол, и простые эфиры, такие как тетрагидрофуран.

Соединение общей формулы VII может получаться с помощью многостадийного процесса, исходя из производного метилendioксифенилкетона. Данный процесс включает:

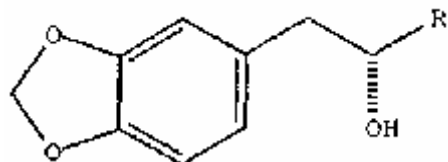
а) предоставление некоторого количества соединения, имеющего формулу:



(II)

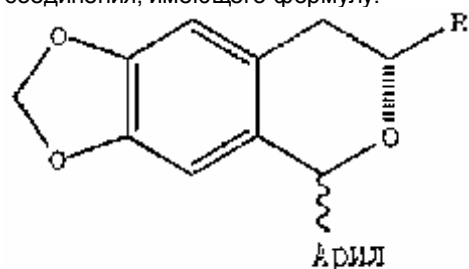
в которой R представляет метил,

в) асимметрическое восстановление соединения формулы II с получением соединения, имеющего формулу:



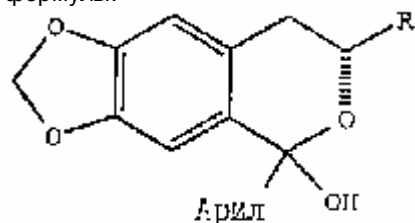
(III)

с) взаимодействие соединения формулы III с п-нитробензальдегидом с получением изоманового соединения, имеющего формулу:



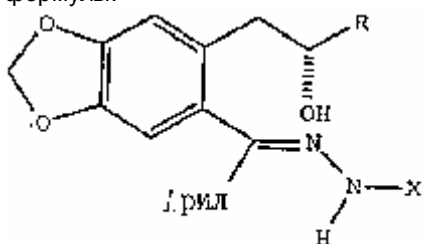
(IV)

д) взаимодействие соединения формулы IV с окисляющим агентом с получением соединения формулы:



(V)

е) взаимодействие соединения формулы V с уксусным гидразидом с получением соединения формулы:



(VI)

и

ф) взаимодействие соединения формулы VI с метансульфонил-хлоридом и третичным амином с образованием соединения формулы VII.

Предпочтительный процесс включает на ранней стадии хиральное восстановление кетона в спирт. В многостадийном процессе добавляются заместители для замыкания бензо-сконденсированного пиранового кольца, перед тем, как гидразиновый реагент вводится для открытия кольца и добавления необходимых азотных компонентов. Наконец, вторичное кольцо замыкается при добавлении сильного основания, и данное соединение восстанавливается и образуется желаемое соединение.

Наиболее предпочтительно первоначальной стадией в синтезе соединений формулы I из кетон является стадия хирального восстановления. Хиральное восстановление может проводиться при

использовании специальных химических веществ или, предпочтительно, с использованием биологических агентов описанных ниже. Установление стереохимии на ранней стадии в данном процессе является благоприятным и позволяет более поздним стадиям осуществляться на относительно энантиомерно чистом материале. Это увеличивает, как производительность, так и энантиомерную чистоту.

Первая стадия данного процесса включает хиральное восстановление 3,4-метилendioксифенилацетона с получением фактически энантиомерно чистого спиртового производного 1,2-метилendioксибензола. Предпочтительно, образующийся энантиомер представляет S или (+) стереоизомер спирта.

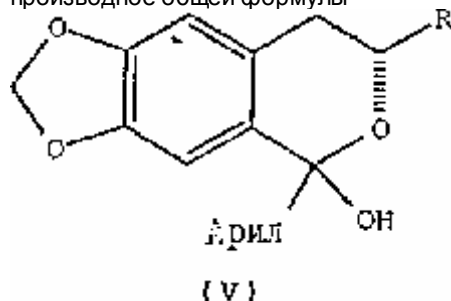
Альтернативно, первоначальная стадия может включать сочетание галоидного производного 1,2-кетилendioксибензола с энантиомерно обогащенным эпоксидом. Это также приводит в результате к получению в высокой степени энантиомерного обогащенного спиртового производного 1,2-метилendioксибензола. Материал, используемый для проведения хирального восстановления на начальной стадии, может быть или химическим или предпочтительно, биологическим. В случае биологических агентов предпочтительными агентами являются восстанавливающие ферменты, причем, наиболее предпочтительными являются дрожжи из группы *Zugosaccharomyces*. Другие биологические агенты, которые могут использоваться включают:

*Pihia fermentans*, *Endomycopsis fibuligera*, *Nematospora coryli*, *Saccharomyces* sp., *Candida famata*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum*, *Candida utilis*, *Saccharomyces globosus*, *Kluyveromyces dobzhansk*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida albicans*, пекарские дрожжи, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Lacto bacillus acidophilus*, *Aureobasidium pullulans*, *Mortierella isabellina*, *Rhizopus oryzae*, *Kloeckera javanica*, *Hanseniaspora valbyensis*, *Octosporomyces octospori*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Torulopsis taboadae*, *Torulopsis ethanolitolerans*, *Torulopsis ptarmiganii*, *Torulopsis sonorensis*, *Trigonopsis variabilis*, *Torulopsis enokii*, *Torulopsis methanothermo*, SAF *variabilis*, *Torulopsis enokii*, *Torulopsis methanothermo*, SAF быстрорастворимые дрожжи, инакт. дрожжи ashland, *Candida boidin* *Candida blankii* и дрожжи Red Star.

Желаемым промежуточным соединением, образующимся на начальной стадии является спиртовое замещенное производное 1,2-метилendioксибензола, причем, наиболее предпочтительным производным является (S)-альфа-метил-1,3-бензодиоксол-5-этанол.

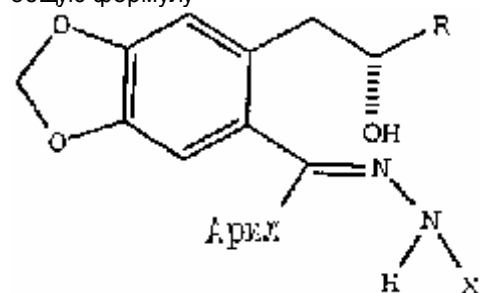
Желаемое промежуточное соединение, образующееся на начальной стадии, затем подвергается реакции Пиктет-Спенглера, которая предусматривает конвергентное слияние или конденсацию бензодиазепиновых углеродных составляющих. Предпочтительным реагентом является п-нитробензальдегид, хотя могут также использоваться другие реагенты известные специалистам в данной области, такие как ацетали. Предпочтительными промежуточными соединениями являются дигидробензопираны, причем, наиболее предпочтительным соединением является 7,8-дигидро-7-метил-5-(4-нитрофенил)-5Н-1,3-диоксол-бензо[б]пиран.

Дигидробензопирановое производное затем окисляется в С-5 положении, давая гемикетальное производное общей формулы



Предпочтительные окисляющие агенты включают перманганат калия, ДДQ(2, 3-дихлор-5, 6-дициано-1, 4-бензохинон) или другие, причем, самым предпочтительным агентом является гидроокись натрия и сочетание с воздухом.

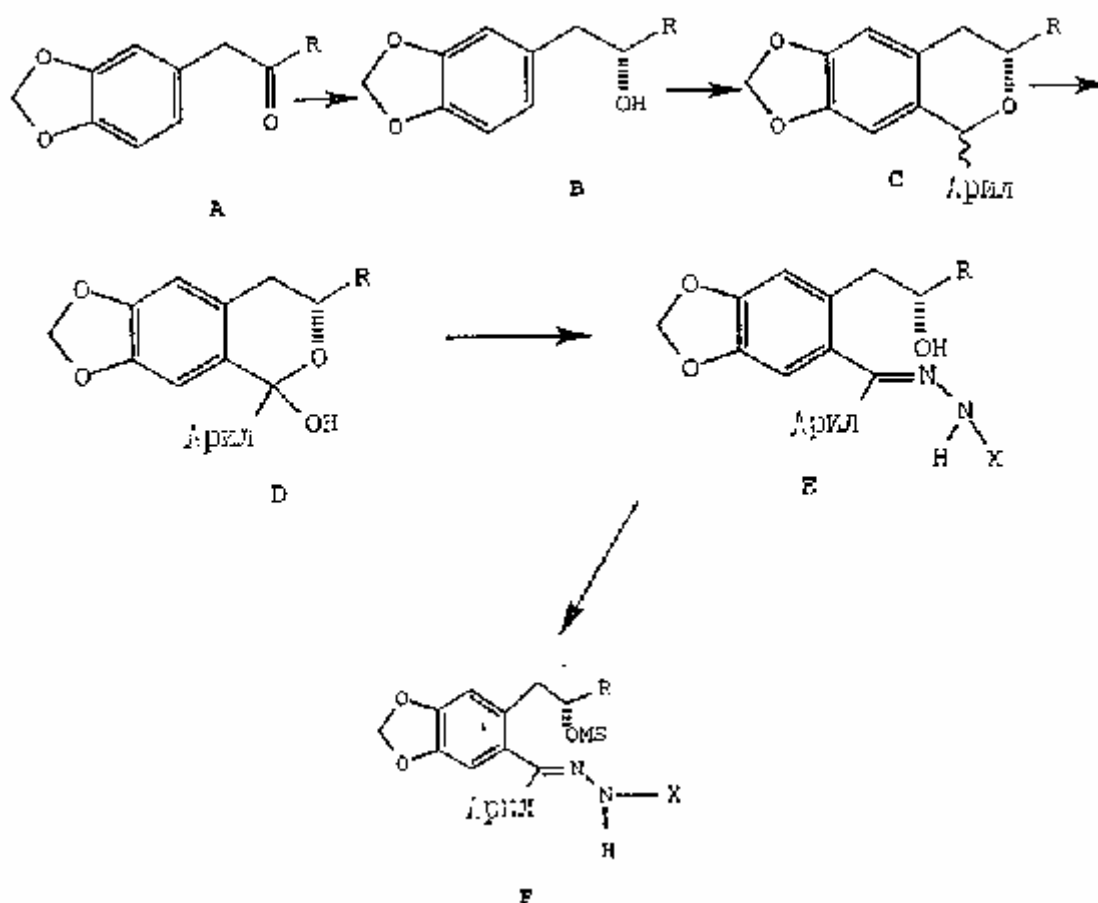
С-5-гемикеталь затем подвергается реакции с уксусным гидразидом в присутствии кислоты для того, чтобы получить гидразоновое промежуточное соединение. На данной стадии бензопирановое кольцо раскрывается, так что гидразоновый компонент присоединяется к С5 углероду. Реакция удобным образом проводится в дефлегмирующем ароматическом или протонном растворителе, при этом гидразон имеет общую формулу



в которой R представляет CH<sub>3</sub>, X - ацетил и Арил - п-нитрофенил. Процесс может быть суммирован с

помощью следующих схем.

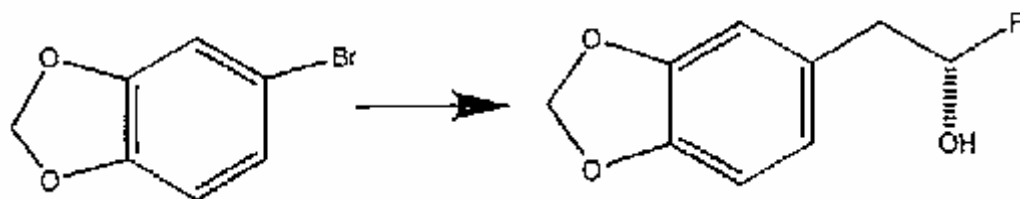
Scheme (I)



На схеме (1) начальная стадия процесса включает добавление биологических агентов, наиболее предпочтительно,

*Zygosaccharomyces rouxii*, для восстановления кетона в желаемый спирт. Для предотвращения гибели организма и для адсорбирования спирта, как только он образуется, к реакционной смеси может добавляться подходящее количество адсорбентной смолы, такой как АД-7, ХАД-7, НР2МСL (поперечно сшитые полиметакрилаты фирмы Ром энд Хаас), НР20 (полистироль-ные), или SP 207 (бромированный полистирол фирмы Мицубиси). Могут также использоваться другие аналогичные смолы.

Схема 11



По схеме 11 начальная стадия процесса включает взаимодействие арилгалогенидного производного, такого как 4-бром-1,2-(метилendioкси)бензол, с углеводородным соединением щелочного металла (предпочитается втор-бутиллитий) и энантиомерно чистым эпоксидом. Альтернативно, арилгалогенид может сначала превращаться в реагент Гриньяра по реакции с магнием, затем подвергаться реакции с энантиомерно чистым эпоксидом в присутствии окиси меди (1) в качестве катализатора. Предпочитается (S)-(-)-пропиленоксид. И по схеме 1 и по схеме 11 целью является установление стереохимии C8 атома бензодиазепинового кольца как можно раньше. По наблюдениям было замечено, что обе схемы достигают данной цели, и образуются энантиомерно обогащенные (ee) спирты с чистотой 98%.

Известно, что (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-6-метил-7Н-1,3-диоксо[4,5-*h*] [2,3]бензодиазепин является селективным антагонистом рецептора АМРА. Таким образом, согласно еще одному аспекту настоящее изобретение предоставляет использование формы 111 для производства медикамента для блокирования АМРА рецепторов у млекопитающих, которым требуется такое лечение.

Было показано, что большое разнообразие физиологических функций подвержено влиянию избыточной или несоответствующей стимуляции нейротрансмиссии возбуждающих аминокислот. Считается, что (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7Н-1,3-диоксо[4,5-*h*] [2,3]бензодисизепин

обладает способностью лечить разнообразные нейрологические нарушения у млекопитающих, ассоциированных с данным состоянием, которые включают острые нейрологические нарушения, такие как церебральная недостаточность как следствие хирургического вмешательства с использованием искусственного кровообращения и пересадки органов, удар, церебральная ишемия, травма спинного мозга, травма головы, перинатальная гипоксия, остановка сердца и гипогликемические нейрональные повреждения. Считается, что это соединение обладает способностью лечить множество хронических неврологических расстройств, таких как болезнь Альцгеймера, хорея Хантингтона, амиотрофический латеральный склероз, деменция, вызванная СПИДом, окулярные повреждения и ретинопатия, и идиопатическая или вызванная лекарствами болезнь Паркинсона. Настоящее изобретение предоставляет также использование формы 11 для производства медикаментов для лечения этих расстройств.

Считается, что данное соединение обладает способностью лечить множество других нейрологических нарушений млекопитающих, которые связаны с глутаматной дисфункцией, такие как мышечные спазмы, конвульсии, мигрени, мочевое недержание, психоз, толерантность лекарств и отторжение их, беспокойство или страх, рвота, мозговая эдема, хронические боли, и поздняя или запоздалая дискинезия. Данное соединение полезно также в качестве анальгетического агента. Следовательно, настоящее изобретение предоставляет также использование формы 111 для производства лекарств для лечения этих нарушений.

Термин "эффективное количество", используемый здесь, относится к количеству формы 111, которое способно блокировать рецептор возбудительной аминокислоты AMPA. Конкретная доза соединения, которая назначается для приема согласно данному изобретению, будет конечно определяться в зависимости от конкретных обстоятельств, включающих назначаемое соединение, способ назначения, конкретное состояние, подвергаемое лечению, и аналогичные факторы. Данная форма может назначаться с помощью множества способов, включающих оральный, ректальный, трансдермальный, подкожный, внутривенный, внутримышечный, или интраназальный способы. Альтернативно, данная форма может назначаться путем непрерывного вливания. Типичная суточная доза содержит примерно от 0.01 мг/кг до 30 мг/кг активного соединения данного изобретения. Предпочтительные суточные дозы составляют примерно от 0.05 мг/кг до 24 мг/кг, более предпочтительно, примерно от 0.1 до 20 мг/кг.

Форма 111 обычно назначается пациентам в виде фармацевтических композиций. Согласно еще одному аспекту настоящее изобретение предоставляет фармацевтическую композицию, которая включает форму 111 и фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель.

При изготовлении композиций настоящего изобретения активный ингредиент обычно смешивается с носителем, или разбавляется носителем, или вводится внутрь носителя, который может быть в форме капсулы, саше, бумажного или другого контейнера. Когда носитель служит в качестве разбавителя, он может быть твердым, полутвердым, или жидким материалом, который действует как носитель, эксципиент, или среда для активного ингредиента. Композиции могут быть в форме, например, таблеток, пилюль, порошков, эликсиров, саше, облаток, суспензий, аэрозолей, мягких и твердых желатиновых капсул и стерильно упакованных порошков.

Некоторые примеры подходящих носителей, эксципиентов и разбавителей включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, камедь (акация), фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, метилцеллюлозу, метил- и пропил-гидроксibenзоаты, тальк, стеарат магния и минеральное масло. Готовые формы препаратов могут дополнительно включать смазочные агенты, смачивающие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, консервирующие или предохраняющие агенты, подслащающие агенты или вкусовые или ароматизирующие агенты. Композиции изобретения могут формироваться таким образом, чтобы обеспечить быстрое, отсроченное или задержанное или замедленное высвобождение активного ингредиента после назначения пациенту с помощью процедур хорошо известных в данной области техники.

Композиции предпочтительно формируются в виде единичных дозированных форм, причем, каждая доза содержит примерно от 5 до 5000 мг, более предпочтительно примерно от 25 до 3000 мг активного ингредиента. Наиболее предпочтительные единичные дозированные формы содержат примерно от 100 до 2000 мг активного ингредиента. Термин "единичная дозированная форма" относится к физической дискретной единице, подходящей в виде разовой дозы для людей и других млекопитающих, причем, каждая единица содержит заданное количество активного материала, вычисленное с таким расчетом, чтобы давать желаемый терапевтический эффект, в сочетании с подходящим фармацевтическим носителем. Следующие ниже примеры иллюстрируют данное изобретение.

#### Пример 1

##### Синтез (S)-альфа-метил-1,3-бензодиоксол-5-этанола

1 эквив. 3,4-метилendioксифенилацетона, 0.45 эквив. динатрийфосфата, 0.03 эквив. фосфорной кислоты, 12.5 объемов АД-7 смолы и 5.8 объемов воды смешивались вместе и перемешивались в течение 15 - 60 минут при 20 - 25°C. Добавлялось 2.27 эквив. глюкозы, и добавляется Z.rouxii ATCC 14462 в количестве 1.5 грамма клеточной пасты на грамм кетона (то есть 0.375 грамма/грамм на сухой основе). Данная смесь разбавлялась водой до 25 объемов, а затем осторожно перемешивалась при 33 - 35°C в течение 8 - 16 часов. Смесь фильтровалась через сито из нержавеющей стали размером 100 меш (примерно 150 микрон), и смола, которая задерживалась ситом, промывалась 25 объемами воды, разделенными на 4 отдельные порции. Продукт, который адсорбировался на смоле, затем десорбировался со смолы 25 объемами ацетона. Раствор продукта в ацетоне затем отпаривался досуха под вакуумом, давая указанной в заголовке промежуточное соединение в виде желтого масла средней



вязкости. Выход на месте был 97 - 100%, в то время как выход выделенного продукта был 85 - 90%. Активность составляла 80 - 95% и ЕЕ - 100%.

#### Пример 2

Синтез (5RS, 7S)-7,8-дигидро-7-метил-5-(4-нитрофенил)-5Н-1,4-диоксоло-[4,5-G] [2]бензопирана

Указанные выше промежуточное соединение растворялось в 4.64 объемах толуола, фильтровалось через гифло и промывалось 1.55 объемами толуола. Добавлялось 1.05 эквивалента п-нитробензальдегида и 1.05 эквив. концентрированной соляной кислоты, и смесь нагревалась до 55 - 65°C и перемешивалась 1 час. Затем производилась замена растворителя при 250мм Нг, при этом толуол заменялся 12.4 объемами смеси 93% изопропанол / 7% вода. Объем во время данной замены растворителя варьирует от 11 - 14 объемов, и конечный объем был примерно 11 объемов. Смесь охлаждалась до 0 - 10°C и перемешивалась в течение 1 часа. Игольчатые кристаллы продукта отфильтровывались и промывались 2 раза 1.85 объемами изопропанола и сушились под вакуумом при 50 - 60°C. Выход целевого соединения ин ситу был 95 + %, в то время как выход выделенного продукта был 87 - 93%. Активность была 99+% и ЕЕ - 100%.

#### Пример 3

Альтернативный синтез (S)-альфа-метил-1,3-бензодиоксол-5-этанола

3.47 грамм 4 бром-1,2-(метилendioкси)бензола растворялось в 100мл тетрагидрофурана при -78°C, затем добавлялось 13.9мл 1.3М втор-бутиллития в циклогексане для потребления арилгалогенида менее, чем через 30 минут. С помощью шприца добавлялся 1.00грамм ( ) - (-)-окиси пропилен в 2мл ТГФ, и раствор перемешивался в течение 45 минут. Раствор затем подогревался до 23°C в течение 16 часов. Реакционная смесь выливалась в 3 М раствор хлористого аммония, и продукт отделялся с помощью экстракции этилацетатом. Объединенные экстракты сушились над сульфатом магния, фильтровались через флорисил и концентрировались с помощью роторного испарения. Остаточное масло очищалось с помощью хроматографии на силикагеле и элюировалось смесью 50 : 50 гексана и диэтилового эфира, давая 1.40г (45%) названного в заголовке промежуточного продукта. P chem:  $[\alpha]_{365} + 117.2^\circ$  (с 1.0, CHCl<sub>3</sub>) TCX R<sub>f</sub> = 0.26 (50 : 50 гексан : эфир), ИК (CHCl<sub>3</sub>) 3598, 3012, 2973, 28, 1490, 1249, 1041см<sup>-1</sup>, <sup>13</sup>C ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) d 147.75, 146.19, 132.26, 122.27, 109.68, 108.30, масс спектр, m / z (FD, M<sup>+</sup>) 180.

Анализ для C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>:

Вычислено: C 66.65, H 6.71.

Найдено: C 66.42, H 6.66.

#### Пример 4

Альтернативный синтез (5RS,7S)-7,8-дигидро-7-метил-5-(4-нитрофенил)-5Н-1,3-диоксоло-[4,5 - G] [2]бензопирана

244 грамма п-нитробензальдегида добавлялось к раствору 300грамм промежуточного соединения, образовавшегося на стадии биокатализируемого восстановления примера 1 в 4.45л толуола. По каплям на протяжении 15 - 20 минут добавлялось 166.5мл концентрированной соляной кислоты, и получающаяся в результате смесь нагревалась до 60°C в течение 2.5 часов. Смесь охлаждалась до комнатной температуры и концентрировалась с помощью роторного испарения. Добавлялось 3л этанола, и смесь концентрировалась до твердого вещества. Добавлялась еще одна 3 л порция этанола, и смесь перемешивалась в течение 1 часа. Суспензия охлаждалась на протяжении ночи, и кристаллический продукт отделялся с помощью фильтрования в вакууме. Осадок на фильтре промывался этанолом, а затем сушился в вакуумной печи при 40 - 60°C, давая 450г (86%) не совсем белого твердого вещества, которое по данным определения представляло изомерную смесь указанного выше в заголовке оптически активного промежуточного вещества. P chem:  $[\alpha]_{365} + 55^\circ$  (с 0.4, CHCl<sub>3</sub>).

#### Пример 5

Синтез (5RS, 7S)-7,8-дигидро-7-метил-5-(4-нитрофенил)-5Н-1,3-диоксоло[4,5 - G] [2]бензопиран-5-ола 350 грамм изомерного промежуточного соединения из примера 4 добавлялось к раствору 731мл диметилсульфоксида и 2923мл диметилформамида. Смесь охлаждалась до 8 - 12°C и через смесь пропусклся сжатый воздух. Добавлялось 117.5мл 50% водной гидроокиси натрия в виде одной порции, и получающаяся смесь перемешивалась в течение 4.5 часов. Реакционная смесь добавлялась с помощью трубочки на протяжении 30 - 60 минут к 8.25л перемешиваемого 1 норм, раствора соляной кислоты при 10 - 15°C. Получающийся в результате осадок отфильтровывался и промывался 3 литрами воды, а затем подвергался воздушной сушке до постоянного веса (384г) . Влажный осадок переносился в пример 6 без дальнейшей сушки. P chem: Данные регистрировались по 3 : 1 изомерной смеси. TCX R<sub>f</sub> = 0.19 (75 : 25 гексан: этилацетат), ИК (CHCl<sub>3</sub>) 3605, 3590, 3015, 3000, 2960, 2910, 1608, 1522, 1484, 1352, 1240, 1042см<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, 300МГц) d (главный изомер) 8.16(д, 2H, J = 6.9Гц), 7.73(д, 2H, J = 6.9Гц), 6.55(с, 1H), 6.38(с, 1H), 5.86(с, 1H), 5.83(с, 1H), 4.38(м., 1H), 2.70(м., 2H), 1.39(д., 3H, J = 6.3Гц), d (второстепенный изомер) 8.27(д., 2H, J = 8.9Гц), 7.90(д., 2H, J = 8.6Гц), 6.87(с., 1H), 6.73(с., 1H), 6.03(с., 1H), 6.02(с., 1H), 3.95(м., 1H), 2.7(смутный, м., 2H), 1.24(д., 3H, J = 6.71Гц), масс спектр, m / z (FD, M<sup>+</sup>) 329.

Анализ для C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub>:

Вычислено: C 62.01, H 4.59, N 4.25

Найдено: C 62.22, H 4.79, N 4.29

#### Пример 6

Синтез (S)-уксусная кислота-[[6-(2-гидроксипропил)-1,3-бензодиоксол-5-ил] (4-нитрофенил)метиленид]гидразида

К 350г влажного осадка на фильтре из примера 5 в 2300мл этанола добавлялось 94.5г уксусного гидразида и 1мл концентрированной соляной кислоты. Получающийся в результате раствор нагревался до температуры дефлегмации в течение 2.5 часов. Смесь охлаждалась до комнатной температуры и концентрировалась до желтой пены с помощью роторного испарения. Концентрат растворялся в 4.9л

этилацетата и промывался 1.5 литрами насыщенного бикарбоната натрия, а затем 1.5л солевого раствора. Органическая фаза сушилась над сульфатом натрия, фильтровалась и концентрировалась, давая 373г желтой пены (91%) . Данный материал идентифицировался как 1 : 1 неразделимая смесь изомеров названного в заголовке соединения (97% чистый по данным ВЭЖХ). Р chem: Данные регистрировались по 1 : 1 изомерной смеси.

Т.пл. 167,8 - 169,7°C, ТСХ  $R_f$  = 0.55(этилацетат), ИК ( $\text{CHCl}_3$ ) 3590, 3485, 3310, 1694, 1673, 1520, 1485, 1346 $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ , 300МГц)  $\delta$  8.64, 8.50(с., 1H, NH), 8.18(д., 2H, Ag - H), 7.74, 7.71(д., 2H, J = 8, Ag - H), 6.99, 6.95(с., 1H, Ag - H), 6.52, 6.50(с., 1H, Ag - H), 6.06, 6.05(д., 2H, J = 5,  $\text{O}_2\text{CH}_2$ ), 2.44(с., 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.87(м., 1H, CH), 2.4 - 2.2(м., 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.12, 1.10, (д., 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ , 75МГц)  $\delta$  209.94(G), 173.38, 173.43(C), 149.38, 149.62(C), 148.31, 148.58(C), 147.90, 148.18(C), 147.54(C), 142.5, 143.04(C), 132.64(C), 127.53, 127.61(CH), 123.75, 123.77(CH), 122.86, 123.27(C), 112.13(CH), 110.55(CH), 108.03, 108.10(CH), 108.10(CH), 101.83( $\text{CH}_2$ ), 67.51, 68.08(CH), 42.37, 42.97( $\text{CH}_2$ ), 23.48, 23.83( $\text{CH}_3$ ), 23.48, 23.83( $\text{CH}_3$ ), 20.47, 20.55( $\text{CH}_3$ ),  $/\alpha_{589} + 103.8^\circ$  (с 1,  $\text{CHCl}_3$ ), масс спектр,  $m/z$  (FD,  $\text{M}^+$ ) 385.

Анализ для  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_6$ : Вычислено: C 59.22, H 4.97, N 10.90

Найдено: C 58.99, H 5.04, N 10.68.

#### Пример 7

Синтез (S)-уксусная кислота-[[6-[2-[(метилсульфонил)оксо]пропил]-1,3-бензодиоксол-5-ил](4-нитрофенил)метилен]гидразида

340 грамм промежуточного соединения примера 6 растворялось в 2380мл метилхлорида. Раствор охлаждался до  $0 \div -10^\circ\text{C}$ , и добавлялось 187мл триэтиламина. Затем добавлялось 78.2мл метансульфонилхлорида, и получающаяся в результате смесь перемешивалась в течение 15 - 30 минут. Добавлялось 510мл воды. Отделившаяся органическая фаза перемывалась 460мл 1 норм, раствора соляной кислоты, а затем 500мл солевого раствора. Метилхлоридный раствор подогревался до  $35 - 45^\circ\text{C}$ , и на протяжении 90 минут добавлялось 4760мл гексана. Смесь медленно охлаждалась до комнатной температуры, а затем охлаждалась далее до  $0 - 5^\circ\text{C}$ . Продукт отделялся с помощью фильтрования и сушился в вакуумной печи при  $40 - 50^\circ\text{C}$ , давая 356.2 грамма (87%) изомерной смеси названного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества. Р chem: Данные, зарегистрированные по 3 : 1 изомерной смеси. Т.пл.  $150.5 - 152.5^\circ\text{C}$ , ТСХ  $R_f$  = 0.80 и 0.73 (этилацетат), ИК ( $\text{CHCl}_3$ ) 1696, 1520, 1486, 1346, 1175, 1041, 923  $\text{cm}^{-1}$ ,  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ , 300МГц)  $\delta$  8.44(с., 1H, NH), 8.20 (д., 2H, J = 8.8Гц, Ag-H), 7.73 (д., 2H, J = 8.6Гц), 6.94(д., 1H, J = 2.7Гц, Ag-H), 6.57 (д., 1H, 2.6Гц, Ag-H) 6.08(д., J = 5.4Гц), 4.77(м., 1H, CH), 2.90(с., 3H,  $\text{SCH}_3$ , главный), 2.83(с., 3H,  $\text{SCH}_3$ , второстепенный), 2.66 - 2.57(м., 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.30(д., 3H,  $\text{CH}_3$ , второстепенный), 1.26(д., 3H,  $\text{CH}_3$ , главный), масс спектр,  $m/z$  (FD,  $\text{M}^+$ ) 385.

Анализ для  $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ : Вычислено: C 51.83, H 4.57, N 9.07, S 6.92

Найдено: C 52.05, H 4.53, N 8.84, S 6.96.

#### Пример 8

Синтез (R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7H-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2, 3] бензодиазепина 325г промежуточного соединения примера 7 растворялось в 3174мл метанола. К перемешиваемому раствору добавлялось 38.1мл 50% раствора каустической соды. Получающаяся смесь перемешивалась в течение 4 часов. К смеси добавлялось 6348мл воды, и содержимое перемешивалось в течение 3 часов, после чего получающийся в результате осадок отделялся с помощью вакуумного фильтрования. Материал сушился в вакуумной печи при  $45 - 55^\circ\text{C}$ , давая 255 грамм (97%) названного в заголовке соединения, которое было на 97.6% чистым по % области ВЭЖХ. 221 грамм высушенного материала дополнительно очищался с помощью повторного суспендирования в 1105мл этанола, который нагревался до температуры дефлегмации. Получающаяся в результате смесь охлаждалась до комнатной температуры, и осадок отделялся с помощью вакуумного фильтрования. Изолят сушился в вакуумной печи при  $45 - 55^\circ\text{C}$ , давая 199 грамм (90%) названного в заголовке соединения, которое было 100% чистоты по данным анализа активности ВЭЖХ.

#### Пример 9

Синтез формы IV (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7H-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]бензодиазепина.

К 5 граммам промежуточного соединения примера 8 в 50мл этанола добавлялось 0.5 грамма 10% Pd / C, увлажненного водой. Перемешиваемая суспензия обрабатывалась раствором 4 грамм формиата калия в 4мл воды. Получающаяся смесь перемешивалась в течение 2.5 часов, а затем фильтровалась над гифло. Фильтрат концентрировался до 10 - 20мл с помощью перегонки, и медленно добавлялось 22мл воды для подогревания ( $78^\circ$ ) раствора. Получающаяся смесь нагревалась до  $90^\circ$ , а затем медленно охлаждалась до комнатной температуры. Продукт отделялся с помощью вакуумного фильтрования и промывался 10 - 20мл воды.

Отделенное твердое вещество сушилось под вакуумом при  $50^\circ\text{C}$ , давая 4.17 грамма (93%) указанного в заголовке конечного соединения, которое имело 100% чистоту по данным анализа ВЭЖХ.

$/\alpha_{365} = -303.7$  (с = 1, метанол).

Позднее было найдено, что продукт, который был кристаллическим, оказался формой IV.

#### Пример 10

Синтез (5RS, 7S)-7,8-дигидро-7-метил-5-(4-нитрофенил) -5H-1,3-диоксоло[4,5 - G] [2]бензопиран-5-ола 15 грамм промежуточного соединения примера 4 (получаемого по реакции кетонного восстановления с использованием *Z.rouxii*) растворялось в растворе 75мл диметилсульфоксида и 75мл диметилформамида. Раствор охлаждался до  $7 - 9^\circ\text{C}$ , а затем азиривался 40% кислородом в азоте. Добавлялось 7,62 грамм 50% гидроокиси натрия в воде, и получающаяся в результате смесь

перемешивалась в течение 3 - 4 часов. Реакция прерывалась, и при поддержании температуры = 12°C добавлялось 120мл толуола с последующим добавлением смеси 45мл воды и 10мл соляной кислоты. Фазы разделялись, и органический слой промывался 75 мл-ми 10% водяного раствора тиосульфата натрия. Органический слой, содержащий указанное в заголовке промежуточное соединение, переносился на следующую стадию.

#### Пример 11

Синтез (S)-уксусная кислота-[[6-(2-гидроксипропил)-1,3-бензодиоксол-5-ил](4-нитрофенил)метилен]гидразида

К толуольному раствору промежуточного соединения примера 10 добавлялось 4.26 грамма уксусного гидразида и 0.01 объема соляной кислоты. Получающаяся в результате смесь нагревалась до дефлегмации в течение 3.5 часов с удалением воды с помощью ловушки Дина-Старка. Реакционная смесь концентрировалась с помощью вакуумной перегонки до 1 объема. Концентрат разбавлялся 105мл метиленхлорида и промывался 50 - 55мл каждого из насыщенного раствора бикарбоната натрия и солевого раствора. Органический раствор сушился над сульфатом магния (0,25 вес.%) и фильтровался через осадок гифло. Фильтр прополаскивался 1 объемом метиленхлорида. Объединенная органическая фаза, содержащая указанное в заголовке промежуточное соединение, переносилась на следующую стадию.

#### Пример 12

Синтез (S)-уксусная кислота-[[6-[2-[(метилсульфонил)окси]пропил]-1,3-бензодиоксол-5-ил](4-нитрофенил)метилен]гидразида

Метиленхлоридный раствор, содержащий промежуточное соединение примера 11, охлаждался до 0 ÷ -5°C, и добавлялось 10мл триэтиламина. Медленно добавлялось 4,1мл метансульфонилхлорида для поддержания температуры реакции = 0°C. К получающемуся раствору добавлялось 1,5 объема воды. Органическая фаза отделялась и промывалась 2.5 объемами 1 норм, раствора соляной кислоты. Органическая фаза отделялась и концентрировалась до половины первоначального объема с помощью атмосферной перегонки. Продукт осаждался добавлением к раствору при 45°C по каплям гептана (2 : 1 объема гептана к органическому концентрату). Перемешиваемая смесь охлаждалась до 20 - 25°C в течение 1 часа, затем охлаждалась до 0 ÷ -5°C в течение 1 - 2 часов. Осадок отделялся с помощью вакуумного фильтрования и промывался 3 объемами 4 : 1 смеси гептан : метиленхлорида. Затем сушился в вакуумной печи при 45 - 50°C. Получалось 17.43 грамма названного в заголовке промежуточного продукта (78%) в виде оптически активной смеси изомеров гидразона, которая была на 97.7% чистой по данным анализа активности ВЭЖХ.

#### Пример 13

Синтез (R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7Н-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]бензодиазепина

17,5 грамм промежуточного соединения примера 12 суспендировалось в 175мл этилового спирта. К перемешиваемой смеси добавлялось 1.7 грамма порошкообразной гидроокиси натрия. Получающаяся смесь перемешивалась в течение 1 часа. К смеси добавлялось 88мл воды, и содержимое перемешивалось в течение 1 часа, по истечении которого получающийся в результате осадок отделялся с помощью вакуумного фильтрования и промывался 175мл воды. Вещество сушилось в вакуумной печи при 70°C, давая 12,2 грамм (86%) названного в заголовке соединения, которое имело 99,9% чистоту по данным анализа активности ВЭЖХ.

#### Пример 14

(R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7Н-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]-бензодиазепин

При использовании продукта примера 13 получалось целевое соединение с помощью экспериментальной процедуры, той же самой, что описана в примере 9.

#### Пример 15

(R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7Н-1,3-диоксоло[4,5 - h] [2,3]-бензодиазепин

1.05 грамма (S)-уксусная кислота-[[6-[2-(гидрокси)пропил]-1,3-бензодиоксол-5-ил](4-нитрофенил)метилен]гидразида и 0,78 грамма трифенилфосфина в 70мл тетрагидрофурана охлаждалось до 0°C. По каплям на протяжении 15 минут добавлялось 0.57 грамма диэтилазодикарбоксилата в 5мл тетрагидрофурана. Получающаяся смесь перемешивалась в течение 2 часов, затем подогревалась до комнатной температуры в течение 2 часов. Смесь переносилась в делительную воронку, и раствор промывался 1 норм. HCl, водой и солевым раствором. Органическая фаза сушилась над сульфатом магния, фильтровалась и концентрировалась с помощью роторного испарения. Остаток элюировался через силикагельную колонку (1 : 1 этилацетат : гексан). Фракции, содержащие требуемое соединение, концентрировались до желтого масла, которое затвердевало при стоянии. Желтое кристаллическое вещество суспендировалось в 30мл метиленхлорида и гексана (3 : 7) при 0°C. Осадок удалялся фильтрованием, и фильтрат концентрировался до желтой пены. Остаток суспендировался в 10мл этанола, который подогревался до температуры дефлегмации, затем медленно охлаждался до комнатной температуры. Осадок собирался фильтрованием и сушил в вакуумной печи при 60°C, давая 0,51 грамма (50%) названного в заголовке продукта (100% ЕЕ), который имел чистоту 98,3% по данным анализа ВЭЖХ активности.

#### Пример 16 - 18

0.5мл суспензии замороженных дрожжей, содержащей микроорганизм указанный в таблице 1, добавлялось к 50мл солодово - дрожжевой среды в 250мл колбе. После встряхивания в течение 48 часов 1,0мл культуры добавляется к дополнительным 50мл среды и встряхивается еще в течение 48 часов.

Добавляется 3,4-метилendioксифенилацетон до тех пор, пока конечная концентрация не будет 10грамм/литр, наряду с 1мл 10% глюкозы. Культуры инкубируются и встряхиваются в течение 24 часов, затем анализируются с помощью ВЭЖХ на присутствие хирального спиртового промежуточного продукта примера 1.

		Таблица 1		
Пример №	Микроорганизм	Источник	% конверсии	% ЕЕ
16	<i>Candida famata</i> (C.f.)	A.T.C.C. 26418	0.0	---
17	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> (Z.ro.)	A.T.C.C. 14462	77.8	99.5
18	<i>Mortierella isobellina</i> (M.i.)	N.R.R.L. 1557	1.7	94.3

#### Пример 19

Синтез формы 1(R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7Н-1,3-диоксоло[4,5 – h] [2,3]бензодиазепина (R)-7-ацетил-8-9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7Н-1,3-диоксоло[4,5 – h] [2,3]бензодиазепин (38,93г) гидрировался в 730мл (19 объемов) 2В-3 этанола с использованием 7,79г 10% палладия на угле и при 1 атмосфере водорода. Когда анализ ВЭЖХ показал, что исходный материал израсходовался, катализатор удалялся фильтрованием, и фильтрат выпаривался, давая 38,7г сырого продукта. Сырой продукт растворялся в 220мл (5,7 объемов) 1 : 1 смеси вода : этанол с помощью нагревания до кипения. Смесь оставлялась охлаждаться, и продукт осаждался при температуре близкой к комнатной. Получающаяся в результате густая, плохо перемешивающаяся суспензия перемешивалась при комнатной температуре, а затем охлаждалась на водно-ледяной бане. Твердое вещество отделялось с помощью фильтрования и сушилось в вакуумной печи при 55°C на протяжении ночи, давая 31,6г очищенного продукта. Еще одна перекристаллизация с использованием тех же условий давала 28,7г (80%) продукта после Сушки под вакуумом в течение 3 дней при 65°C и 3 дней при комнатной температуре. Продукт сушился очень медленно, и в этот момент в образце все еще было 1,6% этанола. Анализ с помощью дифракции рентгеновских лучей (XRD), ЯМР в твердом состоянии (SS ЯМР) и дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC) указывали на то, что образовалась полиморфная форма I.

#### Пример 20

Синтез формы II (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7Н-1,3-диоксоло[4,5 – h] [2,3]бензодиазепина

(R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7Н-1,3-диоксоло[4,5 – h] [2,3]бензодиазепин (8.63г) гидрировался в 170мл (19 объемов) 2В-3 этанола с использованием 0,86г 10% палладия на угле и 4,59г карбоната аммония в 5мл воды в качестве источника переноса водорода. Когда анализ ВЭЖХ указывал на то, что исходное вещество израсходовалось, катализатор удалялся с помощью фильтрования, и фильтрат выпаривался, давая 8,19г сырого продукта. Сырой продукт растворялся в 50мл (6,0 объемов) 1 : 1 вода : этанол при нагревании до кипения. Смесь оставлялась охлаждаться до комнатной температуры, а затем охлаждалась в ванне из смеси льда и воды. Твердое вещество отделялось фильтрованием и сушилось в вакуумной печи при 60°C на протяжении ночи, давая 7.41г (93%) очищенного продукта. Крупные кристаллы содержали 5,0% этанола (ГХ) и 4.2% воды (КГ). Анализ с помощью XRD, SS ЯМР и DSC указывал, что образовалась форма II полиморфа.

#### Пример 21

Синтез формы III (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7Н-1,3-диоксоло[4,5 – h] [2,3]бензодиазепина

(R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7Н-1,3-диоксоло[4,5 – h] [2,3]бензодиазепин (2,04г) гидрировался в 20мл (10 объемов) 2В-3 этанола с использованием 0,20г 10% палладия на угле и 1,47г формиата калия в 4мл воды в качестве источника переноса водорода. Когда анализ ВЭЖХ показывал, что исходный материал израсходовался, катализатор удалялся фильтрованием, и фильтрат выпаривался, давая 2.09г сырого продукта. Сырой продукт растворялся в 12мл (6,0 объемов) 1 : 1 смеси вода : этанол при нагревании до кипения. Смесь оставлялась охлаждаться и затравливалась кристаллами формы II примерно при 40°C . После достижения комнатной температуры смесь охлаждалась в ванне из смеси льда и воды. Твердое вещество отделялось фильтрованием и сушилось в вакуумной печи при 50°C в течение 24 часов, давая 1,45г (77%) очищенного продукта. Анализ показал 0,05% этанола (ГХ) и 0.75% воды (KF). Несмотря на использование затравки кристаллами формы II полиморфа, анализ XRD, SS ЯМР и DSC показал, что образовалась форма III полиморфа.

#### Пример 22

Синтез формы IV (R)-7-ацетил-5-(4-аминофенил)-8,9-дигидро-8-метил-7Н-1,3-диоксоло[4,5 – h] [2,3]бензодиазепина (R)-7-ацетил-8,9-дигидро-8-метил-5-(4-нитрофенил)-7Н-1,3-диоксоло[4,5 – h] [2,3]бензодиазепин (25.2) гидрировался в 250мл (10 объемов) 2В-3 этанола с использованием 2.0г 10% палладия на угле и 18.9г формиата калия в 20мл воды в качестве источника переноса водорода. Когда анализ ВЭЖХ показывал, что исходный материал израсходовался, катализатор удалялся фильтрованием. Фильтрат концентрировался с помощью перегонки до тех пор, пока не оставалось примерно 70мл (3 объема) этанола. К раствору при дефлегмации добавлялась вода, (93мл, 4 объема). Смесь оставлялась охлаждаться и затравливалась кристаллическим продуктом примера 9 при 80°C. Получающаяся в результате суспензия оставлялась охлаждаться до комнатной температуры, и перемешиваться на протяжении ночи. Твердое вещество отделялось фильтрованием и сушилось в вакуумной печи при 50°C в

течение 24 часов, давая 19,8г (85%) очищенного продукта. Анализ показал необнаруживаемый уровень этанола (ГХ) и 1.0% воды (KF).

Анализ XRD, SS ЯМР и DSC указывал на то, что образовалась форма IV полиморфа.

#### Пример 23

Альтернативный синтез (S)-альфа-метил-1,3-бензодиоксол-5-этанола

К суспензии магниевых стружек (17г) в 50мл тетрагидрофурана добавлялся по каплям раствор 5-бром-1,3-бензодиоксола (93,6г). После завершения добавления смесь разбавлялась 250мл тетрагидрофурана и получающаяся смесь перемешивалась на протяжении ночи. 13мл раствора (0,78М) переносилось в круглодонную колбу, содержащую иодид меди (I) (0,12г). Получающаяся смесь охлаждалась до -50°C, и медленно добавлялся раствор (S)-(-)-пропиленоксида в 3мл тетрагидрофурана, а затем перемешивался в течение 10 минут.

Смесь разбавлялась эфиром. Отделенная органическая фаза промывалась водой и солевым раствором. Водные промывки воды экстрагировались эфиром (2 x), а объединенные органические растворы сушились над сульфатом магния, фильтровались и концентрировались. Остаток очищался с помощью хроматографии на силикагеле (50% эфир в пентане), давая 1.66г желаемого продукта (91%). Анализ хиральной ВЭЖХ показал, что оптическая чистота вещества было 98.3%.

#### Пример 24

Фармацевтическая готовая препаративная форма

Активный ингредиент	1мг	10мг	50мг	100мг
Крахмал	444.5мг	435.8мг	396.2мг	346.6мг
Силиконовая жидкость	4.49мг	4.22мг	3.84мг	3.36мг

Ингредиенты смешивались и заполнялись в твердые желатиновые капсулы размером 0 до веса содержимого 450мг.