

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0712936-0 A2**

(22) Data de Depósito: 08/06/2007
(43) Data da Publicação: 18/12/2012
(RPI 2189)



(51) *Int.Cl.:*
C07C 231/10
C07C 233/13
A61K 31/165

(54) Título: PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE 2-[4-(3- E 2-FLUORBENZOLOXI)BENZILAMINO]-PROPANAMIDAS, BASE DE SCHIFF ISOLADA, SAFINAMIDA OU RALFINAMIDA, USO E FORMULAÇÕES CONTENDO AS MESMAS

(30) Prioridade Unionista: 19/06/2006 EP 06 012565.5

(73) Titular(es): Newron Pharmaceuticals S.P.A.

(72) Inventor(es): Carla Caccia, Elena Barbanti, Francesco Velardi, Luigi Bogogna, Patricia Salvati, Tiziano Ruffilli

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007005105 de 08/06/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/147491 de 27/12/2007

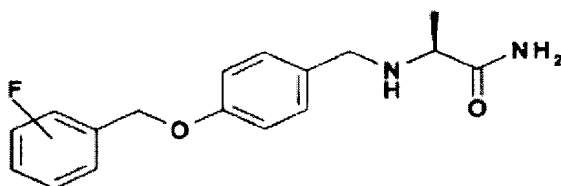
(57) Resumo: PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE 2-[4-(3- E 2-FLUORBENZOLOXI)BENZILAMINO]PROPANAMIDAS, BASE DE SCHIFF ISOLADA, SAFINAMIDA OU RALFINAMIDA, USO E FORMULAÇÕES CONTENDO AS MESMAS. Um processo para obter 2-[4-(3- e 2-(fluorbenziloXI)benzila- mino]propanamidas e seus sais com ácidos farmacologicamente aceitáveis com alto grau de pureza, em particular, com um teor de impurezas de derivados de dibenzila inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% do peso. O processo é executado submetendo os intermediários de bases de Schiff 2-[4-(3- e 2-(fluorbenziloXI)benzilamino]propanamidas à hidrogenação catalítica na presença de um catalisador heterogêneo em um solvente orgânico prótico.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE 2-[4-(3- E 2-FLUORBENZOLOXI)BENZILAMINO]-PROPANAMIDAS**".

Antecedentes da Invenção

5 A presente invenção refere-se a um novo processo para a produção de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)-benzilamino]propanamida, isto é, safinamida (Ia) e (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)-benzilamino]propanamida, isto é, ralfinamida (Ib) e seus sais, em altas produções e pureza enantiomérica e química muito alta.

10 Este método é também muito útil para sua produção em grandes quantidades.



Safinamida (Ia): 3-F

Ralfinamida (Ib): 2-F

A safinamida (NW-1015, FCE-26743A, PNU-151774E) é um bloqueador de canal de sódio, um modulador de canal de sódio, um inibidor de monoamino oxidase tipo B (MAO-B), um inibidor de liberação de glutamato e um modulador de metabolismo da dopamina.

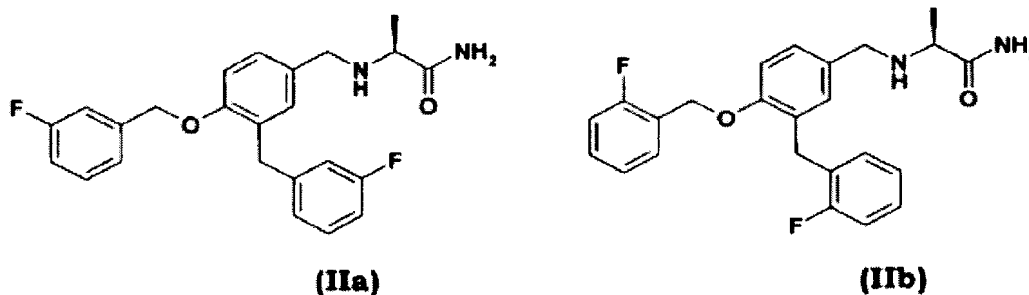
A safinamida é útil no tratamento de desordens CNS, em particular de epilepsia, mal de Parkinson, mal de Alzheimer, depressão, síndrome das pernas inquietas e enxaqueca (WO 90/14334, WO 04/089353, WO 05/102300, WO 04/062655).

20 A ralfinamida (NW-1029, FCE-26742A, PNU-0154339E) é um bloqueador de canal de sódio útil no tratamento de condições de dor, incluindo dor crônica e dor neuropática, enxaqueca, desordens bipolares, depressões, desordens cardiovasculares, inflamatórias, urogenitais, metabólicas e gastrointestinais (WO 99/35125, WO 03/020273, WO 04/062655, WO 25 05/018627, WO 05/070405, WO 05/102300, WO 06/02705).

Verificou-se agora que as preparações em grande escala de sa-

finamida e ralfinamida de acordo com os métodos descritos na técnica anterior contêm duas impurezas indesejadas, isto é, respectivamente, (S)-2-[3-(3-flúorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)-benzilamino]propanamida (IIa) e (S)-2-[3-(2-flúorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)-benzilamino]propanamida (IIb), e seus

5 sais, em particular os respectivos metanossulfonatos (IIc) e (IId).



Esse fato é de particular relevância por causa da toxicidade muito alta das duas impurezas determinadas acima.

Muitos dos candidatos a fármaco caem em tentativas clínicas por causa de efeitos unforeseen de metabolismo humano, ou toxicidade, devido a impurezas indesejadas e, portanto, a eliminação de tais impurezas

10 na fase pré-clínica anterior é importante e fortemente desejável.

No nível pré-clínico, a "drogabilidade" de novos componentes pode ser avaliada usando uma bateria muito bem estabelecida de ensaios in vitro, tal como interação com enzimas de metabolização de fármacos, citotoxicidade, estabilidade metabólica e profiling, permeabilidade de membrana, folga intrínseca e blockade de canal de gene relacionado a ether-a-go-go

15 (HERG) humano, etc.

O sistema Citocromo P450 (CYP 450) é o sistema de enzima principal para o metabolismo de xenobióticos lipofílicos, incluindo drogas, carcinogenes, e poluentes ambientais. O CYP 450 é um sistema de múltiplas

20 enzimas ligado à membrana contendo heme que está presente em muitos tecidos, mas está presente no nível mais alto no fígado. No fígado humano, estima-se que haja de 15 a 20 diferentes formas de CYP 450 metabolização xenobiótica. Até agora, mais do que quatorze famílias de gene CYP foram

25 identificadas em mamíferos. Apesar da alta homologia existente, estudos extensivos relevaram que cada família e sub-família CYP têm funções distin-

tas no metabolismo xenobiótico. Três famílias CYP CYP1, CYP2 e CYP3 totalizam aproximadamente 70% de microsossomos hepáticos humanos CYPs com CYP3 totalizando aproximadamente 30%. Esses CYPs são os maiores responsáveis pelo metabolismo dos fármacos mais comercializados.

5 A família CYP1 contém vários membros que incluem CYPA1, CYPA2, e CYPB1 e eles estão envolvidos no metabolismo de acetaminofeno, clomipramina e imipramina.

 A família CYP2 contém várias sub-famílias incluindo CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D e CYP2E. A sub-família CYP2C contém pelo me-
10 nos sete membros. O CYP2C9 é responsável pelo metabolismo de ibuprofeno, diclofenaco, tolbutamida e torsemida. O CYP2C19 é a maior isoenzima metabolizando diazepam e omeprazol. O CYP2D6 foi mostrado como sendo responsável por metabolizar mais de 30% dos fármacos no mercado, incluindo, antidepressivos e fármacos cardiovasculares e anti-psicóticos.

15 Na família CYP3, três isoformas foram identificadas no fígado humano. O CYP3A4 humano foi reconhecido como sendo a isoforma mais importante no metabolismo de fármacos. Até agora, o metabolismo catalisado por CYP3A4 é a via de eliminação principal para quase 50% dos fármacos comercializados.

20 Por causa da sua importância no metabolismo de fármacos, ambos o CYP3A4 e o CYP2D6 são freqüentemente envolvidos em interações fármaco-fármaco e vários compostos clinicamente usados foram identificados como inibidores potentes dessas isoformas CYP 450 tal como cetona-
25 zol, terfenadina, eritromicina, miconazol, propanolol e quinidina, respectivamente. Isso impõe uma limitação clara no uso desses fármacos.

 Um problema adicional, que consiste em morte súbita como um efeito colateral da ação de fármacos não antiarrítmicos, é uma principal preocupação com segurança farmacológica voltada para a indústria farmacêutica e as autoridades regulatórias de saúde. Nos anos recentes, pelo menos
30 cinco fármacos de sucesso de vendas "blockbusters" (astemizol, sertindol, terfenadina, cisaprida, grepafloxacina) foram retirados do mercado devido a relatórios de morte súbita. Em todos os casos, Síndrome do Intervalo QT

Longo (LQTS), uma anormalidade de re-polarização de músculo cardíaco, que é caracterizado pelo prolongamento do intervalo QT no eletrocardiograma, foi implicada como um fator de pré-disposição para "torsades de pointes", uma taquicardia ventricular polimórfica que pode espontaneamente de-
5 gerar para fibrilação ventricular e causa morte súbita. A LQTS congênita pode ser ligada de volta a várias mutações possíveis resultando em defeitos em canais de sódio, e dois diferentes canais de sódio: o retificador retardado rapidamente ativado (I_{Kr}) e o retificador retardado lentamente ativado (I_{Ks}). De forma importante, virtualmente cada caso de uma duração prolongada de
10 potencial de ação cardíaca relacionada à exposição ao fármaco (LQTS adquirida) pode ser ligado a um mecanismo específico: bloqueio de corrente I_{Kr} no coração. Essa corrente, um principal contribuidor para re-polarização de fase 3 no fim do intervalo QT, é conduzida por poros tetraméricos, com as sub-unidades individuais codificadas por HERG. Com o bloqueio de canais
15 HERG K^+ amplamente considerados como a causa predominante de prolongamento de QT induzido por fármaco, detecção anterior de compostos com esse efeito colateral indesejável de tornou um objetivo importante na indústria farmacêutica.

Os compostos com forte inibição de enzimas de metabolização
20 de fármacos, em particular, enzimas CYP 450, e propriedades de bloqueio de canal de HERG têm uma alta probabilidade de serem tóxicos e que seu desenvolvimento foi parado em um estágio anterior.

Como mostrado na Tabela 1, as impurezas (IIa e IIb), como o sal metanossulfonato (IIc e IId), fortemente inibem na faixa micro-molar e sumi-
25 cro-molar correntes de CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 e HERG e são altamente citotóxicos, comparados com metanossulfonato de safinamida (Ic) e metanossulfonato de ralfinamida (Id) com altos graus de pureza, sintetizados usando o processo da invenção.

Tabela 1

Composto	HERG IC ₅₀ , μM	Citotoxicidade IC ₅₀ , μM	CYP3A4 IC ₅₀ , μM	CYP2D6 IC ₅₀ , μM	CYP2C19 IC ₅₀ , μM	CYP2C9 IC ₅₀ , μM	CYP1A2 IC ₅₀ , μM
Impureza IIc	1,20	6,70	0,05	0,77	0,42	7,29	> 40
Metanossulfonato de safinamida	27,0	248,0	> 40	> 40	23,85	> 40	> 40
Impureza IIId	2,66	15,00	0,05	0,92	1,89	8,01	> 40
Metanossulfonato de ralfinamida	18,0	> 300	> 40	> 40	> 40	> 40	> 40

A Tabela 2 mostra resultados comparativos (IC_{50}) sobre a inibição do citocromo CYP3A4 usando metanossulfonato de safinamida e ralfinamida altamente puros, sintetizados usando o novo processo desta invenção, com safinamida e ralfinamida obtidos com o mesmo processo na presença de 0,3% da impureza IIc e IId, respectivamente.

Quando 0,3% das impurezas IIc e IId é adicionado ao usando metanossulfonato de safinamida e ralfinamida altamente puros, uma diminuição significativa em IC_{50} em CYP3A4 é observada em ambos os casos significando que as impurezas contribuem para uma forte inibição da atividade da enzima.

Tabela 2

Composto	CYP3A4 IC_{50} , μM
Metanossulfonato de safinamida	> 40
Metanossulfonato de safinamida mais 0,3% de impureza IIc	18
Metanossulfonato de ralfinamida	> 40
Metanossulfonato de ralfinamida mais 0,3% de impureza IId	7,76

Como mostrado na Tabela 3, a impureza (IIc) aumenta, começando de 3 mg/kg ip, a mortalidade no teste Eletrochoque Máximo em ratos (MES) sem qualquer atividade farmacológica, isto é, proteção contra convulsões.

Tabela 3

Composto	MES					
	3 mg/kg ip		10 mg/kg ip		30 mg/kg ip	
	% proteção	Morto/vivo	% proteção	Morto/vivo	% proteção	Morto/vivo
Metanossulfonato de safinamida	50	0/10	100	0/10	100	0/10
Impureza IIc	0	5/10	0	4/10	0	4/10

A Tabela 4 relata que a impureza IId, quando dado p.o. em 10 e 20 mg/kg, no teste de Eletrochoque Máximo (MES) não protege os ratos de convulsões se comparado com as mesmas doses de metanossulfonato de ralfinamida.

5 Tabela 4

Composto	MES			
	10 mg/kg ip		20 mg/kg ip	
	% proteção	Morto/vivo	% proteção	Morto/vivo
Metanossulfonato de ralfinamida	60	0/10	90	0/10
Impureza IId	0	0/10	0	0/10

Com base nesses dados, as impurezas IIc e IId, presentes em safinamida e ralfinamida, respectivamente, sintetizados com o processo descrito em WO 90/14334 e por Pevarello e outros em J. Med. Chem, 1998, 41, 579 – 590 mostram in vitro algumas características indesejáveis, tais como toxicidade celular, forte inibição de alguma isoforma de CYP 450, bloqueio de canal de HERG e nenhuma atividade protetora em um modelo "in vivo" de epilepsia.

Um dos aspectos importantes de CYP é a variação entre diferentes grupos de população. As variações no metabolismo de fármacos são de grande importância em estudos clínicos. Variação considerável na atividade enzimática de CYP3A4 e CYP2D6 foi demonstrada entre diferentes grupos étnicos e até entre diferentes indivíduos no mesmo grupo étnico. A diferença na atividade de CYP entre os indivíduos varia significativamente, dependendo das isoenzimas diferentes. Mudanças no nível de expressão de CYP de diferentes indivíduos podem causar variações no metabolismo de fármacos. De forma mais importante, o polimorfismo pode também resultar em variações de enzima CYP com menor ou maior atividade enzimática que leva a variações no metabolismo de fármaco. O polimorfismo de CYP2D6 é um tópico bem estudado no metabolismo de fármaco. Em estudos clínicos, variações pronunciadas entre indivíduos foram primeiro encontradas no metabolismo de fármacos anti-hipertensivos e anti-epiléticos. A eliminação de fármacos metabolizados com CYP2D6 é mais lenta naqueles indivíduos que

carregam alelos de CYP2D6 defeituosos. Os indivíduos com metabolismo lento são classificados como metabolizadores pobres (MP), enquanto indivíduos cataliticamente competentes são chamados metabolizadores extensivos (ME): a incidência do fenótipo de MP na população de diferentes origens raciais varia: aproximadamente de 5 a 10% de caucasianos são de fenótipo de MP, mas somente 1% na população asiática. CYP2C19 é outra isoforma polimórfica importante que tem implicações clínicas.

Levando em conta essas observações, um composto que não interfere com as isoformas CYP450 (nem inibição nem indução) tem um risco muito baixo para interações fármaco-fármaco na prática clínica e pode ser simplesmente e seguramente prescrito por médicos.

Em particular, os fármacos que não interferem com os citocromos do sistema CYP450 são particularmente indicados para o tratamento terapêutico de indivíduos que são classificados como metabolizadores pobres (MP) ou para o tratamento terapêutico de pacientes que estão concomitantemente assumindo outros fármacos que são conhecidos por interagirem com os ditos citocromos, tal como cetoconazol, terfenadina, eritromicina, miconazol, propranolol e quinidina, e/ou são conhecidos como tendo propriedades de bloqueio de canal de HERG.

De acordo com a prática clínica comum, metanossulfonato de safinamida e de ralfinamida (Ic e Id) são usualmente administrados ao paciente em necessidade desses por um longo período de tempo, sub-divididos em várias doses diárias. Esse é particularmente o caso de aplicações terapêuticas onde a doença a ser tratada é: mal de Parkinson, mal de Alzheimer, e síndrome das pernas inquietas (para o uso de Safinamida) ou dor crônica e dor neuropática, desordens cardiovasculares ou inflamatórias (para uso de Ralfinamida). Embora a dosagem diária possa variar de acordo com as condições específicas e necessidades dos pacientes, a dosagem diária de metanossulfonato de safinamida pode usualmente estar na faixa de 10 mg/dia a 800 mg/dia, enquanto a dosagem diária de metanossulfonatos de ralfinamida pode usualmente estar na faixa de 10 mg/dia a 1 g/dia. Sob essas condições, e em consideração aos dados relatados acima, é altamente prudente

manter o nível das impurezas (IIa) e (IIb) ou os sais dessas, em particular, os sais de metanossulfonato (IIc) e (IId) nas formas de dosagem farmacêutica de safinamida e ralfinamida ou os sais desses o mais baixo possível, em qualquer caso abaixo de 0,03%, preferencialmente abaixo de 0,01% do peso com relação à quantidade de, respectivamente, safinamida e ralfinamida ou os sais desses, em particular, os sais de metanossulfonato.

Investigações e estudos experimentais executados pelos inventores mostraram que a safinamida e a ralfinamida e os respectivos sais com ácidos farmaceuticamente aceitáveis preparados de acordo com os métodos da técnica anterior contêm uma quantidade das respectivas impurezas (IIa) e (IIb) ou os respectivos sais com ácidos farmaceuticamente aceitáveis, tal como (IIc) e (IId), que são maiores do que 0,03% do peso. Portanto, os ditos produtos acima são inadequados para aplicações terapêuticas seguras. Em particular, as preparações farmacêuticas contendo safinamida ou ralfinamida ou o sal desses com ácidos farmaceuticamente aceitáveis, onde o teor de impurezas (IIa), (IIb), e os respectivos sais com ácidos farmaceuticamente aceitáveis não é menor do que 0,03%, preferencialmente do que 0,01% do peso com relação às ditas substâncias ativas, não são adequados como medicamentos.

Nesta especificação e reivindicação, os valores dos limites indicados acima, a menos que de outra forma especificado, pretendem expresar a relação de porcentagem por peso das "substâncias ativas", isto é, o teor eficaz da impureza biologicamente ativa (IIa, IIb) com relação ao teor eficaz da substância terapeuticamente ativa (Ia, Ib).

O processo descrito nesta invenção fortemente reduzindo as impurezas leva a produtos com alta pureza química e perfil biológico mais seguro. Outras impurezas, dificilmente detectáveis, derivam das quantidades muito pequenas de cloreto de 2- e 4-flúorbenzila e de cloreto de 3- e 4-flúorbenzila que estão contidos no cloreto de 3-fluorbenzila e cloreto de 2-fluorbenzila comercialmente disponíveis, respectivamente, usados para a síntese de intermediários 4-(3-fluorbeziloxi)benzaldeído (IVa) e 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) para a preparação de, respectivamente,

compostos (Ia) e (Ib).

De acordo com o processo descrito na presente invenção, a safinamida e a ralfinamida são obtidas com altas produções e alta pureza onde o teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)-benzilamino]-propanamida (IIa) e (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)-benzilamino]-propanamida (IIb), e seus sais, em particular com ácido metanossulfônico (genericamente chamado "derivados de dibenzila") em safinamida e ralfinamida ou o sal dessas, em particular, com ácido metanossulfônico, é menor ou igual a 0,03%, preferencialmente 0,01% (do peso).

O objetivo do processo da presente invenção começa a partir de 4-hidroxi-benzaldeído e compreende as três seguintes etapas:

a) O-benzilação de 4-hidroxibenzaldeído com derivados da seguinte fórmula geral 3- ou 2-F-C₆H₄-CH₂-Y, onde Y é um grupo de saída (Cl, Br, I, OSO₂CH₃, etc.); essa O-benzilação é executada sob condições que são altamente seletivas para O-benzilação e fornece 4-(3-flúorbenziloxy)benzaldeído e 4-(2-flúorbenziloxy)benzaldeído de alta pureza;

b) alquilação redutiva de L-alaninamida, base ou sal, com 4-(3-flúorbenziloxy)benzaldeído e 4-(2-flúorbenziloxy)benzaldeído onde o sistema de redução é gás hidrogênio e um catalisador heterogêneo, para obter, depois de cristalização, safinamida e ralfinamida, respectivamente, em muito alta pureza enantiomérica e química.

c) preparação de sais de safinamida e ralfinamida com um ácido farmaceuticamente aceitável por salificação de safinamida e ralfinamida, respectivamente, obtidos na etapa anterior. Os ácidos farmaceuticamente aceitáveis são, por exemplo, selecionados a partir de ácido nítrico, hidrocloreto, hidrobromico, sulfúrico, perclórico, fosfórico, metanossulfônico, p-toluenossulfônico, acético, trifluoracético, propriônico, glicólico, láctico, oxálico, malônico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzóico, cinâmico, mandélico e salicílico.

Um objetivo adicional desta invenção é fornecer safinamida e ralfinamida ou seus sais com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, com um alto grau de pureza, em parti-

cular com um teor dos respectivos derivados de dibenzila da fórmula (IIa) ou (IIb) ou os sais desses com um ácido farmaceuticamente aceitável, por exemplo, o ácido metanossulfônico, menor do que 0,03%, preferencialmente menor do que 0,01% do peso (referido às "substâncias ativas"), que é adequado para seu uso como medicamentos.

Além disso, outro objetivo desta invenção é fornecer formulações farmacêuticas compreendendo safinamida ou ralfinamida ou um sal dessas com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, como os agentes ativos onde o teor dos respectivos derivados de dibenzila (IIa) e (IIb) ou o sal desses com um ácido farmaceuticamente aceitável, por exemplo, ácido metanossulfônico, é menor do que 0,03%, preferencialmente, menor do que 0,01% (do peso) com relação aos ditos agentes ativos acima. Essas novas formulações farmacêuticas não foram nem sugeridas nem alcançáveis aplicando-se o conhecimento fármacotoxicológico considerando safinamida e ralfinamida nem usando esses agentes ativos preparados de acordo com os métodos disponíveis de última geração.

Portanto, as ditas formulações farmacêuticas compreendendo safinamida ou ralfinamida ou os sais dessas com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, tendo o dito alto grau de pureza acima constituem um objetivo adicional desta invenção.

As ditas formulações farmacêuticas acima podem opcionalmente compreender um ou mais agentes ativos adicionais, além de safinamida ou ralfinamida ou os sais dessas com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, tendo o alto grau de pureza descrito acima. Por exemplo, uma nova formulação farmacêutica útil para o tratamento adjuntivo de mal de Parkinson ou síndrome das pernas inquietas pode compreender um ou mais agentes ativos adjuntivos do mal de Parkinson tal como aqueles descritos em WO 04/089353 e WO 05/102300, preferencialmente um agonista de dopamina e/ou levodopa e/ou um inibidor de catecol-O-metiltransferase (COMT), em adição à safinamida ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido me-

tanossulfônico, tendo o dito alto grau de pureza acima.

5 Como um exemplo adicional, uma nova formulação farmacêutica de acordo com esta invenção útil para o tratamento de condições de dor, incluindo dor crônica e dor neuropática, e enxaqueca pode conter um agente ativo adicional tal como gabapentina e pregabalina ou um sal farmaceuticamente aceitável desse como descrito em EP 1423168, em adição à ralfinamida ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico tendo o dito alto grau de pureza acima.

10 As composições farmacêuticas contendo safinamida ou ralfinamida com alto grau de pureza de acordo com esta invenção podem ser preparadas por procedimentos convencionais conhecidos na técnica, por exemplo, misturando os compostos ativos com materiais carreadores orgânicos e/ou inorgânicos farmaceuticamente e terapeuticamente inertes. As composições da invenção podem estar na forma líquida, por exemplo, na forma de
15 uma solução, suspensão, emulsão; ou na forma sólida, por exemplo, tabletes, pastilhas, cápsulas, emplastros.

Os materiais carreadores orgânicos e/ou inorgânicos farmaceuticamente e terapeuticamente inertes adequados úteis na preparação da composição da presente invenção incluem, por exemplo, água, gelatina,
20 goma arábica, lactose, amido, celulose, estearato de magnésio, talco, óleos vegetais, polialquilenoglicóis, ciclodextrinas e seus similares. As composições farmacêuticas da invenção podem ser esterilizadas e podem conter, além do ingrediente(s) ativo(s), componentes adicionais bem conhecidos aos versados na técnica, tal como, por exemplo, conservantes, estabilizantes,
25 agentes umectantes ou emulsificantes, por exemplo, óleo de parafina, manidite monooleate, sais para ajustar pressão osmótica, tampões e seus similares

Um objetivo adicional desta invenção é fornecer um método para tratar desordens CNS, em particular, epilepsia, mal de Parkinson, mal de
30 Alzheimer, e síndrome das pernas inquietas, compreendendo administrar a um paciente em necessidade desse uma quantidade eficaz de safinamida de alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente acei-

tável, preferencialmente ácido metanossulfônico, tendo um teor de derivado de dibenzila (IIa) ou um sal desse, com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, abaixo de 0,03%, preferencialmente abaixo de 0,01% do peso (referido às "substâncias ativas"). O dito método inclui tratar o mal de Parkinson ou a síndrome das pernas inquietas administrando a um paciente em necessidade desse uma quantidade eficaz da safinamida com alto grau de pureza descrita acima, opcionalmente em conjunto com um ou mais agente(s) ativos de mal de Parkinson, um agonista de dopamina e/ou levodopa e/ou um inibidor de catecol-O-metiltransferase (COMT).

Além disso, um objetivo adicional desta invenção é fornecer um método para tratar condições de dor incluindo dor crônica e dor neuropática, enxaqueca, desordens bipolares, depressões, desordens cardiovasculares, inflamatórias, urogenitais, metabólicas e gastrointestinais compreendendo administrar a um paciente em necessidade desse uma quantidade eficaz de ralfinamida de alto grau de pureza ou um sal desse com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, tendo um teor de derivado de dibenzila (IIb) ou um sal desse com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, abaixo de 0,03%, preferencialmente abaixo de 0,01% do peso (referido às "substâncias ativas").

O dito método acima inclui o tratamento de condições de dor, incluindo dor crônica e dor neuropática, e enxaqueca com ralfinamida de alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, opcionalmente em conjunto com gabapentina ou pregabalina.

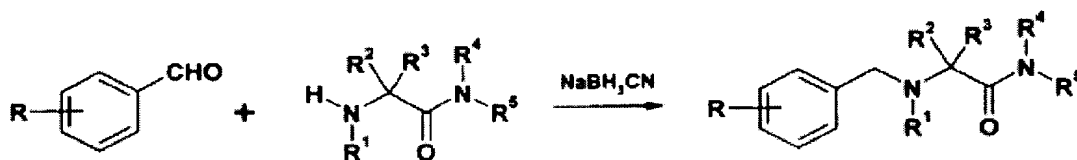
Técnica Anterior

Em WO 90/14334, e na publicação de Pevarelo e outros, em J. Med. Chem., 1998, 41, 579 – 590, um processo de três etapas para a preparação de benziloxi-benzilamino-alcanamidas é descrito:

a) Síntese do intermediário 4-benziloxibenzaldeídos por O-benzilação dos correspondentes 4-hidroxibenzaldeídos com os cloretos de

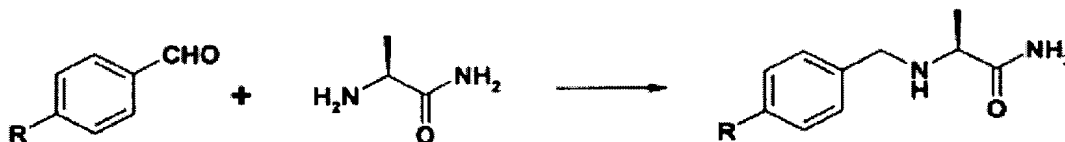
benzila adequados,

b) alquilação redutiva de α -amino-amidas com 4-benziloxibenzaldeídos usando cianoboroidreto de sódio como um agente de redução como esquematicamente mostrado aqui abaixo.



- 5 onde R representa, entre outros substituintes, 3-F e 2-F; R¹ representa, entre outros substituintes, hidrogênio; R² representa, entre outros substituintes, hidrogênio; R³ representa, entre outros substituintes, CH₃; ambos R⁴ e R⁵ representam, entre outros substituintes, hidrogênio.

- 10 Em particular, contanto que a preparação de safinamida e ralfinamida é considerada, a alquilação redutiva é a alquilação redutiva de L-alaninamida com 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído e 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído, respectivamente como mostrado aqui abaixo.



R = 3-F-benzilóxi = safinamida (Ia)

R = 2-F-benzilóxi = ralfinamida (Ib)

- 15 Em J. Med. Chem (Pevarello e outros), 1998, 41, 579 – 590, resultados de 45% e 60% para a preparação de metanossulfonato de safinamida e ralfinamida, respectivamente, são relatados começando a partir dos correspondentes (fluorbenziloxi)benzaldeídos.

- 20 O processo descrito em WO 90/14334 e a publicação citada acima são os mesmos e fornecem um sistema em etapa única "one-pot" onde a iminoalquilação e a redução são feitas no mesmo reator. O aldeído adequado é adicionado todo de uma vez a uma mistura de hidrocloreto de L-alaninamida, cianoboroidreto de sódio, metanol e peneiras moleculares em pó.

- 25 De acordo com Pevarello e outros, em Org. Prep. Proc. Int.

1996, 28, 179 – 183 (onde a síntese de alguns derivados de α -benzilaminoamida por alquilação redutiva é descrita), o uso de um α -aminoamida como hidrocloreto é importante para a formação do íon imínio no lugar da imina correspondente, à medida que o íon imínio reage mais facilmente com cianoboroidreto de sódio do que com o grupo aldeído carboni-

la.
De acordo com os autores acima, o procedimento em etapa única parece evitar problemas de racemização de base de Schiff e as peneiras moleculares aceleram a reação (embora os resultados sejam pobres).

O cianoboroidreto é o único agente de redução utilizado, e parece que essa escolha é devido a sua baixa reatividade e sua seletividade (ver Review "Sodium Cyanoborohydride – A Highly Selective Reducing Agent for Organic Functional Groups" – C.F. Lane, Síntese 1975, 132 – 146), que o torna capaz de distinguir entre a base de Schiff protonada e o aldeído de partida.

A síntese descrita na publicação por Pevarello e outros fornece o isolamento dos produtos por cromatografia em coluna, seguida por conversão nos sais correspondentes por tratamento com ácidos. Nenhuma informação é fornecida sobre a pureza enantiomérica e/ou química de ambas safinamida e ralfinamida e/ou seus sais.

O método descrito na técnica anterior sofre de muitas desvantagens, que limitam seu uso em grande escala; abaixo alguns exemplos das ditas desvantagens são listados:

- formação de cianetos;
- formação de derivados de boro, difícil de remover dos princípios ativos;
- uso de peneiras moleculares em pó que são fisicamente alteráveis e caras;
- baixos resultados;
- baixa concentração de produto final na mistura reacional de alquilação redutiva (aproximadamente 2 – 3% do peso/volume);
- isolamento dos produtos por cromatografia em coluna, que é

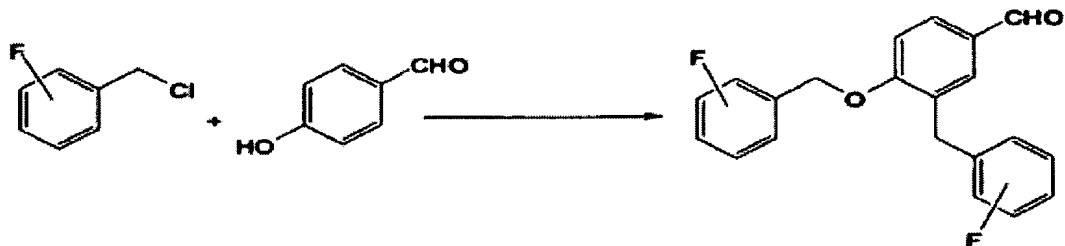
considerado um método de purificação dispendioso e preocupante quando preparações em grande escala de agentes ativos através de síntese química são envolvidas.

Além disso, como mostrado nos exemplos que seguem nesta descrição, os produtos obtidos de acordo com os métodos descritos na técnica anterior contêm uma quantidade de impurezas (IIa), (IIb), (IIc) ou (IId) que é mais alta do que 0,03% do peso com relação à respectiva substância ativa (Ia), (Ib), (Ic) ou (Id). Em adição, foi mostrado que é difícil eliminar as ditas impurezas da safinamida e ralfinamida de produto final ou seus sais, usando métodos de purificação comumente conhecidos tais como cristalização a partir de solventes ou cromatografia, que em qualquer caso implica na redução de resultados.

Síntese dos Intermediários de 4-(Fluorbenziloxi)-benzaldeído

De acordo com métodos conhecidos, os intermediários fluorbenziloxi-benzaldeídos para a síntese de safinamida e ralfinamida são obtidos por benzilação de 4-hidroxibenzaldeído em um meio básico, ou seja, por benzilação de sais de fenol que, sendo nucleófilos ambidentes, fornecem dois diferentes produtos, isto é, os derivados O-alkilados desejados e os derivados C-alkilados indesejados.

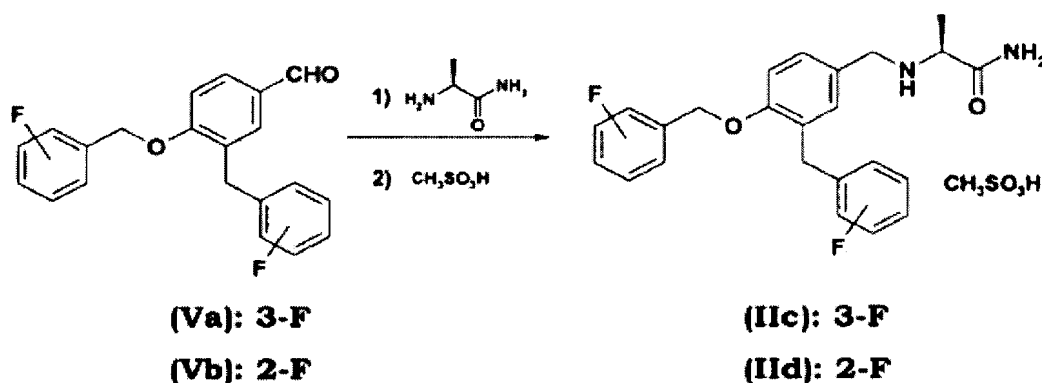
Descobriu-se eficazmente que a fluorbenzilação de 4-hidroxibenzaldeído com cloreto de 3-fluorbenzila, executada de acordo com a técnica anterior, fornece o 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) como o produto principal junto com 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va) que deriva da alquilação de ambos o grupo hidroxí na posição 4 e átomo de carbono na posição 3 do 4-hidroxibenzaldeído. O mesmo acontece na fluorbenzilação de 4-hidroxibenzaldeído com cloreto de 2-fluorbenzila de acordo com o seguinte esquema:



(IIIa₁): 3-F**(IIIb₁): 2-F****(Va): 3-F****(Vb): 2-F**

A alquilação redutiva de L-alaninamida com um aldeído que contém a impureza di-alquilada fornece um produto final de safinamida ou ralfinamida que é também impureza do respectivo composto di-alquilado, o derivado de dibenzila, se como uma base livre (IIa) ou (IIb) ou compostos salificados, preferencialmente com ácido metanossulfônico (IIc) ou (IId), como

5 mostrado no seguinte esquema:



Outros ácidos farmacêuticamente aceitáveis, por exemplo, ácido nítrico, hidrocloreto, hidrobrometo, sulfúrico, perclórico, fosfórico, metanossulfônico, p-toluenossulfônico, acético, trifluoroacético, propiônico, glicólico, láctico, oxálico, malônico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzóico, cinâmico,

10 co, mandélico e salicílico podem ser usados no lugar do ácido metanossulfônico preferencial.

O derivado mono-alquilado (safinamida ou ralfinamida) e as impurezas di-alquiladas correspondentes têm propriedades químico-físicas similares e isso torna difícil a purificação de safinamida e ralfinamida com métodos tradicionais.

15

Ademais, os métodos conhecidos sofrem dessas desvantagens adicionais:

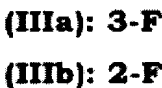
1) o uso de um álcool inferior como um solvente; em condições

20 básicas, o solvente, por exemplo, metanol, pode agir como um reagente nucleofílico e fornece, com cloreto de 3- ou 2-fluorbenzila, uma certa quantidade de metil-fluorbenzil-éter;

2) a extração do produto final com um solvente orgânico imiscível com água é possível somente depois que o solvente de reação alcoólica foi eliminado da mistura reacional.

Descobriu-se que usando os ditos métodos acima da técnica anterior, de modo a obter um produto final de fórmula (Ia) ou (Ib) onde o teor da respectiva impureza (IIa) ou (IIb) é menor do que 0,03% (do peso), é necessário drasticamente purificar o intermediário 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) para reduzir o teor das respectivas impurezas de fórmula (Va) e (Vb). A dita purificação é preferencialmente executada submetendo os produtos de reação à cristalização, mais preferencialmente, adicionando a uma solução do composto bruto (Iva) ou (IVb) em um solvente orgânico inerte um não solvente orgânico inerte miscível. O solvente inerte orgânico é preferencialmente selecionado a partir dos hidrocarbonetos aromáticos e, mais preferencialmente, é tolueno. O não solvente orgânico inerte miscível é preferencialmente selecionado a partir dos hidrocarbonetos alifáticos inferiores, mais preferencialmente, é n-hexano. Um procedimento de cristalização adicional pode consistir em dissolver os ditos compostos acima (IVa) ou (IVb) em um solvente quente, por exemplo, ciclohexano ou um di(C₃-C₄)alquil éter, tal como diisopropil éter em refluxo, e então resfriando a solução em temperatura ambiente, preferencialmente em 10 – 15° C, mais preferencialmente, com cristalização induzida por adição de cristais puros do composto puro (IVa) ou (IVb).

De acordo com um aspecto desta invenção, descobriu-se agora surpreendentemente que quando a reação entre um agente alquilante de fórmula (IIIa) ou (IIIb) (ver o esquema abaixo onde o átomo F está na posição 2 ou 3 e Y é um grupo de saída tal como, por exemplo, Cl, Br, I, O-SO₂CH₃, OSO₂C₆H₄-pCH₃, etc.) e 4-hidroxibenzaldeído, é executada sob condições de transferência de fase, os correspondentes 4-(fluorbenziloxi)benzaldeídos são obtidos em altas produções e com nível muito baixo de impurezas C,O-bi-alquiladas.



5

10

15

20

25

A quantidade de catalisador de transferência de fase usado está entre 0,02-1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldeído, de preferência entre 0,1-1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldeído como, nessas condições, a quantidade das impurezas C,O-bi-fluorbenziladas pode resultar em menos de 0,3%, preferencialmente igual a 0,01% de peso ou menos.

A relação entre os agentes alquilantes de fórmula (III) e 4-hidroxibenzaldeído está compreendida entre 0,6 e 1,5, de preferência entre 0,9 e 1,1.

A temperatura da reação está compreendida entre 60° C e 160° C, o intervalo preferido está entre 80° C e 120° C.

O tempo de reação está geralmente entre 4 e 8 horas.

Os resultados da reação são muito altos, como uma regra, mais de 90%.

A produtividade da reação, isto é, a concentração dos produtos da reação na mistura reacional é muito alta na condição de reação descrita, normalmente é maior ou igual a 25% (peso/volume).

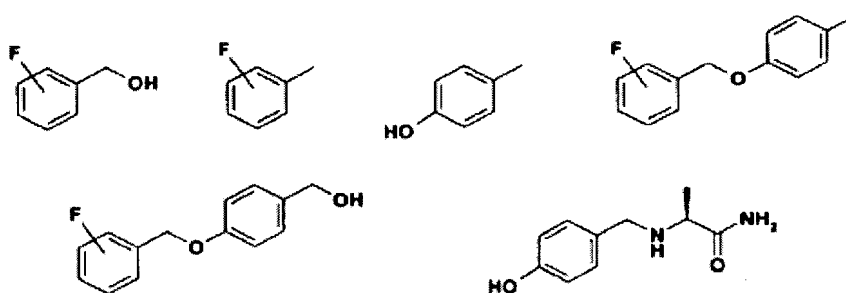
Síntese de Safinamida e Ralfinamida por Alquilação Redutiva de α -aminoamidas

O estado da técnica sugeriria ao especialista no campo que, a alquilação redutiva de α -amino-amidas com 4-(3- ou 2-fluorbenziloxi)benzaldeídos usando hidrogênio e um catalisador heterogêneo como um agente de redução, não deveria ser adequada para a preparação de safinamida e ralfinamida devido à incompatibilidade entre os reagentes e os produtos finais e as condições de redução.

De fato, sabe-se bem o quão facilmente os benzaldeídos são reduzidos a benzil alcoóis ou até aos hidrocarbonetos correspondentes, bem como se sabe que as condições que deveriam ser usadas para executar uma alquilação redutiva com hidrogênio e um catalisador heterogêneo, são normalmente as mesmas condições usadas para quebrar as ligações entre um átomo de carbono benzílico e heteroátomos como nitrogênio ou oxigênio, o tipo de ligações que estão presentes em ambas a safinamida e a ralfinamida e em seus precursores.

De fato, o grupo benzílico é normalmente empregado como um grupo de proteção de fenóis ou aminas (ver "Protective Groups in Organic Synthesis", T.W. Greene e P.G.M. Wuts, 3ª Edição, 1999, John Wiley & Sons, Inc.) devido à facilidade de sua introdução e sucessiva remoção por
5 redução catalítica.

Na alquilação redutiva para obter safinamida e ralfinamida, poder-se-ia esperar a formação de muitos sub-produtos, alguns dos quais são relatados aqui abaixo:



O fato de que a safinamida e a ralfinamida foram obtidas em
10 rendimentos muito altos e pureza por alquilação redutiva de L-alaninamida, com 4-(3- ou 2-fluorbenziloxy)benzaldeído, usando hidrogênio e um catalisador heterogêneo como um sistema de redução, é um aspecto surpreendente e inovador desse procedimento sintético.

Além disso, as condições de reação que são usadas de acordo
15 com esse procedimento são facilmente aplicáveis à produção em volume.

A alquilação redutiva, objeto da presente invenção, é executada em duas etapas:

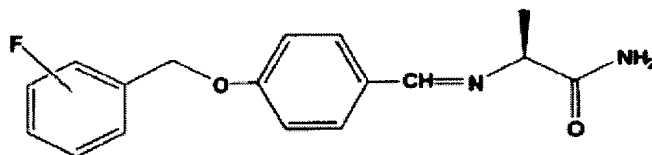
- a) formação da base de Schiff
- b) redução catalítica de base de Schiff

20 As duas etapas podem ser executadas em sucessão no mesmo reator (reação em etapa única) ou com, ou sem, isolamento da base de Schiff, em ambos os casos com altos rendimentos.

No caso de isolamento da base de Schiff, as condições experimentais aplicadas para essa formação permitem a obtenção da base de Schiff isolada na forma de um precipitado em altos rendimentos e na forma
25 muito pura.

A preparação de base de Schiff é adequadamente executada em um solvente prótico orgânico, que precisa ser inerte versus os reagentes e os produtos e também inertes versus as condições de redução da ligação dupla imínica, tal como, por exemplo, um alcanol inferior (C₁-C₅), preferencialmente metanol, etanol e isopropanol.

A formação da base de Schiff precisa ser completa e esse é um fator relevante para ter altos rendimentos na etapa de redução catalítica subsequente. É, portanto, preferencial isolar as bases de Schiff (VIa) e (VIb) antes de executar a redução da ligação dupla imínica.



(VIa):3-F

(VIb):2-F

Os compostos imino isolados (VIa) e (VIb) são intermediários úteis para a preparação de safiamida e ralfinamida, respectivamente, de acordo com esta invenção.

Alternativamente, pode-se favorecer o término da reação de iminoalquilação, operando sob tais condições para causar a precipitação dos compostos imino (VIa) e (VIb) e para submeter à redução catalítica à suspensão que contém o derivado imino intermediário.

A relação entre L-alaninamida (base ou sal) e 4-(3- ou 2-fluorbenziloxi)benzaldeído pode ser 1:1, mas também um excesso de 10% de L-alaninamida pode ser vantajosamente usado.

A L-alaninamida pode ser introduzida ou como uma base livre ou como um sal com adição de ácido dessa. Preferencialmente, ela é introduzida na mistura reacional como um sal, mais preferencialmente, como sal de hidrocloreto, junto com a quantidade estequiométrica de uma base, preferencialmente, uma amina terciária tal como, por exemplo, trietilamina ou diisopropiletilamina.

A temperatura de reação na preparação da base de Schiff está

entre 0° C e 60° C, preferencialmente, entre 20° C e 30° C.

Os tempos de reação estão entre 1 hora e 15 horas, preferencialmente, entre 4 horas e 6 horas.

A redução da base de Schiff com hidrogênio e um catalisador heterogêneo é iniciada somente quando a formação da base de Schiff é terminada: se é começada antes, as reações secundárias se tornam importantes, às vezes preponderantes, com perdas nos rendimentos e pureza. Uma dessas reações secundárias, a mais importante, causa a formação de alcoóis benzílicos por redução do grupo carbonila do (fluorbenziloxy)benzaldeído de escolha.

Os catalisadores heterogêneos preferidos são catalisadores de níquel, ródio, paládio, ou de platina, em um suporte inerte tal como, por exemplo, carbono, alumina e sílica, preferencialmente carbono e alumina, e são usados em uma quantidade entre 2% e 20% de 4-(3- ou 2-fluorbenziloxy)benzaldeído, preferencialmente entre 5% e 10%.

Os catalisadores de platina e de paládio são os mais preferidos.

A platina em carbono ativo, em particular, fornece excelentes resultados ambos em termos de rendimentos, que são quase quantitativos, e seletividade, na medida em que somente a ligação dupla imínica é reduzida enquanto a ligação entre o átomo de carbono benzílico e os heteroátoms permanece inalterada. Verificou-se que a safinamida e a ralfinamida são surpreendentemente estáveis nas condições de reação de redução e esse é um elemento importante na produção industrial de grandes quantidades de safinamida ou ralfinamida, na medida em que um prolongamento do tempo de reação incidental não danificaria os produtos finais.

Os melhores resultados foram obtidos com 5% Pt/C úmido (50% H₂O) e em particular, com 5% Pt em pó de carbono por Engelhard S.r.l., Roma, Itália. A reação de hidrogenação é normalmente executada sob uma pressão de hidrogênio compreendida entre 1 bar e 10 bars, preferencialmente entre 3 bars e 6 bars e em temperatura entre 10° C e 70° C, preferencialmente entre 25° C e 40° C.

Os tempos de redução podem variar de 1 hora a 20 horas, de

acordo com a temperatura, pressão, concentração, turbulência, etc., todos os fatores bem conhecidos aos versados na técnica.

Os melhores resultados foram obtidos com tempos de reação de 4 – 6 horas.

5 No fim da reação o catalisador é recuperado por filtração e reutilizado ou regenerado: o solvente de reação é destilado sob pressão reduzida, o resíduo é dissolvido em solvente orgânico imiscível com água e os sais inorgânicos são removidos por lavagem com água.

10 A safinamida ou ralfinamida bruta final é recuperada removendo-se por destilação o solvente orgânico sendo que eles são dissolvidos.

A safinamida ou ralfinamida bruta é então purificada por cristalização. A cristalização é preferencialmente executada adicionando-se a uma solução do respectivo composto bruto de fórmula (Ia) ou (Ib) em um solvente orgânico inerte um não solvente orgânico inerte imiscível. O solvente inerte
15 orgânico é preferencialmente selecionado de hidrocarbonetos aromáticos tal como benzeno, tolueno, dimetil benzeno, e etilbenzeno e acetatos de alquila inferior e, mais preferencialmente, é acetato de etila. O não solvente orgânico inerte miscível é preferencialmente selecionado a partir dos hidrocarbonetos alifáticos inferiores, tal como hexano e heptano, e ciclohexano, mais preferencialmente, é n-hexano.
20

As bases são então transformadas nos sais desejados de acordo com métodos conhecidos, em particular, elas são transformadas em sal de metanossulfonato, que tem as propriedades físico-químicas (estabilidade, granulometria, fluidez, etc.) adequadas para a subsequente formulação em
25 uma preparação farmacêutica para uso como medicamento.

Exemplo 1

Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído purificado (IVb) por catálise de transferência de fase

30 Uma mistura de cloreto de 2-fluorbenzil (5 kg, 34,58 mol), 4-hidroxibenzaldeído (3,9 kg, 31,94 mol), carbonato de potássio (4,3 kg, 31,11 mol) e brometo de tetradecil trimetilamônio (0,41 kg, 1,22 mol) em tolueno (9,5 kg) é lentamente levada, sob agitação e sob nitrogênio, à temperatura

de refluxo e submetida a refluxo por 6 horas.

A solução é então concentrada em pressão ambiente, 3 kg de tolueno são adicionados e destilados e esse procedimento é repetido mais uma vez.

5 A mistura heterogênea é então resfriada à temperatura ambiente e o sólido é eliminado por filtração. O solvente residual é então eliminado sob pressão reduzida e ao resíduo oleoso 1,2 kg de tolueno são adicionados. A mistura é aquecida a aproximadamente 40° C e a ela adicionadas algumas gramas de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído puro.

10 A mistura heterogênea é agitada por 15 minutos a 35 – 40° C e então adicionada com n-hexano (9 kg) nessa temperatura, em 30 minutos. Depois de resfriar a 0 – 5° C e agitar por uma hora mais nessa temperatura, o sólido é coletado por filtração e seco sob pressão reduzida para obter 6,5 kg (87,6% rendimento) de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído; m.p. 56,7° C
15 (DSC, 5°/min).

A reação acima é repetida em uma escala de 1:100 com o uso de 39 g (0,319 mol) de 4-hidroxibenzaldeído como o material de partida e seguindo o procedimento descrito acima, com a exceção de que, depois da eliminação do solvente de reação e adição de tolueno ao resíduo oleoso, a
20 mistura obtida é aquecida a aproximadamente 30 - 35° C (ao invés de 40° C) e, depois de adicionar uma pequena quantidade de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído, a mistura heterogênea é agitada por 15 minutos a 30° C (ao invés de 35 – 40° C) antes de adicionar n-hexano.

O rendimento é 66,8 g (90%) de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído, m.p. 56,7° (DSC, 5° min), tendo uma pureza CG de 92,2 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 0,01% do peso de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído determinado por CG (ver Exemplo 16B).

(*) Os rendimentos relatados neste exemplo e nos seguintes, quando não especificado de outra forma, pretendem ser rendimentos molares.

30 1.1. Purificação Adicional de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído por Cristalização

Um quilograma do produto preparado de acordo com o procedi-

mento descrito no Exemplo 1 é dissolvido em 2 kg de diisopropil éter em re-fluxo sob agitação.

A solução é resfriada a 50 – 55° C em 10 – 15 minutos e a ela adicionadas algumas gramas de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído puro.

5 A suspensão é resfriada a 10 – 15° C durante 45 - 60 minutos e agitada por mais uma hora.

O precipitado é finalmente coletado por filtração, lavado com diisopropil éter (0,2 kg) frio e seco sob pressão reduzida para obter 0,93 kg de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído com pureza CG de 99,8 (% de área, ver Ex-
10 xemplo 16A) e um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (Vb) de 0,005% do peso determinado por CG de acordo com o Exemplo 16B.

1.2. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) por Catálise de Transferência de Fase (CTF) Usando Diferentes Catalisadores.

15 O 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado por alquilação de 4-hidroxibenzaldeído (0,39 g) com cloreto de 2-fluorbenzila seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 1, mas usando três catalisadores de transferência de fase diferentes.

Os resultados são relatados na seguinte Tabela 4.

20 Tabela 4

Experimento	Catalisador de Transferência de Fase (CTF)	% Vb **	% de Rendimento
1,2(a)	Brometo de tetra-butyl fosfônio	0,03	85,0
1,2(b)	Aliquat 336*	0,03	88,8
1,2(c)	PEG 400	0,14	96,0

* Aliquat 336: cloreto de tricaprilmetilamônio

** % Vb: teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (% do peso)

O teor de Vb é determinado por CG de acordo com o Exemplo 16B.

1.3. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) por Catálise de Transferência de Fase (CTF) em xileno.

O 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado em 86,6% de rendimento com um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,02% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B) reagindo 4-hidroxibenzaldeído (0,39 g) com cloreto de 2-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 1, mas substituindo o tolueno por xileno como o solvente.

1.4. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) por Catálise de Transferência de Fase usando Hidróxido de Potássio como uma Base

O 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado em 86,7% de rendimento com um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,51% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B) reagindo 4-hidroxibenzaldeído (0,39 g) com cloreto de 2-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 1, mas usando hidróxido de potássio (0,35 mol) ao invés de carbonato de potássio.

Esse produto pode ser adicionalmente purificado por cristalização de acordo com o Exemplo 1.1.

1.5. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) por Catálise de Transferência de Fase usando Brometo de 2-fluorbenzila

O 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado em 88,6% de rendimento com um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,07% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B) reagindo 4-hidroxibenzaldeído (15,6 g) com brometo de 2-fluorbenzila ao invés de cloreto de 2-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 1.

Exemplo 2

Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida, Ib) de alto grau de pureza (reação em etapa única)

Um autoclave é carregado com 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído

(2,0 kg, 8,69 mol) preparado de acordo com o Exemplo 1, e então uma solução preparada separada com hidrocloreto de L-alaninamida (1,2 kg, 9,63 mol) e trietilamina (0,97 kg, 9,63 mol) em metanol (9,5 kg) é adicionada a esse.

5 A mistura é agitada a 20 – 25° C por aproximadamente 1 hora e então, depois de adicionar a esta algumas gramas de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida, a agitação é continuada por mais 15 minutos. À mistura heterogênea agitada, metanol (1,6 kg) e Pt/C 5% úmido (50% H₂O) (Engelhard cod.Escat 22, Engelhard S.r.l., Roma, Itália) (0,28 g) são então adicionados a 20 – 25° C.

O ar é purgado a partir do autoclave com nitrogênio e então o hidrogênio é introduzido a 5,0 bar e a pressão é mantida nesse valor durante o curso da hidrogenação.

15 Depois de 5 horas a 30 – 35° C, a mistura reacional é resfriada a 15° C e, depois da adição de metanol (4,8 kg) e aquecimento a 40 – 45° C, a suspensão é filtrada e o sólido é lavado com metanol (1,6 kg).

O solvente é eliminado sob pressão reduzida em aproximadamente 30° C e o resíduo é adicionado com água (5 L) a 20 – 25° C em resfriamento e sob agitação, à medida em que a adição de água é um processo exotérmico. A mistura heterogênea é adicionalmente resfriada a 15 – 20° C, mantida nessa temperatura por 1 hora e então filtrada. O sólido coletado é lavado com água fria (4 L) e seco sob pressão reduzida para obter 2,23 kg (85,0% de rendimento) de ralfinamida com uma pureza HPLC de 98,8 (% de área) determinada de acordo com o método do Exemplo 17A e um teor de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida C,O-dialquilada de 0,01% do peso determinado por HPLC, de acordo com o método do Exemplo 17B.

2.1. Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ib) com alto grau de pureza usando um catalisador de paládio

30 Uma mistura de 5g de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído, preparada de acordo com o Exemplo 1 e a quantidade correspondente de hidrocloreto de L-alaninamida e trietilamina é hidrogenada de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 2, mas com o uso de Pd/C 10% úmido (50% de

H₂O) ao invés de Pt/C 5% úmido (50% de H₂O) para obter (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (Ib) em um rendimento de 70%.

Exemplo 3

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (metanossulfonato de ralfinamida, Id) de alto grau de pureza

A ralfinamida (2,8 kg, 9,26 mol), preparada como descrito no Exemplo 2, é dissolvida em isopropanol (19,5 kg) e mantida a 65 – 70° C e sob agitação em temperatura inerte.

Depois de tratamento com carvão vegetal (150 g) e filtração, à solução é adicionada metanossulfonato de ralfinamida puro e, ácido metanossulfônico (900 g, 9,36 mol) é adicionado em 30 minutos, sob agitação e em uma temperatura de 50 – 55° C. A suspensão é então resfriada a 15 – 20° C em 2 horas e a agitação é continuada por mais uma hora. O sólido é finalmente coletado por filtração e seco sob pressão reduzida para fornecer 3,59 kg (97,3% de rendimento) de metanossulfonato de ralfinamida.

A pureza HPLC do produto obtido é 99,8 (% de área, ver Exemplo 17A) e o teor de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida C,O-dialquilado é 0,005% do peso (ver Exemplo 17B); m.p. 240,6° C por DSC (5°/min).

A pureza enantiomérica do metanossulfonato de ralfinamida determinada com coluna HPLC quiral é maior do que 99,8 (% de área, ver Exemplo 18).

Exemplo 4

Preparação de 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVa) em solução de etanol

A uma mistura de 4-hidroxibenzaldeído (1,52 kg, 12,45 mol), carbonato de potássio (1,72 kg, 12,45 mol), iodeto de potássio (0,2 kg, 1,20 mol) em etanol (13,0 kg), 1,8 kg de cloreto de 3-fluorbenzila (1,80 kg, 12,45 mol) são adicionado sob agitação em temperatura ambiente.

A mistura é gradualmente aquecida a refluxo e então mantida nessa temperatura por 6 horas.

A mistura reacional é então permitida a resfriar em 25° C, a sus-

pensão é filtrada e o sólido é lavado com etanol (1,0 kg); as soluções de etanol são combinadas e então concentradas em pressão reduzida até que um resíduo de aproximadamente 3,5 kg é obtido.

5 A esse resíduo, tolueno (5,0 kg) e água (1,7 kg) são adicionados, a mistura de solvente é agitada vigorosamente por 30 minutos e, depois de separação da fase aquosa, a camada orgânica é evaporada à secra sob pressão reduzida para fornecer 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído.

10 A esse produto dissolvido em 2 kg de tolueno, uma adição de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é feita sob agitação a 20 – 25° C, então n-hexano (3,8 kg) é adicionado em 30 minutos e a mistura é resfriada a 0° C sob agitação.

Depois de 2 horas, o sólido é filtrado e lavado com n-hexano (1,3 kg). Depois de secar, 2,6 kg (90,7% de rendimento) do produto desejado são obtidos, com uma pureza cromatográfica a gás de 99,9 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,005% do peso determinado por G.C. (% de área, ver Exemplo 16B); m.p. 43,1° C por DSC 5°/min.

Exemplo 5

20 Preparação de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) por Catálise de Transferência de Fase

Uma mistura de cloreto de 3-fluorbenzila (5 kg, 34,58 mol), 4-hidroxibenzaldeído (3,9 kg, 31,94 mol), carbonato de potássio (4,3 kg, 31,11 mol) e brometo de tetradecil trimetilamônio (0,41 kg, 1,22 mol) em tolueno (13,5 kg) é lentamente levada à temperatura de refluxo sob agitação e sob atmosfera de nitrogênio, e então submetida a refluxo por 6 horas.

A solução é concentrada em temperatura ambiente e então 3 kg de tolueno são adicionados e destilados. Esse procedimento é repetido mais uma vez.

30 A mistura heterogênea é então resfriada em temperatura ambiente e o sólido é eliminado por filtração. O solvente residual é eliminado sob pressão reduzida e então 1,2 kg de tolueno são adicionados ao resíduo oleoso. A mistura é agitada a 20 – 25° C e a ela são adicionadas algumas gra-

mas de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído puro, e então adicionada com n-hexano (9 kg) nessa temperatura, em 30 minutos.

Depois de resfriamento a 0 – 5° C e agitação por mais uma hora nessa temperatura, o sólido é coletado por filtração e seco sob pressão reduzida para obter 6,5 kg (85% de rendimento, pureza CG 99,9 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,008% do peso (ver Exemplo 16B).

5.1. Purificação Adicional de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) por Cristalização

Um quilograma de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído preparado de acordo com o Exemplo 5, é dissolvido em 2 kg de diisopropil éter em refluxo sob agitação.

A solução é resfriada a 50 – 55° C em 10 – 15 minutos e a ela adicionadas algumas gramas de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído puro.

A suspensão é resfriada a 10 – 15° C durante 45 – 60 minutos e agitada por mais uma hora.

O precipitado é finalmente coletado por filtração, lavado com diisopropil éter frio (0,2 kg) e seco sob pressão reduzida para obter 0,95 kg de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído com pureza CG de 99,9 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído inferior a 0,005% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B).

5.2. Preparação de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) por Catálise de Transferência de Fase usando Brometo de 3-fluorbenzila

O 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado em 86,1% de rendimento com um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,07% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B) reagindo-se 4-hidroxibenzaldeído (15,6 g) com brometo de 3-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 5, mas usando brometo de 3-fluorbenzila ao invés de cloreto de 3-fluorbenzila.

O então obtido 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é purificado de acordo com o Exemplo 5.1 para produzir o produto título em 97,3% de rendimento com um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído de

0,07% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B).

5.3. Preparação de 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVa) por Catálise de Transferência de Fase usando metanossulfonato de 3-fluorbenzila.

O 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído é preparado em 97,5% de rendimento com um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído de 0,45% do peso, determinado por CG (ver Exemplo 16B), reagindo-se 4-hidroxibenzaldeído (15,6 g) com metanossulfonato de 3-fluorbenzila ao invés de cloreto de 3-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 5. Esse produto é adicionalmente purificado de acordo com o procedimento do Exemplo 5.1.

Exemplo 6

Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (safinamida, Ia) de alto grau de pureza (reação em etapa única)

Um autoclave é carregado com 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (2,0 kg, 8,69 mol) preparado como no Exemplo 4, e então uma solução, preparada separada, com hidrocloreto de L-alaninamida (1,2 kg, 9,63 mol) e trietilamina (0,97 kg, 9,63 mol) em metanol (7,1 kg) é adicionada a esse.

A mistura é agitada a 20 – 25° C por 1 hora e, depois de adicionar a esta algumas gramas de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida, a agitação é continuada por mais 15 minutos. À mistura heterogênea agitada, metanol (1,8 kg) e Pt/C 5% úmido (50% H₂O) (Engelhard cod.Escat 22) (0,3 g) são então adicionados a 20 – 25° C.

O ar é purgado a partir do autoclave com nitrogênio e então o hidrogênio é introduzido a 5,0 bar.

Depois de 5 horas a 30 – 35° C, a mistura é resfriada a 15° C, metanol (4,8 kg) é adicionado e a mistura é aquecida a 40 – 45° C; finalmente o sólido é filtrado e lavado com metanol (1,6 kg).

O solvente é eliminado sob pressão reduzida em aproximadamente 30° C e então a mistura de acetato de etila (23,0 kg) e água (18,0 kg) é adicionada ao resíduo. Depois de agitação por 15 minutos, a fase aquosa é separada e extraída com acetato de etila (7,0 kg). As fases orgânicas cole-

tadas são concentradas até que um resíduo de aproximadamente 6,0 kg é obtido. A esse resíduo, n-heptano (10,8 kg) é adicionado e a mistura é agitada em 20° C por aproximadamente 2 horas. O sólido é então coletado por filtração e lavado com n-heptano.

5 Depois de secar o sólido sob pressão reduzida, 2,41 kg (91,8% de rendimento) do composto título são obtidos com uma pureza HPLC de 98,4 (% de área, ver Exemplo 17A), e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)-benzilamino]propanamida de 0,005% do peso (ver Exemplo 17B).

10 6.1. Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) com alto grau de pureza usando um Catalisador Pd

 (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (5g) na presença das quantidades correspondentes de hidrocloreto de L-alaninamida e trietilamina é hidrogenado de acordo com o mesmo procedimento de Exemplo 6, usando
15 Pd/C 10% úmido (50% H₂O), ao invés de Pt/C 5% úmido (50% H₂O), para produzir Ia em 72% de rendimento.

6.2. Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) de alto grau de pureza por hidrogenação em 1 bar

 Uma mistura de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído, hidrocloreto de L-alaninamida e trietilamina é hidrogenada de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 6, mas em 1 bar, H₂ ao invés de 5 bar/H₂.
20

 O rendimento de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é 90% com uma pureza HPLC de 98,7 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida de 0,005% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).
25

6.3. Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) com alto grau de pureza (reação em etapa única) usando base L-alaninamida

30 (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (10g) é reagido de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 6, mas usando base L-alaninamida, ao invés de seu hidrocloreto e trietilamina. O rendimento de

(S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é 92% com uma pureza HPLC de 99,7 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorobenziloxy)benzilamino]propanamida inferior a 0,005% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

5 Exemplo 7

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (metanossulfonato de safinamida, Ic) de alto grau de pureza

10 A safinamida (2,41 kg, 7,97 mol), preparada como descrito no Exemplo 6, é dissolvida em acetato etílico (56,5 kg) em 65° C e descolorido com carvão vegetal (100 g).

Depois de filtração, a solução é agitada e a ela adicionadas algumas gramas de metanossulfonato de safinamida e, depois de 15 minutos, ácido metanossulfônico (850 g, 8,84 mol) é adicionado em 30 minutos, a 15 uma temperatura de 50 – 55° C. A suspensão é resfriada sob agitação a 20 – 25° C durante 2 horas e agitada por mais uma hora. O precipitado é finalmente coletado por filtração e seco sob pressão reduzida para obter 2,83 kg (89,1% de rendimento) de metanossulfonato de safinamida.

20 O teor de impureza metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (IIc) medido por HPLC (ver Exemplo 17B) é de 0,005% do peso. O composto título tem m.p. 216,8° C por DSC (5°/min).

A quantidade enantiomérica, medida com uma coluna HPLC quiral, está acima 99,9 (% da área, ver Exemplo 19).

25 ¹H-RMN (D₂O) (Bruker A V300) δ (ppm, com relação a H₂O a 4,7 ppm): 1,43 (3H, d, J = 7 Hz, CH₃), 2,66 (3H, s, CH₃SO₃H), 3,87 (1H, q, J = 7 Hz, H-2), 3,97 (2H, bs, CH₂NR), 4,89 (2H, s, CH₂R), 6,88 e 7,23 (4H, sistema aromático p-disubstituído AA'XX'), 6,90 - 7,22 (4H, H aromático).

30 ¹³C-RMN (D₂O) (Bruker A V300) δ ppm: 15,68 (CH₃), 38,27 (CH₃SO₃H), 48,99 (CH₂NR), 54,81 (CH), 69,00 (OCH₂), 114,15 (d, J_{C-F} = 21 Hz, CH aromático), 114,76 (d, J_{C-F} = 20 Hz, CH aromático), 115,38 (CH aromático), 123,06 (d, J_{C-F} = 24 Hz, CH aromático), 123,24, 130,29 (d, J_{C-F} = 6

Hz, CH aromático), 131,54 (CH aromático), 138,76 (d, $J_{C-F} = 7$ Hz, CH aromático), 158,52, 162,89 (d, $J_{C-F} = 245$ Hz, C-F), 171,92 (CO).

Exemplo 8

Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (safina-
5 mida, Ia) de alto grau de pureza, com isolamento da base de Schiff interme-
diária (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilidenoamino]

a) (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilidenoamino]propanamida (VIa)

A uma suspensão de 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (60,0 g, 0,26 mol), preparada como no Exemplo 5, e hidrocloreto de L-alaninamida
10 (35,7 g, 0,29 mol) em metanol (280 mL), trietilamina (29,1 g, 0,29 mol) é adicionado a temperatura ambiente com agitação sob atmosfera de nitrogênio. A agitação é mantida por mais uma hora.

À solução são então adicionados alguns mg de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilidenoamino]propanamida, a temperatura é diminuída
15 para 5 – 10° C e a agitação continuada por 2 horas.

O sólido é coletado por filtração e lavado com metanol a 0° C. Depois de secá-lo a temperatura reduzida, 57,3 g (73,2% de rendimento) do composto título são obtidos com m.p. 112,0° C por DSC (5°/min).

¹H-RMN (DMSO-d₆) (Bruker A V300) δ (ppm, com relação a TMS
20 a 2,55 ppm, solvente DMSO a 3,35 ppm): 1,31 (3H, d, $J = 7$ Hz, CH₃), 3,86 (1H, q, $J = 7$ Hz, H-2), 5,18 (2H, s, CH₂OR), 7,08 e 7,79 (4H, sistema aromático p-disubstituído AA'XX'), 7,10 – 7,50 (4H, m, H aromático), 8,27 (1H, s, CH = NR).

¹³C-RMN (DMSO-d₆) (Bruker A V300) δ (ppm): 20,5 (CH₃), 67,6
25 (CH), 48,99 (CH₂NR), 58,4 (OCH₂), 114,1 e 114,4 (d, $J_{C-F} = 21$ Hz, CH aromático), 114,5 e 114,8 (d, $J_{C-F} = 21$ Hz, CH aromático), 114,8 (CH aromático), 123,5 (d, $J_{C-F} = 2$ Hz, CH aromático), 129,0 e 129,9 (CH aromático), 130,4 e 130,5 (d, $J_{C-F} = 7$ Hz, CH aromático), 139,6 e 139,7 (d, $J_{C-F} = 6$ Hz, C quaternário aromático), 160,2, 160,5 e 163,8 (d, $J_{C-F} = 245$ Hz C-F), 160,6
30 (CH = N), 174,8 (CO).

b) (S)-2-[4-(3-Fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (Ia)

Um autoclave é carregado com (S)-2-[4-(3-

fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida (16,0 g; 0,053 mol), preparado como descrito acima, e Pt/C 5% úmido (50% H₂O) (1,7 kg: Engelhard S.r.l., Roma, Itália) e então metanol (90 mL) é adicionado a esse. O autoclave é purgado a partir de ar com nitrogênio e então o hidrogênio é introduzido em 5,0 bars. A reação é mantida a 5,0 bars e a 35° C por 1 hora. Depois de resfriamento a temperatura ambiente e eliminação do catalisador por filtração, o solvente é destilado sob pressão reduzida até que um resíduo de aproximadamente 30 g é obtido. A esse resíduo, uma mistura de acetato etílico (150 mL) e H₂O (110 mL) é adicionada e a mistura heterogênea é aquecida a 40° C, até que das fases claras são obtidas. Essas duas fases são separadas e a camada aquosa é extraída com 50 mL de acetato etílico a 40° C. As fases orgânicas são coletadas e evaporadas à secura. O procedimento é repetido duas vezes adicionando-se a cada hora 90 mL de acetato etílico para tornar o produto anidro. 95 ml de n-heptano são então adicionados lentamente e sob agitação ao resíduo. A mistura é então mantida sob agitação por 3 horas a 20° C. O sólido formado é coletado por filtração, lavado com n-heptano (15 mL) e seco sob pressão reduzida para obter 15,2 g (94,8% de rendimento) de safinamida com uma pureza HPLC de 99,8 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]-propanamida inferior a 0,005% do peso medido por HPLC (ver Exemplo 17B).

Exemplo 9

Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida, Ib) de alto grau de pureza, com isolamento da base de Schiff intermediária (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida (VIb)
a) (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida (VIb)

A (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida é preparada em um rendimento de 88%, m.p. 121° C (capilar), seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 8, etapa (a), mas usando 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído ao invés de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído.

¹H-RMN: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, com relação a TMS): 1,46 (3H, d, J = 7,0 Hz, CH₃), 3,91 (1H, q, J = 7,0 Hz, CH-CO), 5,17 (2H, s,

O-CH₂), 7,02 (2H, d, J = 8,9 Hz, orto-H aromático a O-CH₂), 7,09 (1H, DDD, J_{H-F} = 9,78 Hz, J_{orto} = 8,55 Hz, J_{meta} = 1,23 Hz, orto-H aromático para F), 7,15 (1H, dt, J_{orto} = 7,35 Hz, J_{meta} = 1,23 Hz, para-H aromático para F), 7,27 – 7,40 (1H, m, para-H aromático para CH₂), 7,48 (1H, dt, J_{orto} = J_{H-F} = 7,35 Hz, J_{meta} = 1,53 Hz, orto-H aromático para CH₂), 7,71 (2H, d, J = 8,9 Hz, orto-H aromático para CH=N), 8,17 (1H, s, C=N).

¹³C-RMN: (CDC1₃, 75,4 MHz, 298K) δ (ppm): 21,4 (CH₃), 63,8 (OCH₂), 68,4 (H₂NCOCH), 115,0 (d, J_{C-F} = 22,4 Hz, CH aromático), 115,5 (d J_{C-F} = 20,7 Hz, CH aromático), 123,7 (d, J_{C-F} = 14,4 Hz, C aromático quaternário), 124,5 (bd, CH aromático), 129,0 (C aromático quaternário), 129,8 (bd, CH aromático), 130,1 (bd, CH aromático 2), 160,5 (d, J_{C-F} = 246,4 Hz, C aromático quaternário), 161,1 (C-O aromático), 161,1 (C=N), 176,9 (CONH₂).

b) (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ib)

A (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é preparada em um rendimento de 93% a partir de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 8, etapa (b). O teor de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)-benzilamino]propanamida é 0,02% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

Exemplo 10

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)-benzilamino]propanamida (IIc)

a) 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va)

Em um frasco de fundo redondo de 4 L mantido sob atmosfera de nitrogênio, 4-hidroxibenzaldeído (400 g, 3,28 mol), carbonato de potássio (453 g, 3,28 mol), tolueno (2 L) e cloreto de 3-fluorbenzila (1400 g, 9,68 mol) são adicionados em seqüência e a mistura é submetida a refluxo sob agitação por 5 dias. Nesse ponto, uma análise CG revela que a mistura reacional contém 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído e 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em uma relação de 91,4:8,6 (área/área, ver Exemplo 16A).

A mistura reacional é resfriada a temperatura ambiente e então 2

L de água são adicionados sob agitação. A fase orgânica é separada e o solvente é destilado sob pressão reduzida (20 mmHg) a 35° C até que nenhum solvente mais passe. A pressão é então diminuída para 3 mmHg e a temperatura externa é elevada até 300° C e a fração que destila entre 255° C e 265° C (40,6 g) é coletada.

Uma análise CG mostra uma relação área/área e derivado C,O-dibenzilado (Va) do composto título versus um monoalquilado (IVa) de 99,6:0,4 (área/área, ver Exemplo 16A).

¹H-RMN: (CDCl₃) (Bruker AV300) δ (ppm, com relação a TMS): 4,05 (2H, s, CH₂), 5,13 (2H, s, OCH₂), 6,85 – 7,40 (9H, m, H aromático), 7,73 – 7,79 (2H, m, orto-H aromático para C=O), 9,88 (s, CHO).

¹³C-RMN: (CDCl₃) (Bruker AV300) δ (ppm): 36,1 (CH₂), 69,4 (CH₂O), 111,4 (CH aromático), 112,9 e 113,2 (d, J_{C-F} = 20 Hz, CH aromático), 113,9 e 114,2 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 114,9 e 115,0 (d, J_{C-F} = 21 Hz, CH aromático), 115,7 e 115,9 (d, J_{C-F} = 25 Hz, CH aromático), 122,6 (d, J_{C-F} = 3 Hz, CH aromático), 124,4 (d, J_{C-F} = 3 Hz, CH aromático), 129,6 e 129,8 (d, J_{C-F} = 8 Hz, CH aromático), (d, J_{C-F} = 7 Hz, C aromático quaternário), 129,9 (C aromático quaternário), 130,0 (C aromático quaternário), 130,1 e 130,2 (d, J_{C-F} = 7 Hz, CH aromático), 131,2 (CH aromático), 131,5 (CH aromático), 138,3 (d, J_{C-F} = 7 Hz, C aromático quaternário), 142,3 (d, J_{C-F} = 7 Hz, C aromático quaternário), 161,0, 161,2 e 164,4 (d, J_{C-F} = 240, 2 sobreposições de C-F), 190,8 (CHO).

b) (S)-2-[3-(3-Fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)-benzilamino]propanamida (IIa)

A 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (35,6 g, 0,105 mol) em um frasco de 500 mL, uma solução previamente preparada adicionando-se cuidadosamente sob agitação trietilamina (12 g, 0,119 mol) a uma solução de 170 mL de metanol de hidrocloreto de L-alaninamida (14,8 g, 0,119 mol), é adicionada em temperatura ambiente.

Essa mistura reacional é agitada por 1 hora em temperatura ambiente e então ela é transferida a um autoclave de 1,8 L e adicionada com 3,4 g de Pt/C 5% úmido (50% H₂O).

O ar é purgado a partir do autoclave com nitrogênio e então hi-

drogênio é introduzido a 5,0 bars.

A reação é executada em uma temperatura de 35° C por 3-5 horas.

Depois de resfriamento em temperatura ambiente e eliminando o catalisador por filtração, o solvente é destilado sob pressão reduzida até que um resíduo de aproximadamente 65 g é obtido. A esse resíduo, uma mistura de acetato etílico (340 mL) e água (250 mL) é adicionada e a mistura heterogênea é aquecida a 40° C e mantida nessa temperatura sem agitação, até que duas fases claras são obtidas. As duas fases são separadas e a orgânica é destilada sob pressão reduzida, até que um resíduo de aproximadamente 50 g é obtido.

Esse resíduo é dissolvido em 220 mL de acetato etílico e o solvente é destilado sob pressão reduzida com uma temperatura externa de 40° C. Essa operação é repetida duas vezes e o composto título é obtido como resíduo sólido.

c) Metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)-benzilamino]propanamida (IIc)

Em um reator de vidro de 2 L, 42,4 g (0,103 mol) de base (S)-3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida são dissolvidos em 950 mL de acetato etílico.

A solução é aquecida sob agitação a 50 – 55° C e mantida nessa temperatura por uma hora. A essa solução, 14,5 g (0,15 mol) de ácido metanossulfônico são adicionados em 20 minutos, e a temperatura é diminuída para 20° C em 90 minutos. Depois de 30 minutos, o sólido é coletado por filtração, seco a 50° C sob pressão reduzida e então cristalizado a partir de metanol (metanol:produto 1:5 do peso) para obter 25,1 g de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida, m.p. 181° C (capilar).

¹H-RMN: (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm, com relação a TMS): 1,44 (3H, d, J = 7 Hz, CH₃), 2,35 (3H, s, CH₃SO₃), 3,81 (1H, q, J = 7Hz, H-2), 3,99 (2H, bs, CH₂ benzílico), 4,02 (2H, sistema AB, CH₂N), 5,17 (2H, s, CH₂OR), 6,98 – 7,63 (11H, m, H aromático), 7,62 e 7,75 (2H, bs, a-

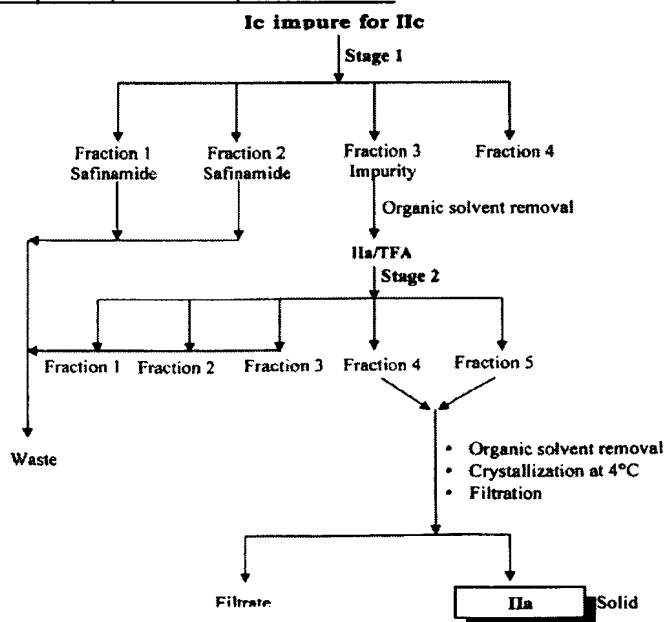
mida NH₂), 9,02 (2H, amplo, NH₂⁺).

¹³C-RMN: (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm): 15,9 (CH₃), 35,5 (CH₂), 39,7 (CH₃SO₃H), 48,1 (CH₂NR), 54,4 (CH), 68,4 (OCH₂), 112,2 (CH aromático), 112,7 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 113,8 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 114,5 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 115,2 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 123,2 (CH aromático), 123,8, 124,6 (CH aromático), 128,7 e 130,0 (d, J_{C-F} = 6 Hz, CH aromático), 130,04 (CH aromático), 130,3 (d, J_{C-F} = 6 Hz, CH aromático), 132,6 (CH aromático), 139,8 (d, J_{C-F} = 7 Hz), 143,4 (d, J_{C-F} = 7 Hz), 158,1, 160,5 e 163,7 (d, J_{C-F} = 240 Hz, C-F), 160,6 e 163,8 (d, J_{C-F} = 240 Hz, C-F), 170,5 (CON).

Uma amostra (90 mg) de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIa) é isolada também por HPLC preparativo de 200 g de metanossulfonato de safinamida (Ic) preparado de acordo com J. Med. Chem., 1998, 41, 579, método A, que o contém, como metanossulfonato (IIc) em 0,12% do peso.

A separação é executada em dois estágios (Estágio 1 e Estágio 2), de acordo com o seguinte esquema:

Isolamento de IIa por HPLC preparativo de metanossulfonato de safinamida (Ic) contaminado por 0,12% do peso de IIc



O escopo do primeiro estágio é isolar um produto bruto enriquecido com IIa/TFA (ácido trifluoracético).

As condições HPLC preparativas são relatadas abaixo:

Condições HPLC preparativas:

- 5 Instrumento: Waters Delta Prep 4000 (bomba recíprocante, controlador de gradiente com misturador de baixa pressão)
- Base LC Prep de Módulo de Compressão Radial (Waters)
- Detector Variável de UV Jasco 7125, o.p. 0,2 mm
- Impressora-plotadora Merk D2000
- 10 Coluna: Delta Pak C18, 15 µm, 40 x 100 mm (Waters)
- Eluente A: 70/30, Água/Acetonitrilo + 0,1% TFA
- Eluente B: 30/70, Água/Acetonitrilo + 0,1% TFA
- Taxa de Fluxo: 27,0 ml/min
- Gradiente: 40 min, isocrático com 100% de A, então para 100% de B em 1 minuto
- 15 Detecção: UV 227 nm
- Injeção: 5 g em 50 ml de água (por linha D de admissão de bomba)

Estágio 2

- 20 Esse estágio é necessário para eliminar TFA de IIa/TFA e para adicionalmente purificar IIa.

IIa/TFA é cromatografado usando as condições de HPLC preparativas dadas abaixo.

- 25 As frações 4 e 5 são combinadas juntas e evaporadas a 40° C sob vácuo até a remoção completa de acetonitrilo. A solução de água residual é mantida em um refrigerador a 4° C. O insolúvel é isolado por filtração e seco sob vácuo em temperatura ambiente para fornecer IIa (90 mg; 100% de pureza de HPLC).

Condições HPLC Preparativas:

- 30 Instrumento: Waters Delta Prep 4000 (bomba recíprocante, controlador de gradiente com misturador de baixa pressão)
- Detector Variável de UV Jasco 7125, o.p. 0,2 mm

Impressora-plotadora Merk D2000

Coluna: Symmetry C18, 15 μ m, 20 x 250 mm (Waters)

Eluente A: 70/30, Água/Acetonitrilo

Eluente B: 30/70, Água/Acetonitrilo

5 Taxa de Fluxo: 15,0 ml/min

Gradiente: 20 min, isocrático com 100% de A, então para 100% de B em 10 minutos

Deteção: UV 227 nm

10 Injeção: 50 ml de solução de impureza "IIa/TFA" (por linha D de admissão de bomba)

Exemplo 11

Preparação de Metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIId)

a) 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído

15 É preparado seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 10, etapa (a) em uma escala 1:10, mas usando cloreto de 2-fluorbenzila ao invés de cloreto de 3-fluorbenzila. O rendimento molar é 3% com uma pureza 98,1 determinada por análise CG (% de área, ver Exemplo 16A). O produto tem m.p. 71° C (capilar).

20 ^1H -RMN: (CDCl_3 , 300 MHz, 298K) δ (ppm, com relação a TMS): 4,06 (2H, s, CH_2), 5,23 (2H, s, OCH_2), 6,95 – 7,40 (9H, m, H aromático), 7,67 (1H, bd, $J = 0,9$ Hz, orto-H aromático para $\text{C}=\text{O}$ e CH_2), 7,76 (1H, dd, $J_1 = 2,1$ Hz, $J_2 = 8,3$ Hz, orto-H aromático para $\text{C}=\text{O}$ e CH aromático), 9,84 (1H, s, CHO).

25 ^{13}C -RMN: (CDCl_3 , 75,4 MHz, 298K) δ (ppm): 29,2 (CH_2), 64,1 (OCH_2), 111,4 (CH aromático), 115,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 22$ Hz, CH aromático), 115,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 21,1$ Hz, CH aromático), 123,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 14,2$ Hz, C aromático quaternário), 124,1 (d, $J_{\text{C-F}} = 2,6$ Hz, CH aromático), 124,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,2$ Hz, CH aromático), 126,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 15,5$ Hz, C aromático quaternário), 128,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 8,1$ Hz, CH aromático), 129,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 6,2$ Hz, CH aromático), 130,0 (C aromático quaternário), 130,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 8,3$ Hz, CH aromático), 131,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 4,1$ Hz, CH aromático), 131,8 (CH aromático); 160,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 246,8$ Hz, C

30

aromático quaternário), 161,2 (d, J_{C-F} = 245,1 Hz, C aromático quaternário), 161,3 (C aromático quaternário); 191,1 (CHO).

b) (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIb)

(S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-

- 5 fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é preparada seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 10, etapa (b) usando 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído ao invés de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído. O rendimento é 83%; m.p. 161° C (capilar).

^1H -RMN: (CDCl_3 , 300 MHz, 298K) δ (ppm, com relação a TMS):

- 10 1,32 (3H, d, J = 6,7 Hz, CH_3), 1,97 (1H, bs, NH), 3,22 (1H, q, J = 6,7 Hz, CH-CO), 3,67 (2H, Abq, J = 12,8 Hz, H diastereotópico de NCH_2), 4,03 (2H, s, CH_2), 5,12 (2H, s, OCH_2), 5,98 (1H, bs, NH_2), 6,89 (1H, d, J_{orto} = 8,3 Hz, orto-H aromático a CH_2NH e CH aromático), 6,95 – 7,40 (10H, m, H aromático).

^{13}C -RMN: (CDCl_3 , 75,4 MHz, 298K) δ (ppm): 19,6 (CH_3), 29,2

- 15 (CH_2), 52,0 (NHCH_2), 57,7 (H_2NCOCH), 63,8 (OCH_2), 111,7 (CH aromático), 115,2 (d, J_{C-F} = 21,9 Hz, CH aromático), 115,3 (d, J_{C-F} = 21,3 Hz, CH aromático), 124,0 (d, J_{C-F} = 3,5 Hz, CH aromático), 124,3 (d, J_{C-F} = 2,9 Hz, CH aromático), 124,3 (d, J_{C-F} = 14,4 Hz, C aromático quaternário), 127,5 (CH aromático), 127,6 (d, J_{C-F} = 15,0 Hz, C aromático quaternário), 127,8 (d, J_{C-F} = 7,5 Hz, CH aromático), 128,8 (C aromático quaternário), 129,0 – 130,0 (m, 2 CH aromáticos), 130,5 (CH aromático), 131,3 (d, J_{C-F} = 4,6 Hz, CH aromático), 131,8 (C aromático quaternário), 155,6 (C aromático quaternário), 160,4 (d, J_{C-F} = 245,8 Hz, C aromático quaternário), 161,2 (d, J_{C-F} = 244,6 Hz, C aromático quaternário), 178,2 (CONH_2).

- 25 c) metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIId)

- O metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é preparado seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 10, etapa (c), mas usando (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida como o material de partida. O
- 30 rendimento é 89%; m.p. 190° C (capilar).

^1H -RMN: (DMSO-d_6 , 300 MHz, 298K) δ (ppm, com relação a

TMS): 1,42 (3H, d, $J = 6,8$ Hz, CH_3CH), 2,33 (3H, s, CH_3SO_3), 3,50 – 4,20 (5H, m, CH-CO , CH_2 , H diastereotópico de NCH_2), 5,19 (2H, s, OCH_2), 6,95 – 8,00 (11H, m, H aromático), 9,02 (2H, bs, NH_2^+).

^{13}C -RMN: (DMSO-d_6 , 75,4 MHz, 298K) δ (ppm): 16,5 (CH_3), 28,8 (CH_2), 48,6 (NHCH_2), 54,9 (H_2NCOCH), 64,3 (OCH_2), 112,8 (CH aromático), 115,0 – 117,0 (2 CH aromáticos), 124,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 14,4$ Hz, C aromático quaternário), 124,4 (C aromático quaternário), 124,8 (CH aromático), 125,0 (CH aromático), 127,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 16,1$ Hz, C aromático quaternário), 128,6 (C aromático quaternário), 128,8 (CH aromático), 129,0 – 133,0 (m, 5 CH aromáticos), 156,9 (C aromático quaternário), 160,8 (d, $J_{\text{C-F}} = 245,2$ Hz, C aromático quaternário), 160,9 (d, $J_{\text{C-F}} = 243,5$ Hz, C aromático quaternário), 171,1 (CONH_2).

Exemplo 12

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ic) a partir de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) contaminado por 1% do peso de impureza 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va)

A 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (10 g, pureza CG 98,9, % de área), 1% de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é adicionado e a mistura é convertida na base (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida safinamida seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 6. O rendimento é 84% com um teor de impureza (IIa) de 0,84% (Ver Exemplo 17B) do peso.

A base livre (S)-2-[4-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) é convertida no metanossulfonato correspondente seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 7 para fornecer o metanossulfonato (Ic) em 98% de rendimento com um teor de impureza de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIc) de 0,62% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

Exemplo 13

Cristalização de metanossulfonato de safinamida (Ic) contaminado por impureza (IIc)

O metanossulfonato de safinamida contaminado por metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIc) de 0,62% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B), obtido de acordo com o Exemplo 12, é cristalizado usando cinco diferente(s) sistemas de solvente(s) dissolvendo em temperatura de refluxo e resfriando em temperatura ambiente.

Os resultados são relatados na seguinte Tabela 5

Tabela 5

Teste No.	Sistema e quantidade de solvente	% de peso de IIc em Ic depois de cristalização	% de Rendimento Molar
13a	2-PrOH/MeOH 2:1, 45	0,28	44,9
13b	EtOAc/MeOH 4:1, 50	0,15	29,6
13c	EtOH, 10	0,30	73,2
13d	Acetona/H ₂ O ~27:1, 40,5	0,08	20,6
13e	Acetonitrilo/H ₂ O 60:1, 30,5	0,09	69,3

(*) a % (de peso) é avaliada de acordo com o Exemplo 17B.

10 Exemplo 14

Preparação de metanossulfonato de (S)-2[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safinamida, Ia) (Ic) de acordo com os métodos descritos na técnica anterior.

14.1. Preparação de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa)

15 14.1.a) Procedimento do Exemplo 1a de US 6.335.354 B2.

4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) é preparado pelo procedimento descrito no Exemplo 1a de US 6.335.354 B2.

Conseqüentemente, uma mistura de cloreto de 3-fluorbenzil (2,86 g, 19,80 mmol), 4-hidroxibenzaldeído (3,03 g, 24,80 mmol), K₂CO₃ (10,30 g, 74,50 mmol), NaI (137,1 mg, 0,91 mmol), e etanol (40 mL) é aquecida a refluxo em 70 minutos e mantida em temperatura de refluxo por 4 horas e 15 minutos.

Depois de desenvolver a mistura reacional, 4-(3-

fluorbenziloxi)benzaldeído é isolado como um óleo amarelo em rendimento de 95%.

O produto tem pureza CG de 97,6 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va) de 0,14% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B).

14.1.b) Procedimento de J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979

4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) é preparado pelo procedimento relatado em J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979.

Conseqüentemente, cloreto de 3-fluorbenzil (14,5 g, 100 mmol) é adicionado sob agitação e sob atmosfera de nitrogênio a uma solução de 4-hidroxibenzaldeído (12,2 g, 100 mmol) e de NaOH (4,0 g, 100 mmol) em etanol (100 mL).

A mistura é gradualmente aquecida em 25 minutos a refluxo e agitada em temperatura de refluxo por 6 horas e 20 minutos. A mistura reacional é filtrada e então concentrada em pressão reduzida para obter 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (23,43 g) como um resíduo sólido amarelo. Diclorometano (250 mL) é adicionado ao resíduo, o insolúvel é filtrado e a solução resultante é concentrada sob pressão reduzida para fornecer 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído como um sólido amarelo, em rendimento de 80,4%. O produto tem pureza CG de 91,6 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va) de 0,13% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B).

14.2. Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) e seu sal de metanossulfonato (Ic)

14.2.a) Procedimento de J. Med. Chem., 1998, 41, 579, método A

(S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) é preparada reagindo-se 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (10 mmol), preparado como descrito no Exemplo 14.1.a, e hidrocloreto de L-alaninamida (1,37 g, 11 mmol) seguido por redução com NaBH_3CN (0,50 g, 8 mmol). Depois de desenvolver a mistura reacional e depois da purificação por cromatografia rápida, (S)-2[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é isolado como sólido branco em rendimento de 68,7%. O produto tem pureza HPLC de 96,2 (% de

área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIa) de 0,15% do peso (ver Exemplo 17B).

Uma mistura de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]-
5 propanamida (1,50 g, 4,96 mmol) e acetato etílico (40,2 mL) é aquecida a 50° C até que a solução clara é obtida. Ácido metanossulfônico (0,53 g, 5,51 mmol) é adicionado sob agitação em 15 minutos à solução e a mistura heterogênea resultante é resfriada sob agitação a 20° C em 90 minutos. Depois de 30 minutos a 20° C, o sólido é coletado por filtração, lavado com
10 acetato etílico (6 mL) e seco a 50° C em pressão reduzida por 15 horas para fornecer metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]-propanamida (Ic) como um sólido branco em um rendimento de 96,1%. O produto tem pureza HPLC de 98,6 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIc) de 0,10% do peso determinado por HPLC (ver Ex-
15 xemplo 17B).

14.2.b) Procedimento de J. Med. Chem., 1998, 41, 579, método A

(S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) é preparada de acordo com o exemplo 14.2.a a partir de 4-(3-
20 fluorbenziloxi)benzaldeído (10 mmol), preparado como descrito no Exemplo 14.1.b., e hidrocloreto de L-alaninamida (1,37 g, 11 mmol) seguido por redução com NaBH₃CN (0,50 g, 8 mmol).

(S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia), é obtido como sólido branco em rendimento de 66,5%. O produto tem pureza HPLC
25 de 88,5 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIa) de 0,064% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B). (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) é convertido no metanossulfonato correspondente (Ic) em um rendimento de 88,9% por tratamento com áci-
30 do metanossulfônico de acordo com o Exemplo 14.2.a. O produto tem uma pureza HPLC de 97,7 (% da área, ver Exemplo 17A) e um teor de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-

fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIc) de 0,05% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

Exemplo 15

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida, Ib) (Id) de acordo com os métodos descritos na técnica anterior

15.1. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb)

15.1.a) Procedimento do Exemplo 1a de US 6.335.354 B2

4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) é preparado de acordo com o Exemplo 14.1.a a partir de cloreto de 2-fluorbenzil (14,3 g, 98 mmol), 4-hidroxibenzaldeído (15,1 g, 123 mmol), K₂CO₃ (51g, 369 mmol), NaI (500 mg, 3,3 mmol), e 75 mL de etanol.

A mistura é mantida a refluxo por 12 horas. Depois de desenvolver a mistura reacional, (2-fluorbenziloxi)benzaldeído é obtido em rendimento de 75% como um óleo amarelo. O produto tem pureza CG de 92,1 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,25% do peso determinado por C.G. (ver Exemplo 16B).

15.1.b) Procedimento de J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979

4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) é preparado de acordo com o Exemplo 14.1.b a partir de cloreto de 2-fluorbenzila (18,0 g, 123 mmol), 4-hidroxibenzaldeído (15,3 g, 125 mmol), NaOH (5,0 g, 12 mmol) e etanol (125 mL).

A mistura é aquecida em 25 minutos a refluxo e mantida em temperatura de refluxo sob agitação por 12 horas.

Depois de desenvolver a mistura reacional de acordo com o Exemplo 14.1.b, 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é obtido como um sólido amarelo, em rendimento de 90,0%. O produto tem pureza CG de 90,4 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (Vb) de 0,14% do peso determinado por C.G. (ver Exemplo 16B).

15.2. Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propionamida (Ib)

e seu sal metanossulfonato (Id)

15.2.a) Procedimento de J. Med. Chem, 1998, 41, 579, método A

(S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (Ib) é preparada seguindo o procedimento do Exemplo 14.2.a usando 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído (10 mmol, preparado como no Exemplo 15.1.a) ao invés de 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído.

(S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é obtida em 67,3% de rendimento como um sólido branco. O produto tem uma pureza HPLC de 86,7 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (Iib) de 0,22% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

Uma mistura de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (1,50 g, 4,96 mmol) e propan-2-ol (10,5 mL) é aquecido a 50° C e mantido nessa temperatura até que uma solução clara é obtida. O ácido metanossulfônico (0,48 g, 5,01 mmol) é adicionado sob agitação durante 15 minutos.

A mistura heterogênea é então resfriada sob agitação a 20° C em 2 horas. Depois de 1 hora a 20° C, o sólido é coletado por filtração, seco em pressão reduzida para fornecer metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida como sólido branco em rendimento de 89,1%. O produto tem uma pureza HPLC de 96,9 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (IId) de 0,14% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

15.2.b) Procedimento de J. Med. Chem. 1988, 41, 579, Método A

(S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (Ib) é preparada de acordo com o Exemplo 14.2.b usando 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído (10 mmol, preparado de acordo com o Exemplo 15.1.b) ao invés de 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído.

(S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é obtida como um sólido branco em rendimento de 58,8%. O produto tem uma pureza HPLC de 83,8 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(2-

fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (Ib) de 0,15% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

- 5 (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (Ib) é convertida no metanossulfonato correspondente (Id) em um rendimento de 89,4% como um sólido branco. O produto tem uma pureza HPLC de 95,2 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de metanossulfonato de S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida de 0,11% do peso determinado por HPLC (Ver Exemplo 17B).

Exemplo 16A

- 10 Determinação CG de pureza de 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído e 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído

Preparação Teste

Dissolve-se aproximadamente 100 mg da amostra em 10 ml de cloreto de metileno.

- 15 Condições Cromatográficas

O procedimento cromatográfico é executado usando-se:

- Coluna capilar de sílica fundida de 60 m de comprimento e 0,32 mm de diâmetro interno. Espessura da Película RTX 35 (35% de Difetil – 65% de dimetil polisiloxano) = 0,25 µm,
- 20 - hélio como gás carreador em uma pressão de 150 kPa,
- fluxo de separação de 25 ml/min,
- temperatura do injetor 290° C,
- temperatura do detector (FID) 290° C,

com o seguinte programa de temperatura:

Tempo (min)	Temperatura (°C)	Taxa (°C/min)	Comentário
0 – 5	150	-	Isotérmica
5 – 11	150 -> 240	15	Gradiente linear
11 – 19	240	-	Isotérmica
19 – 20,7	240 -> 290	30	Gradiente linear
20,7 - 40	290	-	isotérmica

- 25 Procedimento

Injeta-se 1 µl da Preparação Teste. Grava-se o cromatograma e calcula-se a pureza do produto por porcentagem de área.

Identificação de Impurezas

4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa):

Tempos de Retenção:

O tempo de retenção de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 17.

O tempo de retenção relativo de 4-hidroxibenzaldeído é aproximadamente 0,52.

O tempo de retenção relativo de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 0,98.

O tempo de retenção relativo de 4-(4-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,01.

O tempo de retenção relativo de 4-benziloxibenzaldeído é aproximadamente 1,02.

O tempo de retenção relativo de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,78.

4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb):

Tempos de Retenção:

O tempo de retenção de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 17.

O tempo de retenção relativo de 4-hidroxibenzaldeído é aproximadamente 0,53.

O tempo de retenção relativo de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,02.

O tempo de retenção relativo de 4-(4-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,03.

O tempo de retenção relativo de 4-benziloxibenzaldeído é aproximadamente 1,04.

O tempo de retenção relativo de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,81.

Exemplo 16B

Determinação CG do teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (Vb) em 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) e de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-

fluorbenziloxi)benzaldeído (Va) em 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa)

O substância referida conhecida levada em consideração para 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é o 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído e para 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é o 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído. A determinação é executada de acordo com as seguintes condições:

Solução Padrão Interna

Prepara-se uma solução de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído com concentração de 1,5 mg/ml em cloreto de metileno (IS).

10 Solução de referência para a determinação de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído no 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído:

Pesa-se precisamente 20 mg do padrão de referência 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído e 20 mg de padrão de referência 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído em um frasco volumétrico de 20 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido, transfere-se 500 µL dessa solução para um frasco volumétrico de 5 mL, adiciona-se 500 µL de solução IS e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido para obter uma solução contendo 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído e 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído em aproximadamente 100 µg/mL (correspondendo a aproximadamente 0,10%).

20 Solução de referência para a determinação de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído:

Pesa-se precisamente 20 mg do padrão de referência 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído e 20 mg de padrão de referência 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em um frasco volumétrico de 20 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido, transfere-se 500 µL dessa solução para um frasco volumétrico de 5 mL, adiciona-se 500 µL de solução IS e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido para obter uma solução contendo 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído e 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em aproximadamente 100 µg/mL (correspondendo a aproximadamente 0,10%).

Solução Teste:

Pesa-se precisamente 500 mg do produto teste em um frasco volumétrico de 5 mL, adiciona-se 500 µL de solução IS, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido para que se obtenha uma solução tendo concentração conhecida de aproximadamente 100 µg/mL.

Condições Cromatográficas:

O procedimento cromatográfico é executado usando-se:

- Coluna: coluna capilar de sílica fundida RTX 35 (35% de Difetil – 65% de dimetil polisiloxano) de 60 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno, espessura da película de 0,25 µm,
- Carreador (hélio) em uma pressão de 150 kPa,
- fluxo de separação de 25 ml/min,
- temperatura do injetor 290° C,
- temperatura do detector (FID) 290° C,
- Programa de temperatura: 0 – 5 min, isotérmica a 150° C, 5 – 11 min, linear de 150° C a 240° C em uma taxa de 15° C/min, 11 – 19 min, isotérmica a 240° C, 19 – 21 min, linear de 240° C a 290° C em uma taxa de 30° C/min, 21 – 40 min, isotérmica a 290° C,
- diluente: cloreto de metileno
- volume de injeção: 1 µL.

Procedimento:

Injeta-se branco (diluente), solução de referência, solução teste e grava-se os cromatogramas.

No cromatograma de referência verifica-se que:

- O tempo de retenção de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 18 min,

O tempo de retenção relativo de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,7,

ou

- O tempo de retenção de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 18 min,

O tempo de retenção relativo de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-

fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,7.

O tempo de retenção de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído (IS) é aproximadamente 0,7.

Calcula-se o teor percentual de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído em 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído examinado ou do 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído examinado por cálculo padrão interno.

O valor do limite de quantitação (LOQ) para 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído e para 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é 0,005% do peso. O valor do limite de detecção (LOD) para ambas as impurezas consideradas é 0,0025% do peso.

Exemplo 17A

Determinação HPLC de pureza de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safinamida), seu metanossulfonato, (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida) e seu metanossulfonato.

O seguinte procedimento cromatográfico é adequado para ambas a forma de base livre e o sal metanossulfonato dos produtos.

Diluyente:

20 Fase móvel.

Solução Teste

Pesa-se precisamente 25 mg do produto teste em um frasco volumétrico de 25 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido para que se obtenha uma solução tendo concentração conhecida de aproximadamente 1,0 mg/mL.

Condições Cromatográficas:

O procedimento cromatográfico é executado usando-se:

- Coluna: Waters Symmetry C8, 150 x 4,6 mm, 5 µ,
- detecção: UV 220 nm,
- 30 - temperatura da coluna: 30° C,
- fase móvel: 40% de solvente A + 10% de solvente B + 50% de solvente C, contendo 1,0 g/l de octanossulfonato de sódio,

Solvente A: solução tampão = KH_2PO_4 0,05M,

Solvente B: Acetonitrilo,

Solvente C: Metanol,

- eluição isocrática, tempo de execução: 60 minutos,

5 - taxa de fluxo: 1,0 ml/min,

- volume de injeção: 10 μl .

Procedimento:

Injeta-se na solução teste, grava-se o cromatograma e calcula-se a pureza do produto por porcentagem de área.

10 (S)-2[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safinamida) e identificação de impurezas relacionadas

Tempo de Retenção:

O tempo de retenção de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,5 min.

15 O tempo de retenção relativo do ácido (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propiónico é aproximadamente 0,73.

O tempo de retenção relativo de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 4,08.

20 (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida) e identificação de impurezas relacionadas

Tempo de Retenção:

O tempo de retenção de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,5 min.

25 O tempo de retenção relativo do ácido (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propiónico é aproximadamente 0,73.

O tempo de retenção relativo de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 4,08.

Exemplo 17B

30 Determinação HPLC de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre, IIb e metanossulfonato, IIId) em (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre, Ib e metanossulfonato, Id) e de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-

fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre IIa e metanossulfonato, IIc) em (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre, Ia e metanossulfonato, Ic)

A determinação de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) em amostras de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) e de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) em amostras de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) é executada de acordo com as seguintes condições:

Solução de referência para a determinação de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida:

Pesa-se precisamente 30 mg de padrão de referência metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e 20 mg de padrão de referência (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em um frasco volumétrico de 50 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido; dilui-se 1,0 mL dessa solução em 20 mL com diluente (1ª diluição), dilui-se 1,0 mL da última solução em 20 mL com diluente (2ª diluição) para obter uma solução contendo 2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (aproximadamente 0,12%) em aproximadamente 1,20 µg/mL e metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

Solução de referência para a determinação de metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida:

Pesa-se precisamente 30 mg de padrão de referência metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e 20 mg de padrão de referência metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em

um frasco volumétrico de 50 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido; dilui-se 1,0 mL dessa solução em 20 mL com diluente (1ª diluição), dilui-se 1,0 mL da última solução em 20 mL com diluente (2ª diluição) para se obter uma solução contendo 2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (aproximadamente 0,15% como sal metanossulfônico) em aproximadamente 1,20 µg/mL e metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

Solução de referência para a determinação de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida:

Pesa-se precisamente 24 mg de padrão de referência (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e 20 mg de padrão de referência (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em um frasco volumétrico de 50 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido; dilui-se 1,0 mL dessa solução em 20 mL com diluente (1ª diluição), dilui-se 1,0 mL da última solução em 20 mL com diluente (2ª diluição) para se obter uma solução contendo 2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (aproximadamente 0,12%) em aproximadamente 1,20 µg/mL e metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

Solução de referência para a determinação de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida:

Pesa-se precisamente 24 mg de padrão de referência (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e 20 mg de padrão de referência (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em um frasco volumétrico de 50 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido; dilui-se 1,0 mL dessa solução em 20 mL com diluente (1ª diluição), dilui-se 1,0 mL da última solução em 20 mL com diluente (2ª diluição) para se obter uma solução contendo 2-[3-(3-

fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (aproximadamente 0,15% como sal metanossulfônico) em aproximadamente 1,20 µg/mL e metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida em aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

5 Solução Teste:

Pesa-se precisamente 25 mg do produto teste em um frasco volumétrico de 25 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido para que se obtenha uma solução tendo concentração conhecida de aproximadamente 1,0 mg/mL.

10 Condições Cromatográficas:

O procedimento cromatográfico é executado usando-se:

- Coluna: Waters Symmetry C8, 150 x 4,6 mm, 5 µ, ou equivalente

- temperatura da coluna: 30° C,

15 - fase móvel: 40% de solvente A : 10% de solvente B : 50% de solvente C, contendo 1,0 g/l de octanossulfonato de sódio,

Solvente A: solução tampão = 0,05M KH₂PO₄,

Solvente B: Acetonitrilo,

Solvente C: Metanol,

20 - eluição isocrática,

- tempo de execução: 60 minutos,

- taxa de fluxo: 1,0 ml/min,

- detecção: UV 220 nm,

- volume de injeção: 100 µl,

25 - diluente: fase móvel.

Procedimento:

Injeta-se branco (diluente), solução de referência, solução teste e grava-se os cromatogramas.

30 No cromatograma de referência verifica-se os seguintes parâmetros de adequabilidade ao sistema:

O tempo de retenção de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,2 minutos,

O alargamento USP para o pico de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida está na faixa entre 0,8 e 1,5,

O tempo de retenção relativo de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,1.

5 ou

O tempo de retenção de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,5 minutos,

O alargamento USP para o pico de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida está na faixa entre 0,8 e 1,5,

10 O tempo de retenção relativo de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 4,1.

Ajusta-se a fase móvel de modo a obter a adequabilidade do sistema.

Calcula-se o teor percentual de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) nas amostras examinadas de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) e de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) nas amostras examinadas de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) por cálculo padrão externo.

20 O valor do limite de quantitação (LOQ) para (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e para (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida nos correspondentes (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é 0,004% do peso. O valor do limite de quantitação (LOQ) para metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e para metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida nos correspondentes metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é 0,005% do peso. O valor do limite de detecção para todas as impurezas consideradas é 0,001% do peso.

Exemplo 18

Determinação HPLC de pureza enantiomérica de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida) (Id)

5 A pureza enantiomérica da amostra é avaliada por HPLC. A determinação é executada de acordo com o seguinte:

Solução Padrão 1:

Dissolve-se aproximadamente 5,3 mg de padrão de referência metanossulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em 25 mL de fase móvel.

10 Solução Padrão 2:

Dissolve-se aproximadamente 8,0 mg de padrão de referência metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e 0,2 mL de solução padrão 1 em 50 mL de fase móvel.

15 A concentração de metanossulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 0,5% calculada com relação à concentração de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida.

Soluções teste 1 e 2:

20 Em duplicata, dissolve-se aproximadamente 8,0 mg de produto teste em 50 mL de fase móvel.

Condições Cromatográficas:

- Coluna: Chiralpak WH, 250 x 4,6 mm, I.D. 5 µm,
- temperatura da coluna: 45° C,
- fase móvel: 0,25 mM de CuSO₄ (pesa-se precisamente 40 mg
- 25 de CuSO₄ em 1000 mL de água)/MeOH 60/40,
- eluição isocrática,
- taxa de fluxo: 1,0 ml/min,
- detecção: UV 230 nm,
- volume de injeção: 10 µl,
- 30 - tempo de execução: 15 minutos.

Procedimento:

Analisa-se branco (fase móvel) uma vez, solução padrão 2 duas

vezes, soluções teste 1 e 2 uma vez e verifica-se que:

- para as injeções padrão, o RSD% para a área percentual de metanossulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é menor do que 2,0%,

5 - para ambas as soluções padrão e de amostra, para cada injeção, a área percentual de pico principal é incluída entre o valor médio $\pm$ 0,1%.

10 Calcula-se o teor (área percentual) de metanossulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida como a média das duas determinações.

Tempos de Retenção:

O tempo de retenção de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,7 min.

15 O tempo de retenção relativo de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 1,7.

Exemplo 19

Determinação da pureza enantiomérica do metanossulfonato (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safinamida)

20 A pureza enantiomérica da amostra é avaliada por HPLC. A determinação acontece de acordo com as seguintes condições:

Solução Teste:

Dissolve-se aproximadamente 10 mg de amostra teste em 10 mL de fase móvel.

Condições Cromatográficas:

25 - Coluna: Chiralpak WH, 250 mm x 4,6 mm, I.D. 10 μ m,
 - temperatura da coluna: 50° C,
 - fase móvel: 0,25 mM de CuSO₄,
 - eluição isocrática,
 - taxa de fluxo: 1,0 ml/min,
 30 - detecção: UV 200 nm,
 - volume de injeção: 10 μ l,
 - tempo de execução: 30 minutos.

Procedimento:

Injeta-se a solução teste e calcula-se a resposta de pico enantiomérico como área percentual.

O tempo de retenção de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é aproximadamente 9,2 min.

O tempo de retenção relativo de (R)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é aproximadamente 1,9.

Exemplo 20Ensaio com Citocromo P450

A inibição das cinco isoformas mais importantes de Citocromo P450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, e CYP3A4), envolvidas no metabolismo de fármacos, foi medida usando substratos específicos que se tornam fluorescentes mediante o metabolismo de CYP (Kit de Ensaio Gen-test).

Os compostos foram testados em uma bandeja com 96 cavidades contendo tampão de incubação/regeneração NADPH. As isoenzimas e substratos recombinantes específicos de humano foram adicionados e incubados em 37° C por 15 minutos para CYP1A2/CEC, 40 minutos para CYP2E1/MFC, 45 minutos para CYP2C9/MFC e 30 minutos para os outros CYP450.

Os substratos específicos foram os seguintes: 3-ciano-7-etoxicumarina (CYP2C19 e CYP1A2), 7-metoxi-4-trifluormetilcumarina (CYP2C9), 3[2(N,N-dietil-N-metilamino)etil]-7-metoxi-4-metilcumarina (CYP2D6), benzilfenilcumarina (CYP3A4).

As placas foram lidas em um leitor de bandeja Victor (Perkin Elmer) nos comprimentos de onda de emissão/excitação adequados, e o IC₅₀ (concentração inibindo 50% da atividade da enzima) determinado. Os resultados são relatados nas Tabelas 1 e 2,

Exemplo 21

Ensaio de citotoxicidade em linhagem celular de neuroblastoma humano SH-SY-5Y

No tempo zero, as células foram distribuídas em 1,10⁴/cm² em

bandejas de 96 cavidades em meio de crescimento DMEM + 10% de FBS desativado por calor + 2 mM 1-Glutamina + 100U/mL – 100 µg/mL de Penicilina/Estreptomicina.

Depois de 72 horas em fase sub-confluyente de crescimento, o meio foi removido e as células foram incubadas por 24 horas a 37° C em 180 µl e meio neurobasal + 2mM de 1-Glutamina (Life Technologies) com ou sem compostos teste (20 µl, pelo menos 5 concentrações em triplicata).

No fim da incubação, 20 µl de corante Azul Alamar (AlamarBlue™ Assay Kit, Promega) foram diretamente adicionados ao meio celular.

Quatro horas depois, a citotoxicidade foi avaliada medindo-se a fluorescência em 530 nm de excitação e 595 nm de emissão usando leitor de bandejas Tecan Spectrafluor.

Antes e no fim do tratamento, as culturas foram monitoradas microscopicamente por um microscópio de luz invertida Olympus IX70 combinado com um Analisador de Imagem (Image Pro Plus, 5,1) para avaliar a morfologia celular.

Os resultados são expressos na Tabela 1 como concentração induzindo 50% de mortalidade.

Exemplo 22

Corrente HERG em linhagens celulares CHO transfectadas

A inibição de corrente HERG foi testada em células CHO estavelmente expressando canal HERG recombinante.

Para avaliar o efeito dos compostos teste em correntes HERG, as células foram fixadas a -80 Mv, despolarizadas a 0 mV por 5 segundos permitindo a ativação de corrente HERG e repolarizadas a -50 mV durante 5 segundos permitindo que a corrente de alargamento de HERG desative. Esse procedimento foi repetido em uma frequência de 0,06 Hz. A amplitude da corrente mediante a repolarização (corrente de alargamento de HERG) foi medida antes e depois da exposição ao composto teste.

A inibição de corrente foi calculada como a diferença entre a amplitude de corrente de alargamento de HERG medida no fim do período de perfusão de banho externo e a corrente de alargamento de HERG medi-

da no fim do período de perfusão do composto teste (quando o efeito de regime permanente é alcançado) dividido por corrente de alargamento de HERG de controle.

As curvas de concentração-inibição de fármaco foram obtidas plotando-se os blocos tônicos versus as concentrações de fármacos. As curvas de resposta a dose foram ajustadas aos dados de blocoônico, de acordo com a equação logística: $y = A2 + (A1 - A2)/[1 + (x/IC_{50})^P]$. A1 e A2 são valores fixos de 0 e 1 correspondentes a 0 e 100% de inibição de corrente, x é a concentração de fármaco, IC_{50} é a concentração de fármaco resultando em 50% de inibição de corrente e p é o fator de coeficiente angular correspondente. Os resultados são relatados na Tabela 1.

Exemplo 23

Teste de Eletrochoque Máximo (MES) em ratos

O teste de eletrochoque máximo (MES) é usado comumente no exame de fármacos anti-epiléticos em modelos de roedores.

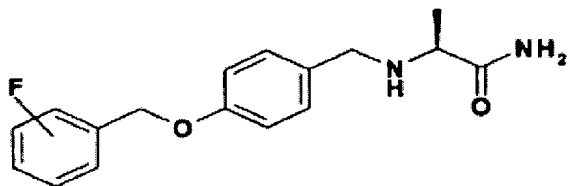
Animais e Aparelho: Ratos CD1 machos pesando 25 g foram usados. O procedimento descrito por White e outros (White H. S., Woodhead J. H., Franklin M. R., Swinyard E. A., e Wolf H. H., Antiepileptic Drugs (1995), 4ª Ed.: 99 – 110, Raven Press, Ltd., Nova Iorque) foi seguido. Um gerador eletroconvulsivo Ugo Basile (Modelo ECT UNIT 7801) foi usado para liberar um estímulo elétrico suficiente para produzir uma resposta de extensorônico dos membros posteriores em ao menos 97% de animais de controle. O estímulo foi liberado de forma intra-audível através de eletrodos de garras em ratos (0,7 segundos de um choque de 40 mA, com um trem de pulsos de 80 Hz tendo uma duração de pulsos de 0,4 ms). O efeito agudo de compostos administrados de forma intraperitoneal ou oral 15 – 60 minutos antes de indução MES foi examinado e comparado com um grupo de controle de veículo. Dez ratos foram estudados por grupo. A supressão completa do componente extensorônico dos membros posteriores de convulsões foi tomada como evidência de atividade anti-convulsiva.

Os compostos da invenção foram administrados de forma oral ou intraperitoneal nas doses de 3 – 30 mg/kg.

Os resultados são expressos nas Tabelas 3 e 4 como porcentagem de proteção.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para produzir (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safinamida) e (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida) com alto grau de pureza de fórmula (Ia) e (Ib)

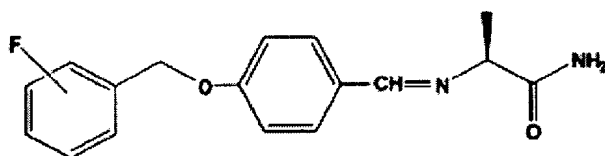


5

safinamida (Ia): 3-F

ralfinamida (Ib): 2-F

e seus sais com um ácido farmacologicamente aceitável, caracterizado pelo fato de que um intermediário de base de Schiff respectivamente de fórmula (VIa) ou (VIb)



(VIa): 3-F

(VIb): 2-F

10 é submetido à hidrogenação catalítica com gás hidrogênio na presença de um catalisador heterogêneo em um solvente orgânico prótico e, quando safinamida ou ralfinamida são obtidas em uma forma de base livre, opcionalmente convertendo a dita forma de base livre em um sal dessa com um ácido farmacologicamente aceitável.

15 2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a hidrogenação catalítica é executada usando um catalisador heterogêneo selecionado a partir de catalisadores de níquel, ródio, platina, e paládio em um suporte inerte na presença de um solvente selecionado a partir de (C₁-C₅)alcanóis alifáticos inferiores, preferencialmente metanol, etanol, isopropanol.

20

3. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o catalisador é um catalisador de paládio ou platina, preferencialmente um catalisador de platina.

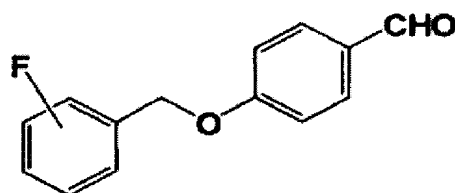
4. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o catalisador é Pt/C 5% úmido (50% de H₂O) ou Pd/C 10% úmido (50% de H₂O), preferencialmente Pt/C 5% úmido (50% de H₂O).

5 5. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que o ácido farmaceuticamente aceitável é ácido metanossulfônico.

6. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a pressão de hidrogênio está compreendida entre 1 e 10 bars e a temperatura está compreendida entre 10° C e 70° C.

7. Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a pressão de hidrogênio está compreendida entre 3 e 6 bars e a temperatura está compreendida entre 25° C e 40° C.

8. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que a hidrogenação catalítica é executada em um intermediário de base de Schiff (VIa) ou (VIb) que foi preparado através de iminoalquilação de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb)



(IVa):3-F (IVb):2-F

com L-alaninamida na presença de um solvente orgânico prótico.

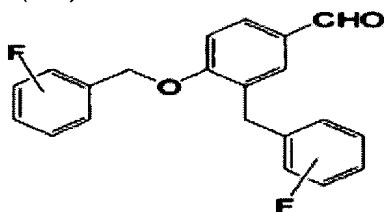
20 9. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a L-alaninamida é empregada como um sal com adição de ácido dessa na presença de uma base em uma quantidade suficiente para obter L-alaninamida livre a partir de seu sal.

25 10. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a hidrogenação catalítica do intermediário de base de Schiff é executada na mesma mistura reacional resultante do término da reação de iminoalquilação sob condições que causam precipitação do dito intermediário.

rio de base de Schiff para obter uma suspensão do dito intermediário no mesmo solvente reacional.

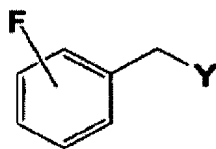
11. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o intermediário de base de Schiff resultante do término da reação de iminoalquilação é isolado antes de passar pela etapa de hidrogenação catalítica.

12. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído ou 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído de fórmula (IVa) ou (IVb) empregado como o material de partida para obter o intermediário de base de Schiff de fórmula (VIa) ou (VIb) contém menos de 0,03%, preferencialmente 0,01% ou menos (do peso), das respectivas impurezas 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va) e 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (Vb).



(Va): 3-F (Vb): 2-F

13. Processo, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que o 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) é obtido por alquilação de 4-hidroxibenzaldeído com, respectivamente, um derivado de 3-fluorbenzil ou 2-fluorbenzil (IIIa) ou (IIIb)



(IIIa): 3-F

(IIIb): 2-F

onde Y é um grupo de saída incluindo Cl, Br, I, OSO_2CH_3 e $\text{OSO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-pCH}_3$ na presença de uma base e é submetido à cristalização antes do uso na etapa de reação sucessiva.

14. Processo de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que Y é Cl.

15. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 13 ou 14, caracterizado pelo fato de que a cristalização é executada adicionando-se um não solvente orgânico inerte a uma solução de 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVb) em um solvente orgânico inerte.

16. Processo de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o não solvente orgânico inerte é selecionado a partir de hidrocarbonetos alifáticos inferiores e o solvente orgânico inerte é selecionado a partir de hidrocarbonetos aromáticos.

17. Processo de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o hidrocarboneto alifático inferior é n-hexano e o hidrocarboneto aromático é tolueno.

18. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 13 ou 14, caracterizado pelo fato de que a cristalização é executada dissolvendo-se 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVb) em um solvente quente, preferencialmente, ciclohexano ou um di(C₃-C₄)alquil éter, mais preferencialmente, diisopropil éter em refluxo, e então resfriando-se a solução em temperatura ambiente, preferencialmente a 10 – 15° C.

19. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 13 a 18, caracterizado pelo fato de que a reação de alquilação é executada sob condições de transferência de fase.

20. Processo de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que a alquilação sob condição de transferência de fase é executada em um sistema sólido/líquido, onde os reagentes e o catalisador de transferência de fase são dissolvidos em uma fase orgânica líquida e a fase sólida é constituída por uma base inorgânica ou um sal de 4-hidroxibenzaldeído com a dita base inorgânica.

21. Processo de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que a alquilação sob condições de transferência de fase é exe-

cutada em um sistema líquido/líquido onde o reagente alquilante derivado de 3-fluorbenzil ou 2-fluorbenzil de fórmula (IIIa) ou (IIIb) é dissolvido em uma fase orgânica líquida e o 4-hidroxibenzaldeído é dissolvido em uma fase aquosa como um sal com uma base inorgânica.

5 22. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 19 a 21, caracterizado pelo fato de que o catalisador de transferência de fase é selecionado a partir de sais de amônio ou fosfônio quaternário ou polietileno glicóis de baixo peso molecular.

10 23. Processo de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que a quantidade de catalisador de transferência de fase está entre 0,02 a 1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldeído.

 24. Processo de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que a quantidade de catalisador de transferência de fase é 0,1 a 1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldeído.

15 25. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 24, caracterizado pelo fato de que o solvente orgânico da fase orgânica líquida é selecionado a partir de dialquil éteres e hidrocarbonetos aromáticos.

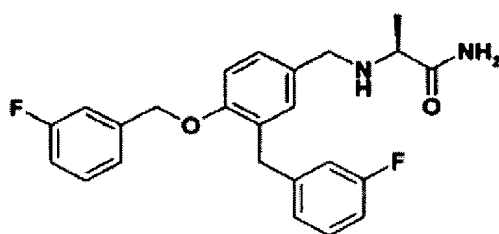
20 26. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 25, onde a relação molar entre o reagente alquilante de fórmula (IIIa) ou (IIIb) e 4-hidroxibenzaldeído está compreendida entre 0,6 e 1,5.

 27. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 26, onde a temperatura está entre 60° C e 160° C.

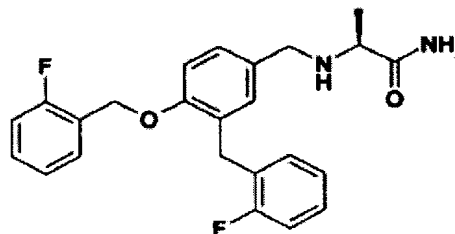
25 28. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 27, onde a base inorgânica é selecionada a partir de Na₂CO₃, K₂CO₃, NaOH e KOH, a temperatura está entre 80° C e 120° C, e a relação entre o reagente alquilante de fórmula (IIIa) ou (IIIb) e 4-hidroxibenzaldeído está compreendida entre 0,9 e 1,1.

30 29. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 28, onde a safinamida ou a ralfinamida ou seus sais com um ácido farmacologicamente aceitável têm um teor da respectiva impureza (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (IIa) e (S)-2-[3-(2-

fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (IIb)



(IIa)

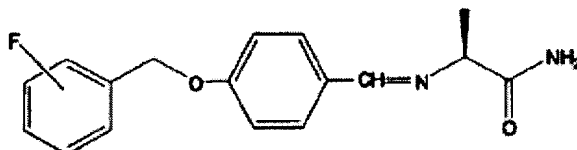


(IIb)

ou seus sais com um ácido farmacêuticamente aceitável inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso).

30. Processo, de acordo com a reivindicação 29, onde o ácido farmacêuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

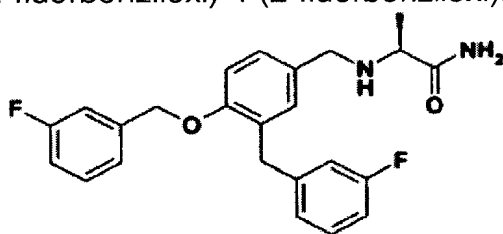
31. Base de Schiff isolada de fórmula (VIa) ou (VIb)



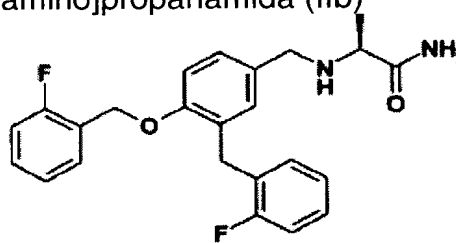
(VIa)

(VIb)

32. Safiamida ou ralfinamida com alto grau de pureza ou um sal dessas, caracterizada pelo fato de que se apresenta com um ácido farmacêuticamente aceitável com um teor da respectiva impureza (S)-2-[3-(3-fluorbenziloxy)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (IIa) e (S)-2-[3-(2-fluorbenziloxy)-4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (IIb)



(IIa)



(IIb)

ou um sal dessa com um ácido farmacêuticamente aceitável que é inferior a

0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso) para uso como medicamento.

33. Sal de safiamida ou ralfinamida com alto grau de pureza com um ácido farmaceuticamente aceitável para uso como medicamento, de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que o ácido farmaceuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

34. Uso de safinamida ou ralfinamida com alta pureza ou sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, onde a respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) da reivindicação 32 ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável é inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso), caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o tratamento de respectivamente (a) epilepsia, mal de Parkinson, mal de Alzheimer, depressão, síndrome das pernas inquietas e enxaqueca, ou (b) condições de dor, incluindo dor crônica e neuropática, enxaqueca, desordens bipolares, depressões, desordens cardiovasculares, inflamatórias, urogenitais, metabólicas e gastrointestinais sob condições que não estão interferindo com os citocromos do sistema CYP450, em particular, CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 e não exibem propriedades de bloqueio de canal HERG.

35. Uso de safinamida ou ralfinamida com alto grau de pureza ou sal dessas com um ácido farmaceuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o tratamento de desordens, como definido na reivindicação 34, em pacientes que são classificados como metabolizadores pobres (MP) ou para o tratamento terapêutico de pacientes que estão assumindo ao mesmo tempo outros fármacos que são conhecidos por interagirem com os citocromos do sistema CYP450 e/ou são conhecidos como tendo propriedades de bloqueio de canal HERG.

36. Uso de acordo com as reivindicações 34 e 35, caracterizado pelo fato de que o ácido farmaceuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com

ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

37. Uso de ralfinamida com alto grau de pureza ou um sal com adição de ácido farmacêuticamente aceitável, preferencialmente sal com ácido metanossulfônico, de acordo com qualquer uma das reivindicações 32 a 36, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o tratamento de uma desordem bipolar.

38. Formulação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 37, onde o ácido farmacêuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

39. Formulação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 37, que contém um ou mais agente(s) ativos adicionais em adição à safinamida ou ralfinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmacêuticamente aceitável, onde o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) da reivindicação 32 ou um sal dessa é inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso).

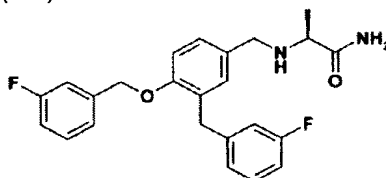
40. Formulação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 39, onde o ácido farmacêuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

41. Formulação farmacêutica contendo safinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmacêuticamente aceitável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 39 e 40, onde o agente ativo adicional é um agonista de dopamina e/ou levodopa e/ou um inibidor de catecol-O-metiltransferase (COMT).

42. Formulação farmacêutica contendo safinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmacêuticamente aceitável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 39 e 40, onde o agente ativo adicional é gabapentina ou pregabalina ou um sal com adição de ácido farmacêuticamente aceitável desse.

43. Método para tratar desordens CNS, em particular, epilepsia, mal de Parkinson, mal de Alzheimer, depressão, síndrome das pernas inqui-

etas, e enxaqueca compreendendo administrar a um paciente em necessidade desse tratamento uma quantidade eficaz de safinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, onde o teor da impureza (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino] propanamida de fórmula (IIa)



(IIa)

ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável é inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso).

44. Método, de acordo com a reivindicação 44, para o tratamento de mal de Parkinson ou síndrome das pernas inquietas que compreende administrar a um paciente em necessidade do dito tratamento uma quantidade eficaz de safinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, onde o teor da impureza de fórmula (IIa) ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável é inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso), opcionalmente em conjunto com um ou mais agente(s) ativos de mal de Parkinson.

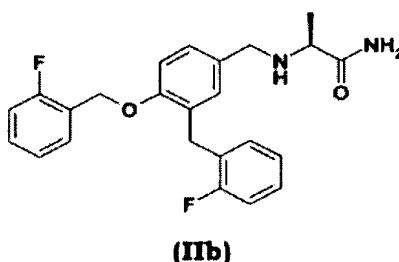
45. Método, de acordo com a reivindicação 44, onde o agente ativo do mal de Parkinson é um agonista de dopamina e/ou levodopa e/ou um inibidor de catecol-O-metiltransferase (COMT).

46. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 44 a 45, onde o ácido farmaceuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

47. Método, de acordo com a reivindicação 43, onde o paciente em necessidade do tratamento é classificado como metabolizador pobre (MP) ou está assumindo ao mesmo tempo outros fármacos que são conhecidos por interagirem com os citocromos do sistema CYP450 e/ou são conhecidos por terem propriedades de bloqueio de canal HERG.

48. Método para tratar condições de dor incluindo dor crônica e

neuropática, enxaqueca, desordens bipolares, depressões, desordens cardiovasculares, inflamatórias, urogenitais, metabólicas e gastrointestinais compreendendo administrar a um paciente em necessidade desse uma quantidade efetiva de ralfinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmacologicamente aceitável, onde o teor da impureza 2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida de fórmula (IIb)



ou um sal dessa com um ácido farmacologicamente aceitável é inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso).

49. Método, de acordo com a reivindicação 48, para tratar condições de dor, incluindo dor crônica e dor neuropática, e enxaqueca, opcionalmente em conjunto com gabapentina ou pregabalina ou um sal com adição de ácido farmacologicamente aceitável dessa.

50. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 48 e 49, onde o sal de ralfinamida com um ácido farmacologicamente aceitável é um sal com ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

51. Método, de acordo com a reivindicação 48, onde o paciente em necessidade do tratamento é classificado como metabolizador pobre (MP) ou está assumindo ao mesmo tempo outros fármacos que são conhecidos por interagirem com os citocromos do sistema CYP450 e/ou são conhecidos por terem propriedades de bloqueio de canal HERG.

RESUMO

Patente de Invenção: "**PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE 2-[4-(3- E 2-FLUORBENZILOXI)BENZILAMINO]PROPANAMIDAS**".

Um processo para obter 2-[4-(3- e 2-(fluorbenziloxi)benzilamino]propanamidas e seus sais com ácidos farmacêuticamente aceitáveis com alto grau de pureza, em particular, com um teor de impurezas de derivados de dibenzila inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% do peso. O processo é executado submetendo os intermediários de bases de Schiff 2-[4-(3- e 2-(flúorbenziloxi)benzilamino]propanamidas à hidrogenação catalítica na presença de um catalisador heterogêneo em um solvente orgânico prótico.

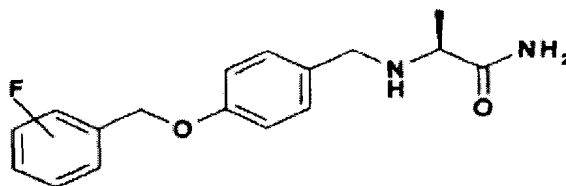
Novas páginas do pedido, incluindo novo quadro reivindicatório com 43 reivindicações, para processamento na Fase Nacional Brasileira.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE 2-[4-(3- E 2-FLUORBENZILOXI)BENZILAMINO]PROPANAMIDAS, BASE DE SCHIFF ISOLADA, SAFINAMIDA OU RALFINAMIDA, USO E FORMULAÇÕES CONTENDO AS MESMAS**".

5 Antecedentes da Invenção

A presente invenção refere-se a um novo processo para a produção de (S)-2-[4-(3-fluorbeziloxi)-benzilamino]propanamida, isto é, safinamida (Ia) e (S)-2-[4-(2-fluorbeziloxi)-benzilamino]propanamida, isto é, ralfinamida (Ib) e seus sais, em altas produções e pureza enantiomérica e química muito alta.

Este método é também muito útil para sua produção em grandes quantidades.



Safinamida (Ia): 3-F

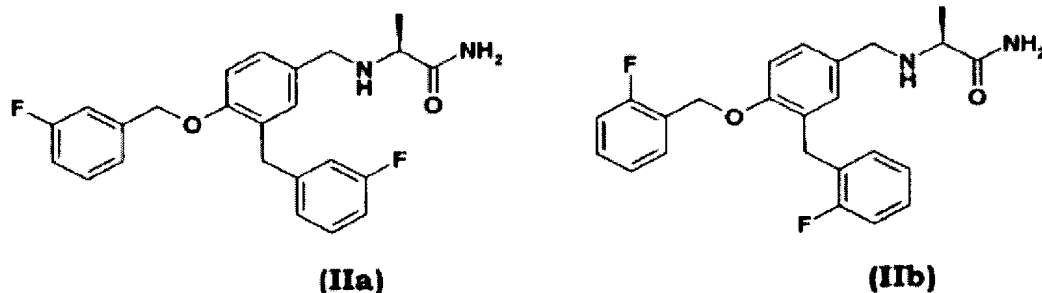
Ralfinamida (Ib): 2-F

A safinamida (NW-1015, FCE-26743A, PNU-151774E) é um bloqueador de canal de sódio, um modulador de canal de sódio, um inibidor de monoamino oxidase tipo B (MAO-B), um inibidor de liberação de glutamato e um modulador de metabolismo da dopamina.

A safinamida é útil no tratamento de desordens CNS, em particular de epilepsia, mal de Parkinson, mal de Alzheimer, depressão, síndrome das pernas inquietas e enxaqueca (WO 90/14334, WO 04/089353, WO 05/102300, WO 04/062655).

A ralfinamida (NW-1029, FCE-26742A, PNU-0154339E) é um bloqueador de canal de sódio útil no tratamento de condições de dor, incluindo dor crônica e dor neuropática, enxaqueca, desordens bipolares, depressões, desordens cardiovasculares, inflamatórias, urogenitais, metabólicas e gastrointestinais (WO 99/35125, WO 03/020273, WO 04/062655, WO 05/018627, WO 05/070405, WO 05/102300, WO 06/027052).

Verificou-se agora que as preparações em grande escala de safinamida e ralfinamida de acordo com os métodos descritos na técnica anterior contêm duas impurezas indesejadas, isto é, respectivamente, (S)-2-[3-(3-flúorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)-benzilamino]propanamida (IIa) e (S)-2-[3-(2-flúorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)-benzilamino]propanamida (IIb), e seus sais, em particular os respectivos metanossulfonatos (IIc) e (IId).



Esse fato é de particular relevância por causa da toxicidade muito alta das duas impurezas determinadas acima.

Muitos dos candidatos a fármaco caem em tentativas clínicas por causa de efeitos unforeseen de metabolismo humano, ou toxicidade, devido a impurezas indesejadas e, portanto, a eliminação de tais impurezas na fase pré-clínica anterior é importante e fortemente desejável.

No nível pré-clínico, a "drogabilidade" de novos componentes pode ser avaliada usando uma bateria muito bem estabelecida de ensaios in vitro, tal como interação com enzimas de metabolização de fármacos, citotoxicidade, estabilidade metabólica e profiling, permeabilidade de membrana, folga intrínseca e blockade de canal de gene relacionado a ether-a-go-go (HERG) humano, etc.

O sistema Citocromo P450 (CYP 450) é o sistema de enzima principal para o metabolismo de xenobióticos lipofílicos, incluindo drogas, carcinógenos, e poluentes ambientais. O CYP 450 é um sistema de múltiplas enzimas ligado à membrana contendo heme que está presente em muitos tecidos, mas está presente no nível mais alto no fígado. No fígado humano, estima-se que haja de 15 a 20 diferentes formas de CYP 450 metabolização xenobiótica. Até agora, mais do que quatorze famílias de gene CYP foram identificadas em mamíferos. Apesar da alta homologia existente, estudos

extensivos relevaram que cada família e sub-família CYP têm funções distintas no metabolismo xenobiótico. Três famílias CYP - CYP1, CYP2 e CYP3 totalizam aproximadamente 70% de microsossomos hepáticos humanos CYPs com CYP3 totalizando aproximadamente 30%. Esses CYPs são os maiores responsáveis pelo metabolismo dos fármacos mais comercializados.

A família CYP1 contém vários membros que incluem CYPA1, CYPA2, e CYPB1 e eles estão envolvidos no metabolismo de acetaminofeno, clomipramina e imipramina.

A família CYP2 contém várias sub-famílias incluindo CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D e CYP2E. A sub-família CYP2C contém pelo menos sete membros. O CYP2C9 é responsável pelo metabolismo de ibuprofeno, diclofenaco, tolbutamida e torsemida. O CYP2C19 é a maior isoenzima metabolizando diazepam e omeprazol. O CYP2D6 foi mostrado como sendo responsável por metabolizar mais de 30% dos fármacos no mercado, incluindo, antidepressivos e fármacos cardiovasculares e anti-psicóticos.

Na família CYP3, três isoformas foram identificadas no fígado humano. O CYP3A4 humano foi reconhecido como sendo a isoforma mais importante no metabolismo de fármacos. Até agora, o metabolismo catalisado por CYP3A4 é a via de eliminação principal para quase 50% dos fármacos comercializados.

Por causa da sua importância no metabolismo de fármacos, ambos o CYP3A4 e o CYP2D6 são freqüentemente envolvidos em interações fármaco-fármaco e vários compostos clinicamente usados foram identificados como inibidores potentes dessas isoformas CYP 450 tal como cetozonazol, terfenadina, eritromicina, miconazol, propanolol e quinidina, respectivamente. Isso impõe uma limitação clara no uso desses fármacos.

Um problema adicional, que consiste em morte súbita como um efeito colateral da ação de fármacos não antiarrítmicos, é uma principal preocupação com segurança farmacológica voltada para a indústria farmacêutica e as autoridades regulatórias de saúde. Nos anos recentes, pelo menos cinco fármacos de sucesso de vendas "blockbusters" (astemizol, sertindol, terfenadina, cisaprida, grepafloxacina) foram retirados do mercado devido a

relatórios de morte súbita. Em todos os casos, Síndrome do Intervalo QT Longo (LQTS), uma anormalidade de re-polarização de músculo cardíaco, que é caracterizado pelo prolongamento do intervalo QT no eletrocardiograma, foi implicada como um fator de pré-disposição para "torsades de pointes", uma taquicardia ventricular polimórfica que pode espontaneamente degenerar para fibrilação ventricular e causa morte súbita. A LQTS congênita pode ser ligada de volta a várias mutações possíveis resultando em defeitos em canais de sódio, e dois diferentes canais de sódio: o retificador retardado rapidamente ativado (I_{Kr}) e o retificador retardado lentamente ativado (I_{Ks}).

De forma importante, virtualmente cada caso de uma duração prolongada de potencial de ação cardíaca relacionada à exposição ao fármaco (LQTS adquirida) pode ser ligado a um mecanismo específico: bloqueio de corrente I_{Kr} no coração. Essa corrente, um principal contribuidor para re-polarização de fase 3 no fim do intervalo QT, é conduzida por poros tetraméricos, com as sub-unidades individuais codificadas por HERG. Com o bloqueio de canais HERG K^+ amplamente considerados como a causa predominante de prolongamento de QT induzido por fármaco, detecção anterior de compostos com esse efeito colateral indesejável de tornou um objetivo importante na indústria farmacêutica.

Os compostos com forte inibição de enzimas de metabolização de fármacos, em particular, enzimas CYP 450, e propriedades de bloqueio de canal de HERG têm uma alta probabilidade de serem tóxicos e que seu desenvolvimento foi parado em um estágio anterior.

Como mostrado na Tabela 1, as impurezas (IIa e IIb), como o sal metanossulfonato (IIc e IId), fortemente inibem na faixa micro-molar e sumicro-molar correntes de CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 e HERG e são altamente citotóxicos, comparados com metanossulfonato de safinamida (Ic) e metanossulfonato de ralfinamida (Id) com altos graus de pureza, sintetizados usando o processo da invenção.

Tabela 1

Composto	HERG IC ₅₀ , μM	Citotoxicidade IC ₅₀ , μM	CYP3A4 IC ₅₀ , μM	CYP2D6 IC ₅₀ , μM	CYP2C19 IC ₅₀ , μM	CYP2C9 IC ₅₀ , μM	CYP1A2 IC ₅₀ , μM
Impureza IIc	1,20	6,70	0,05	0,77	0,42	7,29	> 40
Metanossulfonato de safinamida	27,0	248,0	> 40	> 40	23,85	> 40	> 40
Impureza II d	2,66	15,00	0,05	0,92	1,89	8,01	> 40
Metanossulfonato de ralfinamida	18,0	> 300	> 40	> 40	> 40	> 40	> 40

A Tabela 2 mostra resultados comparativos (IC_{50}) sobre a inibição do citocromo CYP3A4 usando metanossulfonato de safinamida e ralfinamida altamente puros, sintetizados usando o novo processo desta invenção, com safinamida e ralfinamida obtidos com o mesmo processo na presença de 0,3% da impureza Ilc e Ild, respectivamente.

Quando 0,3% das impurezas Ilc e Ild é adicionado ao usando metanossulfonato de safinamida e ralfinamida altamente puros, uma diminuição significativa em IC_{50} em CYP3A4 é observada em ambos os casos significando que as impurezas contribuem para uma forte inibição da atividade da enzima.

Tabela 2

Composto	CYP3A4 IC_{50} , μM
Metanossulfonato de safinamida	> 40
Metanossulfonato de safinamida mais 0,3% de impureza Ilc	18
Metanossulfonato de ralfinamida	> 40
Metanossulfonato de ralfinamida mais 0,3% de impureza Ild	7,76

Como mostrado na Tabela 3, a impureza (Ilc) aumenta, começando de 3 mg/kg ip, a mortalidade no teste Eletrochoque Máximo em ratos (MES) sem qualquer atividade farmacológica, isto é, proteção contra convulsões.

Tabela 3

Composto	MES					
	3 mg/kg ip		10 mg/kg ip		30 mg/kg ip	
	% proteção	Morto/vivo	% proteção	Morto/vivo	% proteção	Morto/vivo
Metanossulfonato de safinamida	50	0/10	100	0/10	100	0/10
Impureza IIc	0	5/10	0	4/10	0	4/10

A Tabela 4 relata que a impureza IId, quando dado p.o. em 10 e 20 mg/kg, no teste de Eletrochoque Máximo (MES) não protege os ratos de convulsões se comparado com as mesmas doses de metanossulfonato de ralfinamida.

5 Tabela 4

Composto	MES			
	10 mg/kg ip		20 mg/kg ip	
	% proteção	Morto/vivo	% proteção	Morto/vivo
Metanossulfonato de ralfinamida	60	0/10	90	0/10
Impureza IId	0	0/10	0	0/10

Com base nesses dados, as impurezas IIc e IId, presentes em safinamida e ralfinamida, respectivamente, sintetizados com o processo descrito em WO 90/14334 e por Pevarello e outros em J. Med. Chem, 1998, 41, 579 – 590 mostram in vitro algumas características indesejáveis, tais como toxicidade celular, forte inibição de alguma isoforma de CYP 450, bloqueio de canal de HERG e nenhuma atividade protetora em um modelo "in vivo" de epilepsia.

Um dos aspectos importantes de CYP é a variação entre diferentes grupos de população. As variações no metabolismo de fármacos são de grande importância em estudos clínicos. Variação considerável na atividade enzimática de CYP3A4 e CYP2D6 foi demonstrada entre diferentes grupos étnicos e até entre diferentes indivíduos no mesmo grupo étnico. A diferença na atividade de CYP entre os indivíduos varia significativamente, dependendo das isoenzimas diferentes. Mudanças no nível de expressão de CYP de diferentes indivíduos podem causar variações no metabolismo de fármacos. De forma mais importante, o polimorfismo pode também resultar em variações de enzima CYP com menor ou maior atividade enzimática que leva a variações no metabolismo de fármaco. O polimorfismo de CYP2D6 é um tópico bem estudado no metabolismo de fármaco. Em estudos clínicos, variações pronunciadas entre indivíduos foram primeiro encontradas no metabolismo de fármacos anti-hipertensivos e anti-epilépticos. A eliminação de fármacos metabolizados com CYP2D6 é mais lenta naqueles indivíduos que

carregam alelos de CYP2D6 defeituosos. Os indivíduos com metabolismo lento são classificados como metabolizadores pobres (MP), enquanto indivíduos cataliticamente competentes são chamados metabolizadores extensivos (ME): a incidência do fenótipo de MP na população de diferentes origens raciais varia: aproximadamente de 5 a 10% de caucasianos são de fenótipo de MP, mas somente 1% na população asiática. CYP2C19 é outra isoforma polimórfica importante que tem implicações clínicas.

Levando em conta essas observações, um composto que não interfere com as isoformas CYP450 (nem inibição nem indução) tem um risco muito baixo para interações fármaco-fármaco na prática clínica e pode ser simplesmente e seguramente prescrito por médicos.

Em particular, os fármacos que não interferem com os citocromos do sistema CYP450 são particularmente indicados para o tratamento terapêutico de indivíduos que são classificados como metabolizadores pobres (MP) ou para o tratamento terapêutico de pacientes que estão concomitantemente assumindo outros fármacos que são conhecidos por interagirem com os ditos citocromos, tal como cetoconazol, terfenadina, eritromicina, miconazol, propranolol e quinidina, e/ou são conhecidos como tendo propriedades de bloqueio de canal de HERG.

De acordo com a prática clínica comum, metanossulfonato de safinamida e de ralfinamida (Ic e Id) são usualmente administrados ao paciente em necessidade desses por um longo período de tempo, sub-divididos em várias doses diárias. Esse é particularmente o caso de aplicações terapêuticas onde a doença a ser tratada é: mal de Parkinson, mal de Alzheimer, e síndrome das pernas inquietas (para o uso de Safinamida) ou dor crônica e dor neuropática, desordens cardiovasculares ou inflamatórias (para uso de Ralfinamida). Embora o dosagem diária possa variar de acordo com as condições específicas e necessidades dos pacientes, a dosagem diária de metanossulfonato de safinamida pode usualmente estar na faixa de 10 mg/dia a 800 mg/dia, enquanto a dosagem diária de metanossulfonatos de ralfinamida pode usualmente estar na faixa de 10 mg/dia a 1 g/dia. Sob essas condições, e em consideração aos dados relatados acima, é altamente prudente

manter o nível das impurezas (IIa) e (IIb) ou os sais dessas, em particular, os sais de metanossulfonato (IIc) e (IIId) nas formas de dosagem farmacêutica de safinamida e ralfinamida ou os sais desses o mais baixo possível, em qualquer caso abaixo de 0,03%, preferencialmente abaixo de 0,01% do peso com relação à quantidade de, respectivamente, safinamida e ralfinamida ou os sais desses, em particular, os sais de metanossulfonato.

Investigações e estudos experimentais executados pelos inventores mostraram que a safinamida e a ralfinamida e os respectivos sais com ácidos farmaceuticamente aceitáveis preparados de acordo com os métodos da técnica anterior contêm uma quantidade das respectivas impurezas (IIa) e (IIb) ou os respectivos sais com ácidos farmaceuticamente aceitáveis, tal como (IIc) e (IIId), que são maiores do que 0,03% do peso. Portanto, os ditos produtos acima são inadequados para aplicações terapêuticas seguras. Em particular, as preparações farmacêuticas contendo safinamida ou ralfinamida ou o sal desses com ácidos farmaceuticamente aceitáveis, onde o teor de impurezas (IIa), (IIb), e os respectivos sais com ácidos farmaceuticamente aceitáveis não é menor do que 0,03%, preferencialmente do que 0,01% do peso com relação às ditas substâncias ativas, não são adequados como medicamentos.

Nesta especificação e reivindicação, os valores dos limites indicados acima, a menos que de outra forma especificado, pretendem expresar a relação de porcentagem por peso das "substâncias ativas", isto é, o teor eficaz da impureza biologicamente ativa (IIa, IIb) com relação ao teor eficaz da substância terapeuticamente ativa (Ia, Ib).

O processo descrito nesta invenção fortemente reduzindo as impurezas leva a produtos com alta pureza química e perfil biológico mais seguro. Outras impurezas, dificilmente detectáveis, derivam das quantidades muito pequenas de cloreto de 2- e 4-flúorbenzila e de cloreto de 3- e 4-flúorbenzila que estão contidos no cloreto de 3-fluorbenzila e cloreto de 2-fluorbenzila comercialmente disponíveis, respectivamente, usados para a síntese de intermediários 4-(3-fluorbeziloxi)benzaldeído (IVa) e 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) para a preparação de, respectivamente,

compostos (Ia) e (Ib).

De acordo com o processo descrito na presente invenção, a safinamida e a ralfinamida são obtidas com altas produções e alta pureza onde o teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)-benzilamino]-propanamida (IIa) e (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)-benzilamino]-propanamida (IIb), e seus sais, em particular com ácido metanossulfônico (genericamente chamado "derivados de dibenzila") em safinamida e ralfinamida ou o sal dessas, em particular, com ácido metanossulfônico, é menor ou igual a 0,03%, preferencialmente 0,01% (do peso).

O objetivo do processo da presente invenção começa a partir de 4-hidroxi-benzaldeído e compreende as três seguintes etapas:

a) O-benzilação de 4-hidroxibenzaldeído com derivados da seguinte fórmula geral 3- ou 2-F-C₆H₄-CH₂-Y, onde Y é um grupo de saída (Cl, Br, I, OSO₂CH₃, etc.); essa O-benzilação é executada sob condições que são altamente seletivas para O-benzilação e fornece 4-(3-flúorbenziloxi)benzaldeído e 4-(2-flúorbenziloxi)benzaldeído de alta pureza;

b) alquilação redutiva de L-alaninamida, base ou sal, com 4-(3-flúorbenziloxi)benzaldeído e 4-(2-flúorbenziloxi)benzaldeído onde o sistema de redução é gás hidrogênio e um catalisador heterogêneo, para obter, depois de cristalização, safinamida e ralfinamida, respectivamente, em muito alta pureza enantiomérica e química.

c) preparação de sais de safinamida e ralfinamida com um ácido farmacêuticamente aceitável por salificação de safinamida e ralfinamida, respectivamente, obtidos na etapa anterior. Os ácidos farmacêuticamente aceitáveis são, por exemplo, selecionados a partir de ácido nítrico, hidrocloreto, hidrobromico, sulfúrico, perclórico, fosfórico, metanossulfônico, p-toluenossulfônico, acético, trifluoracético, propriônico, glicólico, láctico, oxálico, malônico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzóico, cinâmico, mandélico e salicílico.

Um objetivo adicional desta invenção é fornecer safinamida e ralfinamida ou seus sais com um ácido farmacêuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, com um alto grau de pureza, em parti-

cular com um teor dos respectivos derivados de dibenzila da fórmula (IIa) ou (IIb) ou os sais desses com um ácido farmaceuticamente aceitável, por exemplo, o ácido metanossulfônico, menor do que 0,03%, preferencialmente menor do que 0,01% do peso (referido às "substâncias ativas"), que é adequado para seu uso como medicamentos.

Além disso, outro objetivo desta invenção é fornecer formulações farmacêuticas compreendendo safinamida ou ralfinamida ou um sal dessas com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, como os agentes ativos onde o teor dos respectivos derivados de dibenzila (IIa) e (IIb) ou o sal desses com um ácido farmaceuticamente aceitável, por exemplo, ácido metanossulfônico, é menor do que 0,03%, preferencialmente, menor do que 0,01% (do peso) com relação aos ditos agentes ativos acima. Essas novas formulações farmacêuticas não foram nem sugeridas nem alcançáveis aplicando-se o conhecimento fármacotoxicológico considerando safinamida e ralfinamida nem usando esses agentes ativos preparados de acordo com os métodos disponíveis de última geração.

Portanto, as ditas formulações farmacêuticas compreendendo safinamida ou ralfinamida ou os sais dessas com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, tendo o dito alto grau de pureza acima constituem um objetivo adicional desta invenção.

As ditas formulações farmacêuticas acima podem opcionalmente compreender um ou mais agentes ativos adicionais, além de safinamida ou ralfinamida ou os sais dessas com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, tendo o alto grau de pureza descrito acima. Por exemplo, uma nova formulação farmacêutica útil para o tratamento adjuntivo de mal de Parkinson ou síndrome das pernas inquietas pode compreender um ou mais agentes ativos adjuntivos do mal de Parkinson tal como aqueles descritos em WO 04/089353 e WO 05/102300, preferencialmente um agonista de dopamina e/ou levodopa e/ou um inibidor de catecol-O-metiltransferase (COMT), em adição à safinamida ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido me-

tanossulfônico, tendo o dito alto grau de pureza acima.

Como um exemplo adicional, uma nova formulação farmacêutica de acordo com esta invenção útil para o tratamento de condições de dor, incluindo dor crônica e dor neuropática, e enxaqueca pode conter um agente ativo adicional tal como gabapentina e pregabalina ou um sal farmaceuticamente aceitável desse como descrito em EP 1423168, em adição à ralfinamida ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico tendo o dito alto grau de pureza acima.

As composições farmacêuticas contendo safinamida ou ralfinamida com alto grau de pureza de acordo com esta invenção podem ser preparadas por procedimentos convencionais conhecidos na técnica, por exemplo, misturando os compostos ativos com materiais carreadores orgânicos e/ou inorgânicos farmaceuticamente e terapeuticamente inertes. As composições da invenção podem estar na forma líquida, por exemplo, na forma de uma solução, suspensão, emulsão; ou na forma sólida, por exemplo, tablets, pastilhas, cápsulas, emplastos.

Os materiais carreadores orgânicos e/ou inorgânicos farmaceuticamente e terapeuticamente inertes adequados úteis na preparação da composição da presente invenção incluem, por exemplo, água, gelatina, goma arábica, lactose, amido, celulose, estearato de magnésio, talco, óleos vegetais, polialquilenoglicóis, ciclodextrinas e seus similares. As composições farmacêuticas da invenção podem ser esterilizadas e podem conter, além do ingrediente(s) ativo(s), componentes adicionais bem conhecidos aos versados na técnica, tal como, por exemplo, conservantes, estabilizantes, agentes umectantes ou emulsificantes, por exemplo, óleo de parafina, manide monooleate, sais para ajustar pressão osmótica, tampões e seus similares

Um objetivo adicional desta invenção é fornecer um método para tratar desordens CNS, em particular, epilepsia, mal de Parkinson, mal de Alzheimer, e síndrome das pernas inquietas, compreendendo administrar a um paciente em necessidade desse uma quantidade eficaz de safinamida de alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente acei-

tável, preferencialmente ácido metanossulfônico, tendo um teor de derivado de dibenzila (IIa) ou um sal desse, com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, abaixo de 0,03%, preferencialmente abaixo de 0,01% do peso (referido às "substâncias ativas"). O dito método inclui tratar o mal de Parkinson ou a síndrome das pernas inquietas administrando a um paciente em necessidade desse uma quantidade eficaz da safinamida com alto grau de pureza descrita acima, opcionalmente em conjunto com um ou mais agente(s) ativos de mal de Parkinson, um agonista de dopamina e/ou levodopa e/ou um inibidor de catecol-O-metiltransferase (COMT).

Além disso, um objetivo adicional desta invenção é fornecer um método para tratar condições de dor incluindo dor crônica e dor neuropática, enxaqueca, desordens bipolares, depressões, desordens cardiovasculares, inflamatórias, urogenitais, metabólicas e gastrointestinais compreendendo administrar a um paciente em necessidade desse uma quantidade eficaz de ralfinamida de alto grau de pureza ou um sal desse com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, tendo um teor de derivado de dibenzila (IIb) ou um sal desse com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, abaixo de 0,03%, preferencialmente abaixo de 0,01% do peso (referido às "substâncias ativas").

O dito método acima inclui o tratamento de condições de dor, incluindo dor crônica e dor neuropática, e enxaqueca com ralfinamida de alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente ácido metanossulfônico, opcionalmente em conjunto com gabapentina ou pregabalina.

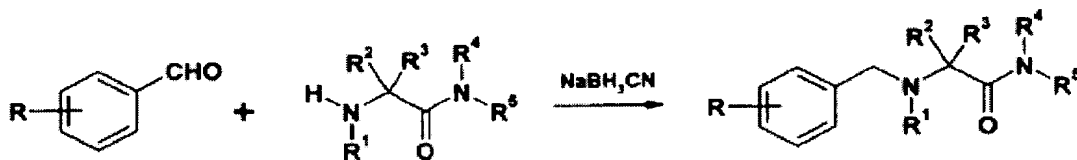
Técnica Anterior

Em WO 90/14334, e na publicação de Pevarelo e outros, em J. Med. Chem., 1998, 41, 579 – 590, um processo de três etapas para a preparação de benziloxi-benzilamino-alcanamidas é descrito:

a) Síntese do intermediário 4-benziloxibenzaldeídos por O-benzilação dos correspondentes 4-hidroxibenzaldeídos com os cloretos de

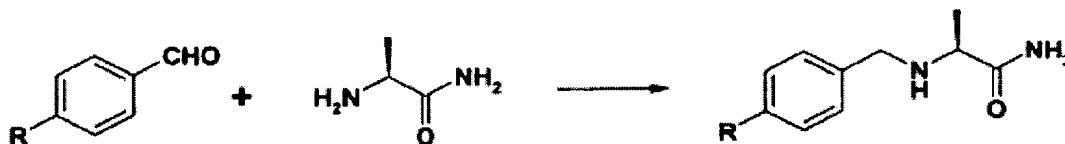
benzila adequados,

b) alquilação redutiva de α -amino-amidas com 4-benziloxibenzaldeídos usando cianoboroidreto de sódio como um agente de redução como esquematicamente mostrado aqui abaixo.



- 5 onde R representa, entre outros substituintes, 3-F e 2-F; R^1 representa, entre outros substituintes, hidrogênio; R^2 representa, entre outros substituintes, hidrogênio; R^3 representa, entre outros substituintes, CH₃; ambos R^4 e R^5 representam, entre outros substituintes, hidrogênio.

Em particular, contanto que a preparação de safinamida e ralfinamida é considerada, a alquilação redutiva é a alquilação redutiva de L-alaninamida com 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído e 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído, respectivamente como mostrado aqui abaixo.



R = 3-F-benzilóxi = safinamida (Ia)

R = 2-F-benzilóxi = ralfinamida (Ib)

- 15 Em J. Med. Chem (Pevarello e outros), 1998, 41, 579 – 590, resultados de 45% e 60% para a preparação de metanossulfonato de safinamida e ralfinamida, respectivamente, são relatados começando a partir dos correspondentes (fluorbenziloxi)benzaldeídos.

O processo descrito em WO 90/14334 e a publicação citada acima são os mesmos e fornecem um sistema em etapa única "one-pot" onde a iminoalquilação e a redução são feitas no mesmo reator. O aldeído adequado é adicionado todo de uma vez a uma mistura de hidrocloreto de L-alaninamida, cianoboroidreto de sódio, metanol e peneiras moleculares em pó.

25 De acordo com Pevarello e outros, em Org. Prep. Proc. Int.

1996, 28, 179 – 183 (onde a síntese de alguns derivados de α -benzilaminoamida por alquilação redutiva é descrita), o uso de um α -aminoamida como hidrocloreto é importante para a formação do íon imínio no lugar da imina correspondente, à medida que o íon imínio reage mais facilmente com cianoboroidreto de sódio do que com o grupo aldeído carbonila.

De acordo com os autores acima, o procedimento em etapa única parece evitar problemas de racemização de base de Schiff e as peneiras moleculares aceleram a reação (embora os resultados sejam pobres).

O cianoboroidreto é o único agente de redução utilizado, e parece que essa escolha é devido a sua baixa reatividade e sua seletividade (ver Review "Sodium Cyanoborohydride – A Highly Selective Reducing Agent for Organic Functional Groups" – C.F. Lane, Síntese 1975, 132 – 146), que o torna capaz de distinguir entre a base de Schiff protonada e o aldeído de partida.

A síntese descrita na publicação por Pevarello e outros fornece o isolamento dos produtos por cromatografia em coluna, seguida por conversão nos sais correspondentes por tratamento com ácidos. Nenhuma informação é fornecida sobre a pureza enantiomérica e/ou química de ambas safinamida e ralfinamida e/ou seus sais.

O método descrito na técnica anterior sofre de muitas desvantagens, que limitam seu uso em grande escala; abaixo alguns exemplos das ditas desvantagens são listados:

- formação de cianetos;
- formação de derivados de boro, difícil de remover dos princípios ativos;
- uso de peneiras moleculares em pó que são fisicamente alteráveis e caras;
- baixos resultados;
- baixa concentração de produto final na mistura reacional de alquilação redutiva (aproximadamente 2 – 3% do peso/volume);
- isolamento dos produtos por cromatografia em coluna, que é

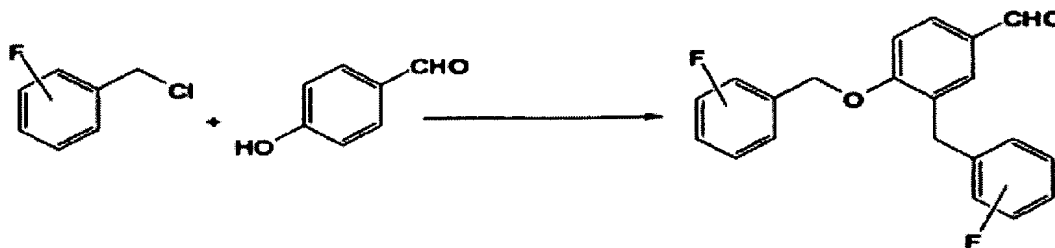
considerado um método de purificação dispendioso e preocupante quando preparações em grande escala de agentes ativos através de síntese química são envolvidas.

Além disso, como mostrado nos exemplos que seguem nesta descrição, os produtos obtidos de acordo com os métodos descritos na técnica anterior contêm uma quantidade de impurezas (IIa), (IIb), (IIc) ou (IIId) que é mais alta do que 0,03% do peso com relação à respectiva substância ativa (Ia), (Ib), (Ic) ou (Id). Em adição, foi mostrado que é difícil eliminar as ditas impurezas da safinamida e ralfinamida de produto final ou seus sais, usando métodos de purificação comumente conhecidos tais como cristalização a partir de solventes ou cromatografia, que em qualquer caso implica na redução de resultados.

Síntese dos Intermediários de 4-(Fluorbenziloxi)-benzaldeído

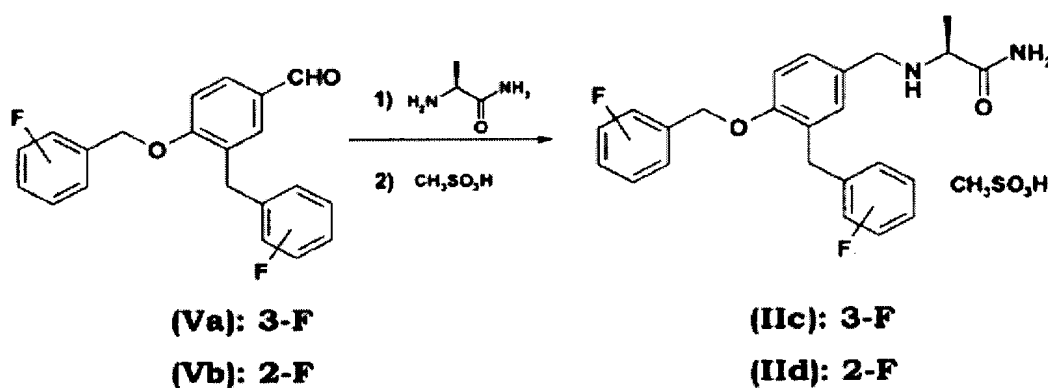
De acordo com métodos conhecidos, os intermediários fluorbenziloxi-benzaldeídos para a síntese de safinamida e ralfinamida são obtidos por benzilação de 4-hidroxibenzaldeído em um meio básico, ou seja, por benzilação de sais de fenol que, sendo nucleófilos ambidentes, fornecem dois diferentes produtos, isto é, os derivados O-alquilados desejados e os derivados C-alquilados indesejados.

Descobriu-se eficazmente que a fluorbenzilação de 4-hidroxibenzaldeído com cloreto de 3-fluorbenzila, executada de acordo com a técnica anterior, fornece o 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) como o produto principal junto com 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va) que deriva da alquilação de ambos o grupo hidroxil na posição 4 e átomo de carbono na posição 3 do 4-hidroxibenzaldeído. O mesmo acontece na fluorbenzilação de 4-hidroxibenzaldeído com cloreto de 2-fluorbenzila de acordo com o seguinte esquema:



(IIIa₁): 3-F**(IIIb₁): 2-F****(Va): 3-F****(Vb): 2-F**

A alquilação redutiva de L-alaninamida com um aldeído que contém a impureza di-alquilada fornece um produto final de safinamida ou ralfinamida que é também impureza do respectivo composto di-alquilado, o derivado de dibenzila, se como uma base livre (IIa) ou (IIb) ou compostos salificados, preferencialmente com ácido metanossulfônico (IIc) ou (IId), como mostrado no seguinte esquema:



Outros ácidos farmacêuticamente aceitáveis, por exemplo, ácido nítrico, hidrocloreto, hidrobrometo, sulfúrico, perclórico, fosfórico, metanossulfônico, p-toluenossulfônico, acético, trifluoroacético, propiônico, glicólico, láctico, oxálico, malônico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzóico, cinâmico, mandélico e salicílico podem ser usados no lugar do ácido metanossulfônico preferencial.

O derivado mono-alquilado (safinamida ou ralfinamida) e as impurezas di-alquiladas correspondentes têm propriedades químico-físicas similares e isso torna difícil a purificação de safinamida e ralfinamida com métodos tradicionais.

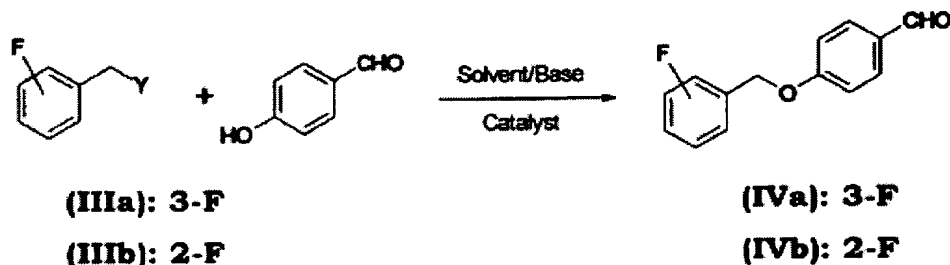
Ademais, os métodos conhecidos sofrem dessas desvantagens adicionais:

1) o uso de um álcool inferior como um solvente; em condições básicas, o solvente, por exemplo, metanol, pode agir como um reagente nucleofílico e fornece, com cloreto de 3- ou 2-fluorbenzila, uma certa quantidade de metil-fluorbenzil-éter;

2) a extração do produto final com um solvente orgânico imiscível com água é possível somente depois que o solvente de reação alcoólica foi eliminado da mistura reacional.

Descobriu-se que usando os ditos métodos acima da técnica anterior, de modo a obter um produto final de fórmula (Ia) ou (Ib) onde o teor da respectiva impureza (IIa) ou (IIb) é menor do que 0,03% (do peso), é necessário drasticamente purificar o intermediário 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) para reduzir o teor das respectivas impurezas de fórmula (Va) e (Vb). A dita purificação é preferencialmente executada submetendo os produtos de reação à cristalização, mais preferencialmente, adicionando a uma solução do composto bruto (Iva) ou (IVb) em um solvente orgânico inerte um não solvente orgânico inerte miscível. O solvente inerte orgânico é preferencialmente selecionado a partir dos hidrocarbonetos aromáticos e, mais preferencialmente, é tolueno. O não solvente orgânico inerte miscível é preferencialmente selecionado a partir dos hidrocarbonetos alifáticos inferiores, mais preferencialmente, é n-hexano. Um procedimento de cristalização adicional pode consistir em dissolver os ditos compostos acima (IVa) ou (IVb) em um solvente quente, por exemplo, ciclohexano ou um di(C₃-C₄)alquil éter, tal como diisopropil éter em refluxo, e então resfriando a solução em temperatura ambiente, preferencialmente em 10 – 15° C, mais preferencialmente, com cristalização induzida por adição de cristais puros do composto puro (IVa) ou (IVb).

De acordo com um aspecto desta invenção, descobriu-se agora surpreendentemente que quando a reação entre um agente alquilante de fórmula (IIIa) ou (IIIb) (ver o esquema abaixo onde o átomo F está na posição 2 ou 3 e Y é um grupo de saída tal como, por exemplo, Cl, Br, I, O-SO₂CH₃, OSO₂C₆H₄-pCH₃, etc.) e 4-hidroxibenzaldeído, é executada sob condições de transferência de fase, os correspondentes 4-(fluorbenziloxi)benzaldeídos são obtidos em altas produções e com nível muito baixo de impurezas C,O-bi-alquiladas.



Essa fluorbenzilação de 4-hidroxibenzaldeído sob condições de transferência de fase pode ser feita em ambos um sistema sólido/líquido, onde na fase orgânica líquida, os reagentes e o catalisador de transferência de fase são dissolvidos e a fase sólida é constituída pela base inorgânica ou o sal de 4-hidroxibenzaldeído (possivelmente gerado no local a partir de 4-hidroxibenzaldeído e a própria base inorgânica), e em um sistema orgânico/aquoso líquido/líquido onde a base inorgânica é dissolvida na fase aquosa.

Um sistema preferencial é o sistema sólido/líquido onde a base inorgânica é preferencialmente selecionada a partir de Na_2CO_3 , K_2CO_3 , KOH , NaOH .

Os solventes orgânicos usados na reação, ambos no caso do sistema líquido/líquido e do sistema sólido/líquido, podem ser dialquil éteres tais como, por exemplo, di-*tert*-butil éter, etil-*tert*-butil éter, ou hidrocarbonetos aromáticos tais como, por exemplo, tolueno, etilbenzeno, isopropilbenzeno e xilenos. Todos esses solventes podem ser facilmente recuperados por destilação.

Os catalisadores de transferência de fase empregados podem ser amônio quaternário ou sais de fosfônio tais como, por exemplo, brometo de tetrabutil amônio, brometo de tetradeciltrimetil amônio, brometo de hexadeciltributil fosfônio, cloreto de tricaprilmetil amônio (Aliquat), cloreto de metiltrialquil(C8-C10)amônio (Adogen), o brometo de tetradeciltrimetil amônio é o preferido.

Os polietilenoglicóis de baixo peso molecular também podem ser usados com catalisadores de transferência de fase tais como, por exemplo, PEG-200 (CAS 25322-68-3) ou PEG-400 (CAS 25322-68-3).

A quantidade de catalisador de transferência de fase usado está entre 0,02-1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldeído, de preferência entre 0,1-1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldeído como, nessas condições, a quantidade das impurezas C,O-bi-fluorbenziladas pode resultar em menos de 0,03%, preferencialmente igual a 0,01% de peso ou menos.

A relação entre os agentes alquilantes de fórmula (IIIa) ou (IIIb) e 4-hidroxibenzaldeído está compreendida entre 0,6 e 1,5, de preferência entre 0,9 e 1,1.

A temperatura da reação está compreendida entre 60° C e 160° C, o intervalo preferido está entre 80° C e 120° C.

O tempo de reação está geralmente entre 4 e 8 horas.

Os resultados da reação são muito altos, como uma regra, mais de 90%.

A produtividade da reação, isto é, a concentração dos produtos da reação na mistura reacional é muito alta na condição de reação descrita, normalmente é maior ou igual a 25% (peso/volume).

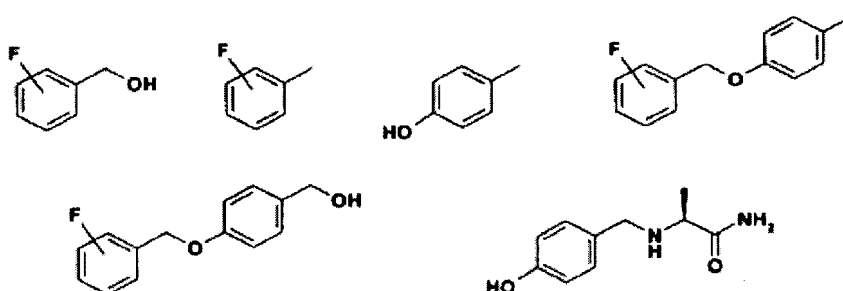
Síntese de Safinamida e Ralfinamida por Alquilação Redutiva de α -aminoamidas

O estado da técnica sugeriria ao especialista no campo que, a alquilação redutiva de α -amino-amidas com 4-(3- ou 2-fluorbenziloxi)benzaldeídos usando hidrogênio e um catalisador heterogêneo como um agente de redução, não deveria ser adequada para a preparação de safinamida e ralfinamida devido à incompatibilidade entre os reagentes e os produtos finais e as condições de redução.

De fato, sabe-se bem o quão facilmente os benzaldeídos são reduzidos a benzil alcoóis ou até aos hidrocarbonetos correspondentes, bem como se sabe que as condições que deveriam ser usadas para executar uma alquilação redutiva com hidrogênio e um catalisador heterogêneo, são normalmente as mesmas condições usadas para quebrar as ligações entre um átomo de carbono benzílico e heteroátomos como nitrogênio ou oxigênio, o tipo de ligações que estão presentes em ambas a safinamida e a ralfinamida e em seus precursores.

De fato, o grupo benzílico é normalmente empregado como um grupo de proteção de fenóis ou aminas (ver "Protective Groups in Organic Synthesis", T.W. Greene e P.G.M. Wuts, 3ª Edição, 1999, John Wiley & Sons, Inc.) devido à facilidade de sua introdução e sucessiva remoção por redução catalítica.

Na alquilação redutiva para obter safinamida e ralfinamida, poder-se-ia esperar a formação de muitos sub-produtos, alguns dos quais são relatados aqui abaixo:



O fato de que a safinamida e a ralfinamida foram obtidas em rendimentos muito altos e pureza por alquilação redutiva de L-alaninamida, com 4-(3- ou 2-fluorbenziloxi)benzaldeído, usando hidrogênio e um catalisador heterogêneo como um sistema de redução, é um aspecto surpreendente e inovador desse procedimento sintético.

Além disso, as condições de reação que são usadas de acordo com esse procedimento são facilmente aplicáveis à produção em volume.

A alquilação redutiva, objeto da presente invenção, é executada em duas etapas:

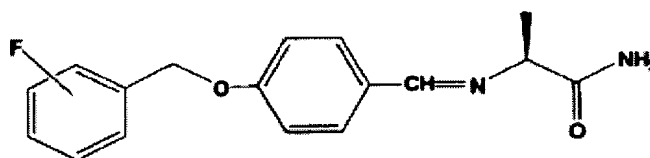
- a) formação da base de Schiff
- b) redução catalítica de base de Schiff

As duas etapas podem ser executadas em sucessão no mesmo reator (reação em etapa única) ou com, ou sem, isolamento da base de Schiff, em ambos os casos com altos rendimentos.

No caso de isolamento da base de Schiff, as condições experimentais aplicadas para essa formação permitem a obtenção da base de Schiff isolada na forma de um precipitado em altos rendimentos e na forma muito pura.

A preparação de base de Schiff é adequadamente executada em um solvente prótico orgânico, que precisa ser inerte versus os reagentes e os produtos e também inertes versus as condições de redução da ligação dupla imínica, tal como, por exemplo, um alcanol inferior (C₁-C₅), preferencialmente metanol, etanol e isopropanol.

A formação da base de Schiff precisa ser completa e esse é um fator relevante para ter altos rendimentos na etapa de redução catalítica subsequente. É, portanto, preferencial isolar as bases de Schiff (VIa) e (VIb) antes de executar a redução da ligação dupla imínica.



(VIa):3-F

(VIb):2-F

Os compostos imino isolados (VIa) e (VIb) são intermediários úteis para a preparação de safiamida e ralfinamida, respectivamente, de acordo com esta invenção.

Alternativamente, pode-se favorecer o término da reação de iminoalquilação, operando sob tais condições para causar a precipitação dos compostos imino (VIa) e (VIb) e para submeter à redução catalítica à suspensão que contém o derivado imino intermediário.

A relação entre L-alaninamida (base ou sal) e 4-(3- ou 2-fluorbenziloxy)benzaldeído pode ser 1:1, mas também um excesso de 10% de L-alaninamida pode ser vantajosamente usado.

A L-alaninamida pode ser introduzida ou como uma base livre ou como um sal com adição de ácido dessa. Preferencialmente, ela é introduzida na mistura reacional como um sal, mais preferencialmente, como sal de hidrocloreto, junto com a quantidade estequiométrica de uma base, preferencialmente, uma amina terciária tal como, por exemplo, trietilamina ou diisopropiletilamina.

A temperatura de reação na preparação da base de Schiff está

entre 0° C e 60° C, preferencialmente, entre 20° C e 30° C.

Os tempos de reação estão entre 1 hora e 15 horas, preferencialmente, entre 4 horas e 6 horas.

5 A redução da base de Schiff com hidrogênio e um catalisador heterogêneo é iniciada somente quando a formação da base de Schiff é terminada: se é começada antes, as reações secundárias se tornam importantes, às vezes preponderantes, com perdas nos rendimentos e pureza. Uma dessas reações secundárias, a mais importante, causa a formação de alcoóis benzílicos por redução do grupo carbonila do (fluorbenziloxi)benzaldeído
10 de escolha.

Os catalisadores heterogêneos preferidos são catalisadores de níquel, ródio, paládio, ou de platina, em um suporte inerte tal como, por exemplo, carbono, alumina e sílica, preferencialmente carbono e alumina, e são usados em uma quantidade entre 2% e 20% de 4-(3- ou 2-
15 fluorbenziloxi)benzaldeído, preferencialmente entre 5% e 10%.

Os catalisadores de platina e de paládio são os mais preferidos.

A platina em carbono ativo, em particular, fornece excelentes resultados ambos em termos de rendimentos, que são quase quantitativos, e seletividade, na medida em que somente a ligação dupla imínica é reduzida
20 enquanto a ligação entre o átomo de carbono benzílico e os heteroátoms permanece inalterada. Verificou-se que a safinamida e a ralfinamida são surpreendentemente estáveis nas condições de reação de redução e esse é um elemento importante na produção industrial de grandes quantidades de safinamida ou ralfinamida, na medida em que um prolongamento do tempo
25 de reação incidental não danificaria os produtos finais.

Os melhores resultados foram obtidos com 5% Pt/C úmido (50% H₂O) e em particular, com 5% Pt em pó de carbono por Engelhard S.r.l., Roma, Itália. A reação de hidrogenação é normalmente executada sob uma pressão de hidrogênio compreendida entre 1 bar e 10 bars, preferencialmen-
30 te entre 3 bars e 6 bars e em temperatura entre 10° C e 70° C, preferencialmente entre 25° C e 40° C.

Os tempos de redução podem variar de 1 hora a 20 horas, de

acordo com a temperatura, pressão, concentração, turbulência, etc., todos os fatores bem conhecidos aos versados na técnica.

Os melhores resultados foram obtidos com tempos de reação de 4 – 6 horas.

5 No fim da reação o catalisador é recuperado por filtração e reutilizado ou regenerado: o solvente de reação é destilado sob pressão reduzida, o resíduo é dissolvido em solvente orgânico imiscível com água e os sais inorgânicos são removidos por lavagem com água.

10 A safinamida ou ralfinamida bruta final é recuperada removendo-se por destilação o solvente orgânico sendo que eles são dissolvidos.

 A safinamida ou ralfinamida bruta é então purificada por cristalização. A cristalização é preferencialmente executada adicionando-se a uma solução do respectivo composto bruto de fórmula (Ia) ou (Ib) em um solvente orgânico inerte um não solvente orgânico inerte imiscível. O solvente inerte
15 orgânico é preferencialmente selecionado de hidrocarbonetos aromáticos tal como benzeno, tolueno, dimetil benzeno, e etilbenzeno e acetatos de alquila inferior e, mais preferencialmente, é acetato de etila. O não solvente orgânico inerte miscível é preferencialmente selecionado a partir dos hidrocarbonetos alifáticos inferiores, tal como hexano e heptano, e ciclohexano, mais preferencialmente, é n-hexano.
20

 As bases são então transformadas nos sais desejados de acordo com métodos conhecidos, em particular, elas são transformadas em sal de metanossulfonato, que tem as propriedades físico-químicas (estabilidade, granulometria, fluidez, etc.) adequadas para a subsequente formulação em
25 uma preparação farmacêutica para uso como medicamento.

Exemplo 1

Preparação de 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído purificado (IVb) por catálise de transferência de fase

30 Uma mistura de cloreto de 2-fluorbenzil (5 kg, 34,58 mol), 4-hidroxibenzaldeído (3,9 kg, 31,94 mol), carbonato de potássio (4,3 kg, 31,11 mol) e brometo de tetradecil trimetilamônio (0,41 kg, 1,22 mol) em tolueno (9,5 kg) é lentamente levada, sob agitação e sob nitrogênio, à temperatura

de refluxo e submetida a refluxo por 6 horas.

A solução é então concentrada em pressão ambiente, 3 kg de tolueno são adicionados e destilados e esse procedimento é repetido mais uma vez.

5 A mistura heterogênea é então resfriada à temperatura ambiente e o sólido é eliminado por filtração. O solvente residual é então eliminado sob pressão reduzida e ao resíduo oleoso 1,2 kg de tolueno são adicionados. A mistura é aquecida a aproximadamente 40° C e a ela adicionadas algumas gramas de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído puro.

10 A mistura heterogênea é agitada por 15 minutos a 35 – 40° C e então adicionada com n-hexano (9 kg) nessa temperatura, em 30 minutos. Depois de resfriar a 0 – 5° C e agitar por uma hora mais nessa temperatura, o sólido é coletado por filtração e seco sob pressão reduzida para obter 6,5 kg (87,6% rendimento) de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído; m.p. 56,7° C
15 (DSC, 5°C/min).

A reação acima é repetida em uma escala de 1:100 com o uso de 39 g (0,319 mol) de 4-hidroxibenzaldeído como o material de partida e seguindo o procedimento descrito acima, com a exceção de que, depois da eliminação do solvente de reação e adição de tolueno ao resíduo oleoso, a
20 mistura obtida é aquecida a aproximadamente 30 - 35° C (ao invés de 40° C) e, depois de adicionar uma pequena quantidade de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído, a mistura heterogênea é agitada por 15 minutos a 30° C (ao invés de 35 – 40° C) antes de adicionar n-hexano.

O rendimento é 66,8 g (90%) de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído, m.p. 56,7° C (DSC, 5° C/min), tendo uma pureza CG de 92,2 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 0,01% do peso de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído determinado por CG (ver Exemplo 16B).

(*) Os rendimentos relatados neste exemplo e nos seguintes, quando não especificado de outra forma, pretendem ser rendimentos molares.

30 1.1. Purificação Adicional de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído por Cristalização

Um quilograma do produto preparado de acordo com o procedi-

mento descrito no Exemplo 1 é dissolvido em 2 kg de diisopropil éter em re-fluxo sob agitação.

A solução é resfriada a 50 – 55° C em 10 – 15 minutos e a ela adicionadas algumas gramas de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído puro.

5 A suspensão é resfriada a 10 – 15° C durante 45 - 60 minutos e agitada por mais uma hora.

O precipitado é finalmente coletado por filtração, lavado com diisopropil éter (0,2 kg) frio e seco sob pressão reduzida para obter 0,93 kg de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído com pureza CG de 99,8 (% de área, ver Ex-
10 xemplo 16A) e um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (Vb) de 0,005% do peso determinado por CG de acordo com o Exemplo 16B.

1.2. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) por Catálise de Transferência de Fase (CTF) Usando Diferentes Catalisadores.

15 O 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado por alquilação de 4-hidroxibenzaldeído (0,39 g) com cloreto de 2-fluorbenzila seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 1, mas usando três catalisadores de transferência de fase diferentes.

Os resultados são relatados na seguinte Tabela 4.

20 Tabela 4

Experimento	Catalisador de Transferência de Fase (CTF)	% Vb **	% de Rendimento
1,2(a)	Brometo de tetra-butyl fosfônio		
		0,03	85,0
1,2(b)	Aliquat 336*		
		0,03	88,8
1,2(c)	PEG 400		
		0,14	96,0

* Aliquat 336: cloreto de tricaprililmetilamônio

** % Vb: teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (% do peso)

O teor de Vb é determinado por CG de acordo com o Exemplo 16B.

1.3. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) por Catálise de

5 Transferência de Fase (CTF) em xileno.

O 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado em 86,6% de rendimento com um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,02% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B) reagindo 4-hidroxibenzaldeído (0,39 g) com cloreto de 2-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 1, mas substituindo o tolueno por xileno como o solvente.

1.4. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) por Catálise de Transferência de Fase usando Hidróxido de Potássio como uma Base

O 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado em 86,7% de rendimento com um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,51% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B) reagindo 4-hidroxibenzaldeído (0,39 g) com cloreto de 2-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 1, mas usando hidróxido de potássio (0,35 mol) ao invés de carbonato de potássio.

20 Esse produto pode ser adicionalmente purificado por cristalização de acordo com o Exemplo 1.1.

1.5. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) por Catálise de Transferência de Fase usando Brometo de 2-fluorbenzila

O 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado em 88,6% de rendimento com um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,07% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B) reagindo 4-hidroxibenzaldeído (15,6 g) com brometo de 2-fluorbenzila ao invés de cloreto de 2-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 1.

Exemplo 2

30 Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida, Ib) de alto grau de pureza (reação em etapa única)

Um autoclave é carregado com 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído

(2,0 kg, 8,69 mol) preparado de acordo com o Exemplo 1, e então uma solução preparada separada com hidrocloreto de L-alaninamida (1,2 kg, 9,63 mol) e trietilamina (0,97 kg, 9,63 mol) em metanol (9,5 kg) é adicionada a esse.

5 A mistura é agitada a 20 – 25° C por aproximadamente 1 hora e então, depois de adicionar a esta algumas gramas de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida, a agitação é continuada por mais 15 minutos. À mistura heterogênea agitada, metanol (1,6 kg) e Pt/C 5% úmido (50% H₂O) (Engelhard cod.Escat 22, Engelhard S.r.l., Roma, Itália) (0,28 g) são então adicionados a 20 – 25° C.

O ar é purgado a partir do autoclave com nitrogênio e então o hidrogênio é introduzido a 5,0 bar e a pressão é mantida nesse valor durante o curso da hidrogenação.

15 Depois de 5 horas a 30 – 35° C, a mistura reacional é resfriada a 15° C e, depois da adição de metanol (4,8 kg) e aquecimento a 40 – 45° C, a suspensão é filtrada e o sólido é lavado com metanol (1,6 kg).

O solvente é eliminado sob pressão reduzida em aproximadamente 30° C e o resíduo é adicionado com água (5 L) a 20 – 25° C em resfriamento e sob agitação, à medida em que a adição de água é um processo exotérmico. A mistura heterogênea é adicionalmente resfriada a 15 – 20° C, mantida nessa temperatura por 1 hora e então filtrada. O sólido coletado é lavado com água fria (4 L) e seco sob pressão reduzida para obter 2,23 kg (85,0% de rendimento) de ralfinamida com uma pureza HPLC de 98,8 (% de área) determinada de acordo com o método do Exemplo 17A e um teor de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida C,O-dialquilada de 0,01% do peso determinado por HPLC, de acordo com o método do Exemplo 17B.

2.1. Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ib) com alto grau de pureza usando um catalisador de paládio

30 Uma mistura de 5g de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído, preparada de acordo com o Exemplo 1 e a quantidade correspondente de hidrocloreto de L-alaninamida e trietilamina é hidrogenada de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 2, mas com o uso de Pd/C 10% úmido (50% de

H₂O) ao invés de Pt/C 5% úmido (50% de H₂O) para obter (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (Ib) em um rendimento de 70%.

Exemplo 3

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (metanossulfonato de ralfinamida, Id) de alto grau de pureza

A ralfinamida (2,8 kg, 9,26 mol), preparada como descrito no Exemplo 2, é dissolvida em isopropanol (19,5 kg) e mantida a 65 – 70° C e sob agitação em temperatura inerte.

Depois de tratamento com carvão vegetal (150 g) e filtração, à solução é adicionada metanossulfonato de ralfinamida puro e, ácido metanossulfônico (900 g, 9,36 mol) é adicionado em 30 minutos, sob agitação e em uma temperatura de 50 – 55° C. A suspensão é então resfriada a 15 – 20° C em 2 horas e a agitação é continuada por mais uma hora. O sólido é finalmente coletado por filtração e seco sob pressão reduzida para fornecer 3,59 kg (97,3% de rendimento) de metanossulfonato de ralfinamida.

A pureza HPLC do produto obtido é 99,8 (% de área, ver Exemplo 17A) e o teor de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida C,O-dialquilado é 0,005% do peso (ver Exemplo 17B); m.p. 240,6° C por DSC (5° C/min).

A pureza enantiomérica do metanossulfonato de ralfinamida determinada com coluna HPLC quiral é maior do que 99,8 (% de área, ver Exemplo 18).

Exemplo 4

Preparação de 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVa) em solução de etanol

A uma mistura de 4-hidroxibenzaldeído (1,52 kg, 12,45 mol), carbonato de potássio (1,72 kg, 12,45 mol), iodeto de potássio (0,2 kg, 1,20 mol) em etanol (13,0 kg), 1,8 kg de cloreto de 3-fluorbenzila (1,80 kg, 12,45 mol) são adicionado sob agitação em temperatura ambiente.

A mistura é gradualmente aquecida a refluxo e então mantida nessa temperatura por 6 horas.

A mistura reacional é então permitida a resfriar em 25° C, a sus-

pensão é filtrada e o sólido é lavado com etanol (1,0 kg); as soluções de etanol são combinadas e então concentradas em pressão reduzida até que um resíduo de aproximadamente 3,5 kg é obtido.

5 A esse resíduo, tolueno (5,0 kg) e água (1,7 kg) são adicionados, a mistura de solvente é agitada vigorosamente por 30 minutos e, depois de separação da fase aquosa, a camada orgânica é evaporada à securo sob pressão reduzida para fornecer 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído.

A esse produto dissolvido em 2 kg de tolueno, uma adição de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é feita sob agitação a 20 – 25° C, então n-hexano (3,8 kg) é adicionado em 30 minutos e a mistura é resfriada a 0° C sob agitação.

Depois de 2 horas, o sólido é filtrado e lavado com n-hexano (1,3 kg). Depois de secar, 2,6 kg (90,7% de rendimento) do produto desejado são obtidos, com uma pureza cromatográfica a gás de 99,9 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,005% do peso determinado por G.C. (% de área, ver Exemplo 16B); m.p. 43,1° C por DSC 5° C/min.

Exemplo 5

20 Preparação de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) por Catálise de Transferência de Fase

Uma mistura de cloreto de 3-fluorbenzila (5 kg, 34,58 mol), 4-hidroxibenzaldeído (3,9 kg, 31,94 mol), carbonato de potássio (4,3 kg, 31,11 mol) e brometo de tetradecil trimetilamônio (0,41 kg, 1,22 mol) em tolueno (13,5 kg) é lentamente levada à temperatura de refluxo sob agitação e sob atmosfera de nitrogênio, e então submetida a refluxo por 6 horas.

A solução é concentrada em temperatura ambiente e então 3 kg de tolueno são adicionados e destilados. Esse procedimento é repetido mais uma vez.

30 A mistura heterogênea é então resfriada em temperatura ambiente e o sólido é eliminado por filtração. O solvente residual é eliminado sob pressão reduzida e então 1,2 kg de tolueno são adicionados ao resíduo oleoso. A mistura é agitada a 20 – 25° C e a ela são adicionadas algumas gra-

mas de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído puro, e então adicionada com n-hexano (9 kg) nessa temperatura, em 30 minutos.

Depois de resfriamento a 0 – 5° C e agitação por mais uma hora nessa temperatura, o sólido é coletado por filtração e seco sob pressão reduzida para obter 6,5 kg (85% de rendimento, pureza CG 99,9 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,008% do peso (ver Exemplo 16B).

5.1. Purificação Adicional de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) por Cristalização

Um quilograma de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído preparado de acordo com o Exemplo 5, é dissolvido em 2 kg de diisopropil éter em refluxo sob agitação.

A solução é resfriada a 50 – 55° C em 10 – 15 minutos e a ela adicionadas algumas gramas de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído puro.

A suspensão é resfriada a 10 – 15° C durante 45 – 60 minutos e agitada por mais uma hora.

O precipitado é finalmente coletado por filtração, lavado com diisopropil éter frio (0,2 kg) e seco sob pressão reduzida para obter 0,95 kg de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído com pureza CG de 99,9 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído inferior a 0,005% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B).

5.2. Preparação de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) por Catálise de Transferência de Fase usando Brometo de 3-fluorbenzila

O 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado em 86,1% de rendimento com um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,07% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B) reagindo-se 4-hidroxibenzaldeído (15,6 g) com brometo de 3-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 5, mas usando brometo de 3-fluorbenzila ao invés de cloreto de 3-fluorbenzila.

O então obtido 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é purificado de acordo com o Exemplo 5.1 para produzir o produto título em 97,3% de rendimento com um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído de

0,07% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B).

5.3. Preparação de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) por Catálise de Transferência de Fase usando metanossulfonato de 3-fluorbenzila.

O 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é preparado em 97,5% de rendimento com um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,45% do peso, determinado por CG (ver Exemplo 16B), reagindo-se 4-hidroxibenzaldeído (15,6 g) com metanossulfonato de 3-fluorbenzila ao invés de cloreto de 3-fluorbenzila de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 5. Esse produto é adicionalmente purificado de acordo com o procedimento do Exemplo 5.1.

Exemplo 6

Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safinamida, Ia) de alto grau de pureza (reação em etapa única)

Um autoclave é carregado com 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (2,0 kg, 8,69 mol) preparado como no Exemplo 4, e então uma solução, preparada separada, com hidrocloreto de L-alaninamida (1,2 kg, 9,63 mol) e trietilamina (0,97 kg, 9,63 mol) em metanol (7,1 kg) é adicionada a esse.

A mistura é agitada a 20 – 25° C por 1 hora e, depois de adicionar a esta algumas gramas de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida, a agitação é continuada por mais 15 minutos. À mistura heterogênea agitada, metanol (1,8 kg) e Pt/C 5% úmido (50% H₂O) (Engelhard cod.Escat 22) (0,3 g) são então adicionados a 20 – 25° C.

O ar é purgado a partir do autoclave com nitrogênio e então o hidrogênio é introduzido a 5,0 bar.

Depois de 5 horas a 30 – 35° C, a mistura é resfriada a 15° C, metanol (4,8 kg) é adicionado e a mistura é aquecida a 40 – 45° C; finalmente o sólido é filtrado e lavado com metanol (1,6 kg).

O solvente é eliminado sob pressão reduzida em aproximadamente 30° C e então a mistura de acetato de etila (23,0 kg) e água (18,0 kg) é adicionada ao resíduo. Depois de agitação por 15 minutos, a fase aquosa é separada e extraída com acetato de etila (7,0 kg). As fases orgânicas cole-

tadas são concentradas até que um resíduo de aproximadamente 6,0 kg é obtido. A esse resíduo, n-heptano (10,8 kg) é adicionado e a mistura é agitada em 20° C por aproximadamente 2 horas. O sólido é então coletado por filtração e lavado com n-heptano.

5 Depois de secar o sólido sob pressão reduzida, 2,41 kg (91,8% de rendimento) do composto título são obtidos com uma pureza HPLC de 98,4 (% de área, ver Exemplo 17A), e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)-benzilamino]propanamida de 0,005% do peso (ver Exemplo 17B).

10 6.1. Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) com alto grau de pureza usando um Catalisador Pd

 (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (5g) na presença das quantidades correspondentes de hidrocloreto de L-alaninamida e trietilamina é hidrogenado de acordo com o mesmo procedimento de Exemplo 6, usando
15 Pd/C 10% úmido (50% H₂O), ao invés de Pt/C 5% úmido (50% H₂O), para produzir Ia em 72% de rendimento.

6.2. Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) de alto grau de pureza por hidrogenação em 1 bar

 Uma mistura de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído, hidrocloreto de L-alaninamida e trietilamina é hidrogenada de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 6, mas em 1 bar, H₂ ao invés de 5 bar/H₂.
20

 O rendimento de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é 90% com uma pureza HPLC de 98,7 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida de 0,005% do peso determinado por
25 HPLC (ver Exemplo 17B).

6.3. Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) com alto grau de pureza (reação em etapa única) usando base L-alaninamida

30 (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (10g) é reagido de acordo com o mesmo procedimento do Exemplo 6, mas usando base L-alaninamida, ao invés de seu hidrocloreto e trietilamina. O rendimento de

(S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é 92% com uma pureza HPLC de 99,7 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorobenziloxy)benzilamino]propanamida inferior a 0,005% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

5 Exemplo 7

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (metanossulfonato de safinamida, Ic) de alto grau de pureza

A safinamida (2,41 kg, 7,97 mol), preparada como descrito no Exemplo 6, é dissolvida em acetato etílico (56,5 kg) em 65° C e descolorido com carvão vegetal (100 g).

Depois de filtração, a solução é agitada e a ela adicionadas algumas gramas de metanossulfonato de safinamida e, depois de 15 minutos, ácido metanossulfônico (850 g, 8,84 mol) é adicionado em 30 minutos, a uma temperatura de 50 – 55° C. A suspensão é resfriada sob agitação a 20 – 25° C durante 2 horas e agitada por mais uma hora. O precipitado é finalmente coletado por filtração e seco sob pressão reduzida para obter 2,83 kg (89,1% de rendimento) de metanossulfonato de safinamida.

O teor de impureza metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (Ilc) medido por HPLC (ver Exemplo 17B) é de 0,005% do peso. O composto título tem m.p. 216,8° C por DSC (5° C/min).

A quantidade enantiomérica, medida com uma coluna HPLC quiral, está acima 99,9 (% da área, ver Exemplo 19).

¹H-RMN (D₂O) (Bruker A V300) δ (ppm, com relação a H₂O a 4,7 ppm): 1,43 (3H, d, J = 7 Hz, CH₃), 2,66 (3H, s, CH₃SO₃H), 3,87 (1H, q, J = 7 Hz, H-2), 3,97 (2H, bs, CH₂NR), 4,89 (2H, s, CH₂R), 6,88 e 7,23 (4H, sistema aromático p-disubstituído AA'XX'), 6,90 - 7,22 (4H, H aromático).

¹³C-RMN (D₂O) (Bruker A V300) δ ppm: 15,68 (CH₃), 38,27 (CH₃SO₃H), 48,99 (CH₂NR), 54,81 (CH), 69,00 (OCH₂), 114,15 (d, J_{C-F} = 21 Hz, CH aromático), 114,76 (d, J_{C-F} = 20 Hz, CH aromático), 115,38 (CH aromático), 123,06 (d, J_{C-F} = 24 Hz, CH aromático), 123,24, 130,29 (d, J_{C-F} = 6

Hz, CH aromático), 131,54 (CH aromático), 138,76 (d, $J_{C-F} = 7$ Hz, CH aromático), 158,52, 162,89 (d, $J_{C-F} = 245$ Hz, C-F), 171,92 (CO).

Exemplo 8

Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safina-
mida, Ia) de alto grau de pureza, com isolamento da base de Schiff interme-
diária (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]

a) (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida (VIa)

A uma suspensão de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (60,0 g, 0,26 mol), preparada como no Exemplo 5, e hidrocloreto de L-alaninamida (35,7 g, 0,29 mol) em metanol (280 mL), trietilamina (29,1 g, 0,29 mol) é adicionado a temperatura ambiente com agitação sob atmosfera de nitrogênio. A agitação é mantida por mais uma hora.

À solução são então adicionados alguns mg de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida, a temperatura é diminuída para 5 – 10° C e a agitação continuada por 2 horas.

O sólido é coletado por filtração e lavado com metanol a 0° C. Depois de secá-lo a temperatura reduzida, 57,3 g (73,2% de rendimento) do composto título são obtidos com m.p. 112,0° C por DSC (5° C/min).

¹H-RMN (DMSO-d₆) (Bruker A V300) δ (ppm, com relação a TMS a 2,55 ppm, solvente DMSO a 3,35 ppm): 1,31 (3H, d, $J = 7$ Hz, CH₃), 3,86 (1H, q, $J = 7$ Hz, H-2), 5,18 (2H, s, CH₂OR), 7,08 e 7,79 (4H, sistema aromático p-disubstituído AA'XX'), 7,10 – 7,50 (4H, m, H aromático), 8,27 (1H, s, CH = NR).

¹³C-RMN (DMSO-d₆) (Bruker A V300) δ (ppm): 20,5 (CH₃), 67,6 (CH), 48,99 (CH₂NR), 58,4 (OCH₂), 114,1 e 114,4 (d, $J_{C-F} = 21$ Hz, CH aromático), 114,5 e 114,8 (d, $J_{C-F} = 21$ Hz, CH aromático), 114,8 (CH aromático), 123,5 (d, $J_{C-F} = 2$ Hz, CH aromático), 129,0 e 129,9 (CH aromático), 130,4 e 130,5 (d, $J_{C-F} = 7$ Hz, CH aromático), 139,6 e 139,7 (d, $J_{C-F} = 6$ Hz, C quaternário aromático), 160,2, 160,5 e 163,8 (d, $J_{C-F} = 245$ Hz C-F), 160,6 (CH = N), 174,8 (CO).

b) (S)-2-[4-(3-Fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia)

Um autoclave é carregado com (S)-2-[4-(3-

fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida (16,0 g; 0,053 mol), preparado como descrito acima, e Pt/C 5% úmido (50% H₂O) (1,7 kg: Engelhard S.r.l., Roma, Itália) e então metanol (90 mL) é adicionado a esse. O autoclave é purgado a partir de ar com nitrogênio e então o hidrogênio é introduzido em 5,0 bars. A reação é mantida a 5,0 bars e a 35° C por 1 hora. Depois de resfriamento a temperatura ambiente e eliminação do catalisador por filtração, o solvente é destilado sob pressão reduzida até que um resíduo de aproximadamente 30 g é obtido. A esse resíduo, uma mistura de acetato etílico (150 mL) e H₂O (110 mL) é adicionada e a mistura heterogênea é aquecida a 40° C, até que das fases claras são obtidas. Essas duas fases são separadas e a camada aquosa é extraída com 50 mL de acetato etílico a 40° C. As fases orgânicas são coletadas e evaporadas à securo. O procedimento é repetido duas vezes adicionando-se a cada hora 90 mL de acetato etílico para tornar o produto anidro. 95 ml de n-heptano são então adicionados lentamente e sob agitação ao resíduo. A mistura é então mantida sob agitação por 3 horas a 20° C. O sólido formado é coletado por filtração, lavado com n-heptano (15 mL) e seco sob pressão reduzida para obter 15,2 g (94,8% de rendimento) de safinamida com uma pureza HPLC de 99,8 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]-propanamida inferior a 0,005% do peso medido por HPLC (ver Exemplo 17B).

Exemplo 9

Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida, Ib) de alto grau de pureza, com isolamento da base de Schiff intermediária (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida (VIb)
 a) (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida (VIb)

A (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida é preparada em um rendimento de 88%, m.p. 121° C (capilar), seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 8, etapa (a), mas usando 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído ao invés de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído.

¹H-RMN: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, com relação a TMS): 1,46 (3H, d, J = 7,0 Hz, CH₃), 3,91 (1H, q, J = 7,0 Hz, CH-CO), 5,17 (2H, s,

O-CH₂), 7,02 (2H, d, J = 8,9 Hz, orto-H aromático a O-CH₂), 7,09 (1H, DDD, J_{H-F} = 9,78 Hz, J_{orto} = 8,55 Hz, J_{meta} = 1,23 Hz, orto-H aromático para F), 7,15 (1H, dt, J_{orto} = 7,35 Hz, J_{meta} = 1,23 Hz, para-H aromático para F), 7,27 – 7,40 (1H, m, para-H aromático para CH₂), 7,48 (1H, dt, J_{orto} = J_{H-F} = 7,35 Hz, J_{meta} = 1,53 Hz, orto-H aromático para CH₂), 7,71 (2H, d, J = 8,9 Hz, orto-H aromático para CH=N), 8,17 (1H, s, C=N).

¹³C-RMN: (CDC1₃, 75,4 MHz, 298K) δ (ppm): 21,4 (CH₃), 63,8 (OCH₂), 68,4 (H₂NCOCH), 115,0 (d, J_{C-F} = 22,4 Hz, CH aromático), 115,5 (d J_{C-F} = 20,7 Hz, CH aromático), 123,7 (d, J_{C-F} = 14,4 Hz, C aromático quaternário), 124,5 (bd, CH aromático), 129,0 (C aromático quaternário), 129,8 (bd, CH aromático), 130,1 (bd, CH aromático 2), 160,5 (d, J_{C-F} = 246,4 Hz, C aromático quaternário), 161,1 (C-O aromático), 161,1 (C=N), 176,9 (CONH₂).

b) (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ib)

A (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é preparada em um rendimento de 93% a partir de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilidenoamino]propanamida seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 8, etapa (b). O teor de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)-benzilamino]propanamida é 0,02% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

Exemplo 10

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)-benzilamino]propanamida (IIc)

a) 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va)

Em um frasco de fundo redondo de 4 L mantido sob atmosfera de nitrogênio, 4-hidroxibenzaldeído (400 g, 3,28 mol), carbonato de potássio (453 g, 3,28 mol), tolueno (2 L) e cloreto de 3-fluorbenzila (1400 g, 9,68 mol) são adicionados em seqüência e a mistura é submetida a refluxo sob agitação por 5 dias. Nesse ponto, uma análise CG revela que a mistura reacional contém 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído e 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em uma relação de 91,4:8,6 (área/área, ver Exemplo 16A).

A mistura reacional é resfriada a temperatura ambiente e então 2

L de água são adicionados sob agitação. A fase orgânica é separada e o solvente é destilado sob pressão reduzida (20 mmHg) a 35° C até que nenhum solvente mais passe. A pressão é então diminuída para 3 mmHg e a temperatura externa é elevada até 300° C e a fração que destila entre 255° C e 265° C (40,6 g) é coletada.

Uma análise CG mostra uma relação área/área e derivado C,O-dibenzilado (Va) do composto título versus um monoalquilado (IVa) de 99,6:0,4 (área/área, ver Exemplo 16A).

¹H-RMN: (CDCl₃) (Bruker AV300) δ (ppm, com relação a TMS): 4,05 (2H, s, CH₂), 5,13 (2H, s, OCH₂), 6,85 – 7,40 (9H, m, H aromático), 7,73 – 7,79 (2H, m, orto-H aromático para C=O), 9,88 (s, CHO).

¹³C-RMN: (CDCl₃) (Bruker AV300) δ (ppm): 36,1 (CH₂), 69,4 (CH₂O), 111,4 (CH aromático), 112,9 e 113,2 (d, J_{C-F} = 20 Hz, CH aromático), 113,9 e 114,2 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 114,9 e 115,0 (d, J_{C-F} = 21 Hz, CH aromático), 115,7 e 115,9 (d, J_{C-F} = 25 Hz, CH aromático), 122,6 (d, J_{C-F} = 3 Hz, CH aromático), 124,4 (d, J_{C-F} = 3 Hz, CH aromático), 129,6 e 129,8 (d, J_{C-F} = 8 Hz, CH aromático), (d, J_{C-F} = 7 Hz, C aromático quaternário), 129,9 (C aromático quaternário), 130,0 (C aromático quaternário), 130,1 e 130,2 (d, J_{C-F} = 7 Hz, CH aromático), 131,2 (CH aromático), 131,5 (CH aromático), 138,3 (d, J_{C-F} = 7 Hz, C aromático quaternário), 142,3 (d, J_{C-F} = 7 Hz, C aromático quaternário), 161,0, 161,2 e 164,4 (d, J_{C-F} = 240, 2 sobreposições de C-F), 190,8 (CHO).

b) (S)-2-[3-(3-Fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)-benzilamino]propanamida (IIa)

A 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (35,6 g, 0,105 mol) em um frasco de 500 mL, uma solução previamente preparada adicionando-se cuidadosamente sob agitação trietilamina (12 g, 0,119 mol) a uma solução de 170 mL de metanol de hidrocloreto de L-alaninamida (14,8 g, 0,119 mol), é adicionada em temperatura ambiente.

Essa mistura reacional é agitada por 1 hora em temperatura ambiente e então ela é transferida a um autoclave de 1,8 L e adicionada com 3,4 g de Pt/C 5% úmido (50% H₂O).

O ar é purgado a partir do autoclave com nitrogênio e então hi-

drogênio é introduzido a 5,0 bars.

A reação é executada em uma temperatura de 35° C por 3-5 horas.

Depois de resfriamento em temperatura ambiente e eliminando o catalisador por filtração, o solvente é destilado sob pressão reduzida até que um resíduo de aproximadamente 65 g é obtido. A esse resíduo, uma mistura de acetato etílico (340 mL) e água (250 mL) é adicionada e a mistura heterogênea é aquecida a 40° C e mantida nessa temperatura sem agitação, até que duas fases claras são obtidas. As duas fases são separadas e a orgânica é destilada sob pressão reduzida, até que um resíduo de aproximadamente 50 g é obtido.

Esse resíduo é dissolvido em 220 mL de acetato etílico e o solvente é destilado sob pressão reduzida com uma temperatura externa de 40° C. Essa operação é repetida duas vezes e o composto título é obtido como resíduo sólido.

c) Metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)-benzilamino]propanamida (IIc)

Em um reator de vidro de 2 L, 42,4 g (0,103 mol) de base (S)-3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida são dissolvidos em 950 mL de acetato etílico.

A solução é aquecida sob agitação a 50 – 55° C e mantida nessa temperatura por uma hora. A essa solução, 14,5 g (0,15 mol) de ácido metanossulfônico são adicionados em 20 minutos, e a temperatura é diminuída para 20° C em 90 minutos. Depois de 30 minutos, o sólido é coletado por filtração, seco a 50° C sob pressão reduzida e então cristalizado a partir de metanol (metanol:produto 1:5 do peso) para obter 25,1 g de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida, m.p. 181° C (capilar).

¹H-RMN: (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm, com relação a TMS): 1,44 (3H, d, J = 7 Hz, CH₃), 2,35 (3H, s, CH₃SO₃), 3,81 (1H, q, J = 7Hz, H-2), 3,99 (2H, bs, CH₂ benzílico), 4,02 (2H, sistema AB, CH₂N), 5,17 (2H, s, CH₂OR), 6,98 – 7,63 (11H, m, H aromático), 7,62 e 7,75 (2H, bs, a-

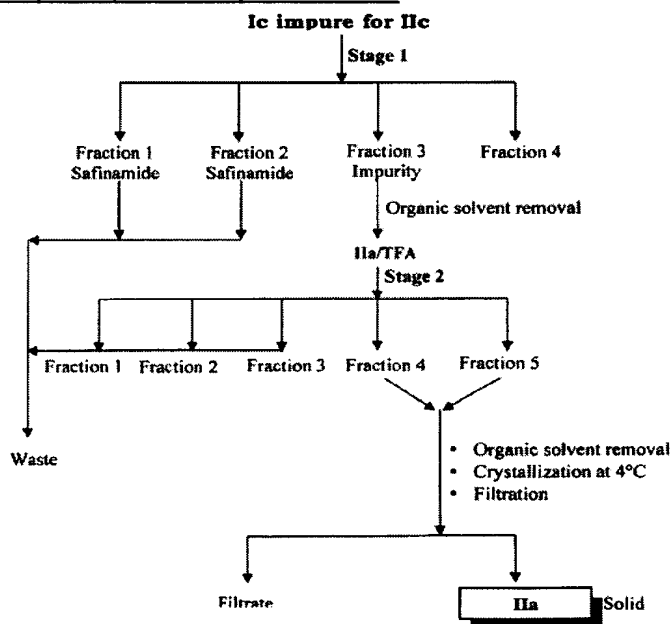
mida NH₂), 9,02 (2H, amplo, NH₂⁺).

¹³C-RMN: (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm): 15,9 (CH₃), 35,5 (CH₂), 39,7 (CH₃SO₃H), 48,1 (CH₂NR), 54,4 (CH), 68,4 (OCH₂), 112,2 (CH aromático), 112,7 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 113,8 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 114,5 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 115,2 (d, J_{C-F} = 22 Hz, CH aromático), 123,2 (CH aromático), 123,8, 124,6 (CH aromático), 128,7 e 130,0 (d, J_{C-F} = 6 Hz, CH aromático), 130,04 (CH aromático), 130,3 (d, J_{C-F} = 6 Hz, CH aromático), 132,6 (CH aromático), 139,8 (d, J_{C-F} = 7 Hz), 143,4 (d, J_{C-F} = 7 Hz), 158,1, 160,5 e 163,7 (d, J_{C-F} = 240 Hz, C-F), 160,6 e 163,8 (d, J_{C-F} = 240 Hz, C-F), 170,5 (CON).

Uma amostra (90 mg) de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIa) é isolada também por HPLC preparativo de 200 g de metanossulfonato de safinamida (Ic) preparado de acordo com J. Med. Chem., 1998, 41, 579, método A, que o contém, como metanossulfonato (IIc) em 0,12% do peso.

A separação é executada em dois estágios (Estágio 1 e Estágio 2), de acordo com o seguinte esquema:

Isolamento de IIa por HPLC preparativo de metanossulfonato de safinamida (Ic) contaminado por 0,12% do peso de IIc



O escopo do primeiro estágio é isolar um produto bruto enriquecido com IIa/TFA (ácido trifluoracético).

As condições HPLC preparativas são relatadas abaixo:

Condições HPLC preparativas:

- 5 Instrumento: Waters Delta Prep 4000 (bomba recíprocante, controlador de gradiente com misturador de baixa pressão)
- Base LC Prep de Módulo de Compressão Radial (Waters)
- Detector Variável de UV Jasco 7125, o.p. 0,2 mm
- Impressora-plotadora Merk D2000
- 10 Coluna: Delta Pak C18, 15 µm, 40 x 100 mm (Waters)
- Eluente A: 70/30, Água/Acetonitrilo + 0,1% TFA
- Eluente B: 30/70, Água/Acetonitrilo + 0,1% TFA
- Taxa de Fluxo: 27,0 ml/min
- Gradiente: 40 min, isocrático com 100% de A, então para 100% de B em 1 minuto
- 15 Detecção: UV 227 nm
- Injeção: 5 g em 50 ml de água (por linha D de admissão de bomba)

Estágio 2

- 20 Esse estágio é necessário para eliminar TFA de IIa/TFA e para adicionalmente purificar IIa.

IIa/TFA é cromatografado usando as condições de HPLC preparativas dadas abaixo.

- 25 As frações 4 e 5 são combinadas juntas e evaporadas a 40° C sob vácuo até a remoção completa de acetonitrilo. A solução de água residual é mantida em um refrigerador a 4° C. O insolúvel é isolado por filtração e seco sob vácuo em temperatura ambiente para fornecer IIa (90 mg; 100% de pureza de HPLC).

Condições HPLC Preparativas:

- 30 Instrumento: Waters Delta Prep 4000 (bomba recíprocante, controlador de gradiente com misturador de baixa pressão)
- Detector Variável de UV Jasco 7125, o.p. 0,2 mm

Impressora-plotadora Merk D2000

Coluna: Symmetry C18, 15 μ m, 20 x 250 mm (Waters)

Eluente A: 70/30, Água/Acetonitrilo

Eluente B: 30/70, Água/Acetonitrilo

5 Taxa de Fluxo: 15,0 ml/min

Gradiente: 20 min, isocrático com 100% de A, então para 100% de B em 10 minutos

Detecção: UV 227 nm

10 Injeção: 50 μ l de solução de impureza "IIa/TFA" (por linha D de admissão de bomba)

Exemplo 11

Preparação de Metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIId)

a) 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído

15 É preparado seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 10, etapa (a) em uma escala 1:10, mas usando cloreto de 2-fluorbenzila ao invés de cloreto de 3-fluorbenzila. O rendimento molar é 3% com uma pureza 98,1 determinada por análise CG (% de área, ver Exemplo 16A). O produto tem m.p. 71° C (capilar).

20 ^1H -RMN: (CDCl_3 , 300 MHz, 298K) δ (ppm, com relação a TMS): 4,06 (2H, s, CH_2), 5,23 (2H, s, OCH_2), 6,95 – 7,40 (9H, m, H aromático), 7,67 (1H, bd, $J = 0,9$ Hz, orto-H aromático para $\text{C}=\text{O}$ e CH_2), 7,76 (1H, dd, $J_1 = 2,1$ Hz, $J_2 = 8,3$ Hz, orto-H aromático para $\text{C}=\text{O}$ e CH aromático), 9,84 (1H, s, CHO).

25 ^{13}C -RMN: (CDCl_3 , 75,4 MHz, 298K) δ (ppm): 29,2 (CH_2), 64,1 (OCH_2), 111,4 (CH aromático), 115,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 22$ Hz, CH aromático), 115,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 21,1$ Hz, CH aromático), 123,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 14,2$ Hz, C aromático quaternário), 124,1 (d, $J_{\text{C-F}} = 2,6$ Hz, CH aromático), 124,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,2$ Hz, CH aromático), 126,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 15,5$ Hz, C aromático quaternário), 128,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 8,1$ Hz, CH aromático), 129,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 6,2$ Hz, CH aromático), 130,0 (C aromático quaternário), 130,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 8,3$ Hz, CH aromático), 131,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 4,1$ Hz, CH aromático), 131,8 (CH aromático); 160,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 246,8$ Hz, C

30

aromático quaternário), 161,2 (d, J_{C-F} = 245,1 Hz, C aromático quaternário), 161,3 (C aromático quaternário); 191,1 (CHO).

b) (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIb)

(S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-

5 fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é preparada seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 10, etapa (b) usando 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído ao invés de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído. O rendimento é 83%; m.p. 161° C (capilar).

^1H -RMN: (CDCl_3 , 300 MHz, 298K) δ (ppm, com relação a TMS):

10 1,32 (3H, d, J = 6,7 Hz, CH_3), 1,97 (1H, bs, NH), 3,22 (1H, q, J = 6,7 Hz, CH-CO), 3,67 (2H, Abq, J = 12,8 Hz, H diastereotópico de NCH_2), 4,03 (2H, s, CH_2), 5,12 (2H, s, OCH_2), 5,98 (1H, bs, NH_2), 6,89 (1H, d, J_{orto} = 8,3 Hz, orto-H aromático a CH_2NH e CH aromático), 6,95 – 7,40 (10H, m, H aromático).

^{13}C -RMN: (CDCl_3 , 75,4 MHz, 298K) δ (ppm): 19,6 (CH_3), 29,2

15 (CH_2), 52,0 (NHCH_2), 57,7 (H_2NCOCH), 63,8 (OCH_2), 111,7 (CH aromático), 115,2 (d, J_{C-F} = 21,9 Hz, CH aromático), 115,3 (d, J_{C-F} = 21,3 Hz, CH aromático), 124,0 (d, J_{C-F} = 3,5 Hz, CH aromático), 124,3 (d, J_{C-F} = 2,9 Hz, CH aromático), 124,3 (d, J_{C-F} = 14,4 Hz, C aromático quaternário), 127,5 (CH aromático), 127,6 (d, J_{C-F} = 15,0 Hz, C aromático quaternário), 127,8 (d, J_{C-F} = 7,5 Hz, CH aromático), 128,8 (C aromático quaternário), 129,0 – 130,0 (m, 2 CH aromáticos), 130,5 (CH aromático), 131,3 (d, J_{C-F} = 4,6 Hz, CH aromático), 131,8 (C aromático quaternário), 155,6 (C aromático quaternário), 160,4 (d, J_{C-F} = 245,8 Hz, C aromático quaternário), 161,2 (d, J_{C-F} = 244,6 Hz, C aromático quaternário), 178,2 (CONH_2).

25 c) metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIc)

O metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é preparado seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 10, etapa (c), mas usando (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida como o material de partida. O

30 rendimento é 89%; m.p. 190° C (capilar).

^1H -RMN: (DMSO-d_6 , 300 MHz, 298K) δ (ppm, com relação a

TMS): 1,42 (3H, d, $J = 6,8$ Hz, CH_3CH), 2,33 (3H, s, CH_3SO_3), 3,50 – 4,20 (5H, m, CH-CO , CH_2 , H diastereotópico de NCH_2), 5,19 (2H, s, OCH_2), 6,95 – 8,00 (11H, m, H aromático), 9,02 (2H, bs, NH_2^+).

^{13}C -RMN: (DMSO- d_6 , 75,4 MHz, 298K) δ (ppm): 16,5 (CH_3), 28,8 (CH_2), 48,6 (NHCH_2), 54,9 (H_2NCOCH), 64,3 (OCH_2), 112,8 (CH aromático), 115,0 – 117,0 (2 CH aromáticos), 124,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 14,4$ Hz, C aromático quaternário), 124,4 (C aromático quaternário), 124,8 (CH aromático), 125,0 (CH aromático), 127,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 16,1$ Hz, C aromático quaternário), 128,6 (C aromático quaternário), 128,8 (CH aromático), 129,0 – 133,0 (m, 5 CH aromáticos), 156,9 (C aromático quaternário), 160,8 (d, $J_{\text{C-F}} = 245,2$ Hz, C aromático quaternário), 160,9 (d, $J_{\text{C-F}} = 243,5$ Hz, C aromático quaternário), 171,1 (CONH_2).

Exemplo 12

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safinamida) (Ic) a partir de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) contaminado por 1% do peso de impureza 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va)

A 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (10 g, pureza CG 98,9, % de área), 1% de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é adicionado e a mistura é convertida na base (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida safinamida seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 6. O rendimento é 84% com um teor de impureza (IIa) de 0,84% (Ver Exemplo 17B) do peso.

A base livre (S)-2-[4-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) é convertida no metanossulfonato correspondente seguindo o mesmo procedimento do Exemplo 7 para fornecer o metanossulfonato (Ic) em 98% de rendimento com um teor de impureza de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIc) de 0,62% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

Exemplo 13

Cristalização de metanossulfonato de safinamida (Ic) contaminado por impureza (IIc)

O metanossulfonato de safinamida contaminado por metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIc) de 0,62% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B), obtido de acordo com o Exemplo 12, é cristalizado usando cinco diferente(s) sistemas de solvente(s) dissolvendo em temperatura de refluxo e resfriando em temperatura ambiente.

Os resultados são relatados na seguinte Tabela 5

Tabela 5

Teste No.	Sistema e quantidade de solvente	% de peso de IIc em Ic depois de cristalização	% de Rendimento Molar
13a	2-PrOH/MeOH 2:1, 45	0,28	44,9
13b	EtOAc/MeOH 4:1, 50	0,15	29,6
13c	EtOH, 10	0,30	73,2
13d	Acetona/H ₂ O ~27:1, 40,5	0,08	20,6
13e	Acetonitrilo/H ₂ O 60:1, 30,5	0,09	69,3

(*) a % (de peso) é avaliada de acordo com o Exemplo 17B.

10 Exemplo 14

Preparação de metanossulfonato de (S)-2[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safrinamida, Ia) (Ic) de acordo com os métodos descritos na técnica anterior.

14.1. Preparação de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa)

15 14.1.a) Procedimento do Exemplo 1a de US 6.335.354 B2.

4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) é preparado pelo procedimento descrito no Exemplo 1a de US 6.335.354 B2.

Conseqüentemente, uma mistura de cloreto de 3-fluorbenzil (2,86 g, 19,80 mmol), 4-hidroxibenzaldeído (3,03 g, 24,80 mmol), K₂CO₃ (10,30 g, 74,50 mmol), NaI (137,1 mg, 0,91 mmol), e etanol (40 mL) é aquecida a refluxo em 70 minutos e mantida em temperatura de refluxo por 4 horas e 15 minutos.

Depois de desenvolver a mistura reacional, 4-(3-

fluorbenziloxi)benzaldeído é isolado como um óleo amarelo em rendimento de 95%.

O produto tem pureza CG de 97,6 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va) de 0,14% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B).

14.1.b) Procedimento de J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979

4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) é preparado pelo procedimento relatado em J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979.

Conseqüentemente, cloreto de 3-fluorbenzil (14,5 g, 100 mmol) é adicionado sob agitação e sob atmosfera de nitrogênio a uma solução de 4-hidroxibenzaldeído (12,2 g, 100 mmol) e de NaOH (4,0 g, 100 mmol) em etanol (100 mL).

A mistura é gradualmente aquecida em 25 minutos a refluxo e agitada em temperatura de refluxo por 6 horas e 20 minutos. A mistura reacional é filtrada e então concentrada em pressão reduzida para obter 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (23,43 g) como um resíduo sólido amarelo. Diclorometano (250 mL) é adicionado ao resíduo, o insolúvel é filtrado e a solução resultante é concentrada sob pressão reduzida para fornecer 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído como um sólido amarelo, em rendimento de 80,4%. O produto tem pureza CG de 91,6 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (Va) de 0,13% do peso determinado por CG (ver Exemplo 16B).

14.2. Preparação de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) e seu sal de metanossulfonato (Ic)

14.2.a) Procedimento de J. Med. Chem., 1998, 41, 579, método A

(S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) é preparada reagindo-se 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (10 mmol), preparado como descrito no Exemplo 14.1.a, e hidrocloreto de L-alaninamida (1,37 g, 11 mmol) seguido por redução com NaBH_3CN (0,50 g, 8 mmol). Depois de desenvolver a mistura reacional e depois da purificação por cromatografia rápida, (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é isolado como sólido branco em rendimento de 68,7%. O produto tem pureza HPLC de 96,2 (% de

área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIa) de 0,15% do peso (ver Exemplo 17B).

Uma mistura de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]-
5 propanamida (1,50 g, 4,96 mmol) e acetato etílico (40,2 mL) é aquecida a 50° C até que a solução clara é obtida. Ácido metanossulfônico (0,53 g, 5,51 mmol) é adicionado sob agitação em 15 minutos à solução e a mistura heterogênea resultante é resfriada sob agitação a 20° C em 90 minutos. Depois de 30 minutos a 20° C, o sólido é coletado por filtração, lavado com
10 acetato etílico (6 mL) e seco a 50° C em pressão reduzida por 15 horas para fornecer metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]-propanamida (Ic) como um sólido branco em um rendimento de 96,1%. O produto tem pureza HPLC de 98,6 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIc) de 0,10% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).
15

14.2.b) Procedimento de J. Med. Chem., 1998, 41, 579, método A

(S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) é preparada de acordo com o exemplo 14.2.a a partir de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (10 mmol), preparado como descrito no Exemplo
20 14.1.b., e hidrocloreto de L-alaninamida (1,37 g, 11 mmol) seguido por redução com NaBH₃CN (0,50 g, 8 mmol).

(S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia), é obtido como sólido branco em rendimento de 66,5%. O produto tem pureza HPLC de 88,5 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIa) de 0,064% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B). (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ia) é convertido no metanossulfonato correspondente (Ic) em um rendimento de 88,9% por tratamento com ácido metanossulfônico de acordo com o Exemplo 14.2.a. O produto tem uma
25 pureza HPLC de 97,7 (% da área, ver Exemplo 17A) e um teor de metanossulfonato
30 de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-

fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIc) de 0,05% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

Exemplo 15

Preparação de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida, Ib) (Id) de acordo com os métodos descritos na técnica anterior

15.1. Preparação de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb)

15.1.a) Procedimento do Exemplo 1a de US 6.335.354 B2

4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) é preparado de acordo com o Exemplo 14.1.a a partir de cloreto de 2-fluorbenzil (14,3 g, 98 mmol), 4-hidroxibenzaldeído (15,1 g, 123 mmol), K₂CO₃ (51g, 369 mmol), NaI (500 mg, 3,3 mmol), e 75 mL de etanol.

A mistura é mantida a refluxo por 12 horas. Depois de desenvolver a mistura reacional, 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é obtido em rendimento de 75% como um óleo amarelo. O produto tem pureza CG de 92,1 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído de 0,25% do peso determinado por C.G. (ver Exemplo 16B).

15.1.b) Procedimento de J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979

4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) é preparado de acordo com o Exemplo 14.1.b a partir de cloreto de 2-fluorbenzila (18,0 g, 123 mmol), 4-hidroxibenzaldeído (15,3 g, 125 mmol), NaOH (5,0 g, 12 mmol) e etanol (125 mL).

A mistura é aquecida em 25 minutos a refluxo e mantida em temperatura de refluxo sob agitação por 12 horas.

Depois de desenvolver a mistura reacional de acordo com o Exemplo 14.1.b, 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é obtido como um sólido amarelo, em rendimento de 90,0%. O produto tem pureza CG de 90,4 (% de área, ver Exemplo 16A) e um teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (Vb) de 0,14% do peso determinado por C.G. (ver Exemplo 16B).

15.2. Preparação de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ib)

e seu sal metanossulfonato (Id)

15.2.a) Procedimento de J. Med. Chem. 1998, 41, 579, método A

(S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ib) é preparada seguindo o procedimento do Exemplo 14.2.a usando 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (10 mmol, preparado como no Exemplo 15.1.a) ao invés de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído.

(S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é obtida em 67,3% de rendimento como um sólido branco. O produto tem uma pureza HPLC de 86,7 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Iib) de 0,22% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

Uma mistura de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (1,50 g, 4,96 mmol) e propan-2-ol (10,5 mL) é aquecido a 50° C e mantido nessa temperatura até que uma solução clara é obtida. O ácido metanossulfônico (0,48 g, 5,01 mmol) é adicionado sob agitação durante 15 minutos.

A mistura heterogênea é então resfriada sob agitação a 20° C em 2 horas. Depois de 1 hora a 20° C, o sólido é coletado por filtração, seco em pressão reduzida para fornecer metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida como sólido branco em rendimento de 89,1%. O produto tem uma pureza HPLC de 96,9 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IId) de 0,14% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

25 15.2.b) Procedimento de J. Med. Chem. 1998, 41, 579, Método A

(S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ib) é preparada de acordo com o Exemplo 14.2.b usando 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (10 mmol, preparado de acordo com o Exemplo 15.1.b) ao invés de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído.

30 (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é obtida como um sólido branco em rendimento de 58,8%. O produto tem uma pureza HPLC de 83,8 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de (S)-2-[3-(2-

fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIb) de 0,15% do peso determinado por HPLC (ver Exemplo 17B).

- (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (Ib) é convertida no metanossulfonato correspondente (Id) em um rendimento de 89,4% como um sólido branco. O produto tem uma pureza HPLC de 95,2 (% de área, ver Exemplo 17A) e um teor de metanossulfonato de S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida de 0,11% do peso determinado por HPLC (Ver Exemplo 17B).

Exemplo 16A

- 10 Determinação CG de pureza de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído e 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído

Preparação Teste

Dissolve-se aproximadamente 100 mg da amostra em 10 ml de cloreto de metileno.

- 15 Condições Cromatográficas

O procedimento cromatográfico é executado usando-se:

- Coluna capilar de sílica fundida de 60 m de comprimento e 0,32 mm de diâmetro interno. Espessura da Película RTX 35 (35% de Difetil – 65% de dimetil polisiloxano) = 0,25 µm,
- 20 - hélio como gás carreador em uma pressão de 150 kPa,
- fluxo de separação de 25 ml/min,
- temperatura do injetor 290° C,
- temperatura do detector (FID) 290° C,

com o seguinte programa de temperatura:

Tempo (min)	Temperatura (°C)	Taxa (°C/min)	Comentário
0 – 5	150	-	Isotérmica
5 – 11	150 -> 240	15	Gradiente linear
11 – 19	240	-	Isotérmica
19 – 20,7	240 -> 290	30	Gradiente linear
20,7 - 40	290	-	isotérmica

- 25 Procedimento

Injeta-se 1 µl da Preparação Teste. Grava-se o cromatograma e calcula-se a pureza do produto por porcentagem de área.

Identificação de Impurezas

4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa):

Tempos de Retenção:

5 O tempo de retenção de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 17.

O tempo de retenção relativo de 4-hidroxibenzaldeído é aproximadamente 0,52.

O tempo de retenção relativo de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 0,98.

10 O tempo de retenção relativo de 4-(4-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,01.

O tempo de retenção relativo de 4-benziloxibenzaldeído é aproximadamente 1,02.

15 O tempo de retenção relativo de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,78.

4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb):

Tempos de Retenção:

O tempo de retenção de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 17.

20 O tempo de retenção relativo de 4-hidroxibenzaldeído é aproximadamente 0,53.

O tempo de retenção relativo de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,02.

25 O tempo de retenção relativo de 4-(4-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,03.

O tempo de retenção relativo de 4-benziloxibenzaldeído é aproximadamente 1,04.

O tempo de retenção relativo de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,81.

30 Exemplo 16B

Determinação CG do teor de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (Vb) em 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb) e de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-

fluorbenziloxi)benzaldeído (Va) em 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa)

O substância referida conhecida levada em consideração para 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é o 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído e para 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é o 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído. A determinação é executada de acordo com as seguintes condições:

Solução Padrão Interna

Prepara-se uma solução de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído com concentração de 1,5 mg/ml em cloreto de metileno (IS).

10 Solução de referência para a determinação de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído no 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído:

Pesa-se precisamente 20 mg do padrão de referência 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído e 20 mg de padrão de referência 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído em um frasco volumétrico de 20 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido, transfere-se 500 µL dessa solução para um frasco volumétrico de 5 mL, adiciona-se 500 µL de solução IS e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido para obter uma solução contendo 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído e 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído em aproximadamente 100 µg/mL (correspondendo a aproximadamente 0,10%).

20 Solução de referência para a determinação de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído:

Pesa-se precisamente 20 mg do padrão de referência 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído e 20 mg de padrão de referência 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em um frasco volumétrico de 20 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido, transfere-se 500 µL dessa solução para um frasco volumétrico de 5 mL, adiciona-se 500 µL de solução IS e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido para obter uma solução contendo 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído e 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em aproximadamente 100 µg/mL (correspondendo a aproximadamente 0,10%).

30

Solução Teste:

Pesa-se precisamente 500 mg do produto teste em um frasco volumétrico de 5 mL, adiciona-se 500 µL de solução IS, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido para que se obtenha uma solução tendo concentração conhecida de aproximadamente 100 µg/mL.

Condições Cromatográficas:

O procedimento cromatográfico é executado usando-se:

- Coluna: coluna capilar de sílica fundida RTX 35 (35% de Difetil – 65% de dimetil polisiloxano) de 60 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno, espessura da película de 0,25 µm,
- Carreador (hélio) em uma pressão de 150 kPa,
- fluxo de separação de 25 ml/min,
- temperatura do injetor 290° C,
- temperatura do detector (FID) 290° C,
- Programa de temperatura: 0 – 5 min, isotérmica a 150° C, 5 – 11 min, linear de 150° C a 240° C em uma taxa de 15° C/min, 11 – 19 min, isotérmica a 240° C, 19 – 21 min, linear de 240° C a 290° C em uma taxa de 30° C/min, 21 – 40 min, isotérmica a 290° C,
- diluente: cloreto de metileno
- volume de injeção: 1 µL.

Procedimento:

Injeta-se branco (diluente), solução de referência, solução teste e grava-se os cromatogramas.

No cromatograma de referência verifica-se que:

O tempo de retenção de 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 18 min,

O tempo de retenção relativo de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,7,

ou

O tempo de retenção de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 18 min,

O tempo de retenção relativo de 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-

fluorbenziloxi)benzaldeído é aproximadamente 1,7.

O tempo de retenção de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído (IS) é aproximadamente 0,7.

Calcula-se o teor percentual de 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído em 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído examinado ou do 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído em 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído examinado por cálculo padrão interno.

O valor do limite de quantitação (LOQ) para 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído e para 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído é 0,005% do peso. O valor do limite de detecção (LOD) para ambas as impurezas consideradas é 0,0025% do peso.

Exemplo 17A

Determinação HPLC de pureza de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safinamida) (Ia), seu metanossulfonato (Ic), (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida) (Ib) e seu metanossulfonato (Id).

O seguinte procedimento cromatográfico é adequado para ambas a forma de base livre (Ia, Ib) e o sal metanossulfonato (Ic, Id) dos produtos.

Diluyente:

Fase móvel.

Solução Teste

Pesa-se precisamente 25 mg do produto teste em um frasco volumétrico de 25 mL, dissolve-se e dilui-se com diluyente até que o volume do frasco seja atingido para que se obtenha uma solução tendo concentração conhecida de aproximadamente 1,0 mg/mL.

Condições Cromatográficas:

O procedimento cromatográfico é executado usando-se:

- Coluna: Waters Symmetry C8, 150 x 4,6 mm, 5 µ,
- detecção: UV 220 nm,
- temperatura da coluna: 30° C,
- fase móvel: 40% de solvente A + 10% de solvente B + 50% de

solvente C, contendo 1,0 g/l de octanossulfonato de sódio,

Solvente A: solução tampão = KH_2PO_4 0,05M,

Solvente B: Acetonitrilo,

Solvente C: Metanol,

- 5 - eluição isocrática, tempo de execução: 60 minutos,
 - taxa de fluxo: 1,0 ml/min,
 - volume de injeção: 10 µl.

Procedimento:

- 10 Injeta-se na solução teste, grava-se o cromatograma e calcula-se a pureza do produto por porcentagem de área.

(S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (safinamida) e identificação de impurezas relacionadas

Tempo de Retenção:

- 15 O tempo de retenção de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,5 min.

O tempo de retenção relativo do ácido (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propiónico é aproximadamente 0,73.

O tempo de retenção relativo de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 4,08.

- 20 (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida) e identificação de impurezas relacionadas

Tempo de Retenção:

- 25 O tempo de retenção de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,5 min.

O tempo de retenção relativo do ácido (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propiónico é aproximadamente 0,73.

O tempo de retenção relativo de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 4,08.

Exemplo 17B

- 30 Determinação HPLC de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre, IIb e metanossulfonato, IIId) em (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre, Ib e

metanossulfonato, Id) e de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre IIa e metanossulfonato, IIc) em (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre, Ia e metanossulfonato, Ic)

5 A determinação de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) em amostras de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) e de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) em
10 amostras de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) é executada de acordo com as seguintes condições:

Solução de referência para a determinação de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida:

15 Pesa-se precisamente 30 mg de padrão de referência metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e 20 mg de padrão de referência (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em um frasco volumétrico de 50 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco
20 seja atingido; dilui-se 1,0 mL dessa solução em 20 mL com diluente (1ª diluição), dilui-se 1,0 mL da última solução em 20 mL com diluente (2ª diluição) para obter uma solução contendo 2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (aproximadamente 0,12%) em aproximadamente 1,20 µg/mL e metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em aproximadamente 1,00 µg/mL
25 (aproximadamente 0,10%).

Solução de referência para a determinação de metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida:

30 Pesa-se precisamente 30 mg de padrão de referência metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e 20 mg de padrão de referência

metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida em um frasco volumétrico de 50 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido; dilui-se 1,0 mL dessa solução em 20 mL com diluente (1ª diluição), dilui-se 1,0 mL da última solução em 20 mL com diluente (2ª diluição) para se obter uma solução contendo 2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (aproximadamente 0,15% como sal metanossulfônico) em aproximadamente 1,20 µg/mL e metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida em aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

10 Solução de referência para a determinação de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida em (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida:

Pesa-se precisamente 24 mg de padrão de referência (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida e 20 mg de padrão de referência (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida em um frasco volumétrico de 50 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido; dilui-se 1,0 mL dessa solução em 20 mL com diluente (1ª diluição), dilui-se 1,0 mL da última solução em 20 mL com diluente (2ª diluição) para se obter uma solução contendo 2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (aproximadamente 0,12%) em aproximadamente 1,20 µg/mL e metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida em aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

25 Solução de referência para a determinação de metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida em metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida:

Pesa-se precisamente 24 mg de padrão de referência (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida e 20 mg de padrão de referência (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida em um frasco volumétrico de 50 mL, dissolve-se e dilui-se com diluente até que o volume do frasco seja atingido; dilui-se 1,0 mL dessa solução em 20 mL com diluente (1ª diluição), dilui-se 1,0 mL da última solução em 20 mL com

diluyente (2ª diluição) para se obter uma solução contendo 2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (aproximadamente 0,15% como sal metanossulfônico) em aproximadamente 1,20 µg/mL e metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

Solução Teste:

Pesa-se precisamente 25 mg do produto teste em um frasco volumétrico de 25 mL, dissolve-se e dilui-se com diluyente até que o volume do frasco seja atingido para que se obtenha uma solução tendo concentração conhecida de aproximadamente 1,0 mg/mL.

Condições Cromatográficas:

O procedimento cromatográfico é executado usando-se:

- Coluna: Waters Symmetry C8, 150 x 4,6 mm, 5 µ, ou equivalente
- temperatura da coluna: 30º C,
- fase móvel: 40% de solvente A : 10% de solvente B : 50% de solvente C, contendo 1,0 g/l de octanossulfonato de sódio,
- Solvente A: solução tampão = 0,05M KH₂PO₄,
- Solvente B: Acetonitrilo,
- Solvente C: Metanol,
- eluição isocrática,
- tempo de execução: 60 minutos,
- taxa de fluxo: 1,0 ml/min,
- detecção: UV 220 nm,
- volume de injeção: 100 µl,
- diluyente: fase móvel.

Procedimento:

Injeta-se branco (diluyente), solução de referência, solução teste e grava-se os cromatogramas.

No cromatograma de referência verifica-se os seguintes parâmetros de adequabilidade ao sistema:

O tempo de retenção de (S)-2-[4-(2-

fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,2 minutos,

O alargamento USP para o pico de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida está na faixa entre 0,8 e 1,5,

O tempo de retenção relativo de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,1.

ou

O tempo de retenção de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,5 minutos,

O alargamento USP para o pico de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida está na faixa entre 0,8 e 1,5,

O tempo de retenção relativo de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 4,1.

Ajusta-se a fase móvel de modo a obter a adequabilidade do sistema.

Calcula-se o teor percentual de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) nas amostras examinadas de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) e de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) nas amostras examinadas de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (base livre e metanossulfonato) por cálculo padrão externo.

O valor do limite de quantitação (LOQ) para (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e para (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida nos correspondentes (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é 0,004% do peso. O valor do limite de quantitação (LOQ) para metanossulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e para metanossulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida nos correspondentes metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e metanossulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é 0,005% do peso. O valor do limite

de detecção para todas as impurezas consideradas é 0,001% do peso.

Exemplo 18

Determinação HPLC de pureza enantiomérica de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (ralfinamida) (Id)

5 A pureza enantiomérica da amostra é avaliada por HPLC. A determinação é executada de acordo com o seguinte:

Solução Padrão 1:

 Dissolve-se aproximadamente 5,3 mg de padrão de referência metanossulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida em
10 25 mL de fase móvel.

Solução Padrão 2:

 Dissolve-se aproximadamente 8,0 mg de padrão de referência metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida e 0,2 mL de solução padrão 1 em 50 mL de fase móvel.

15 A concentração de metanossulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida é aproximadamente 0,5% calculada com relação à concentração de metanossulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida.

Soluções teste 1 e 2:

20 Em duplicata, dissolve-se aproximadamente 8,0 mg de produto teste em 50 mL de fase móvel.

Condições Cromatográficas:

- Coluna: Chiralpak WH, 250 x 4,6 mm, I.D. 5 µm,
- temperatura da coluna: 45° C,
- 25 - fase móvel: 0,25 mM de CuSO₄ (pesa-se precisamente 40 mg de CuSO₄ em 1000 mL de água)/MeOH 60/40,
- eluição isocrática,
- taxa de fluxo: 1,0 ml/min,
- detecção: UV 230 nm,
- 30 - volume de injeção: 10 µl,
- tempo de execução: 15 minutos.

Procedimento:

Analisa-se branco (fase móvel) uma vez, solução padrão 2 duas vezes, soluções teste 1 e 2 uma vez e verifica-se que:

- para as injeções padrão, o RSD% para a área percentual de metanossulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é menor do que 2,0%,

- para ambas as soluções padrão e de amostra, para cada injeção, a área percentual de pico principal é incluída entre o valor médio $\pm$ 0,1%.

Calcula-se o teor (área percentual) de metanossulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida como a média das duas determinações.

Tempos de Retenção:

O tempo de retenção de (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é aproximadamente 5,7 min.

O tempo de retenção relativo de (R)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é aproximadamente 1,7.

Exemplo 19

Determinação da pureza enantiomérica do metanossulfonato (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (safinamida) (Ic)

A pureza enantiomérica da amostra é avaliada por HPLC. A determinação acontece de acordo com as seguintes condições:

Solução Teste:

Dissolve-se aproximadamente 10 mg de amostra teste em 10 mL de fase móvel.

Condições Cromatográficas:

- Coluna: Chiralpak WH, 250 mm x 4,6 mm, I.D. 10 μ m,
- temperatura da coluna: 50° C,
- fase móvel: 0,25 mM de CuSO₄,
- eluição isocrática,
- taxa de fluxo: 1,0 ml/min,
- detecção: UV 200 nm,
- volume de injeção: 10 μ l,

- tempo de execução: 30 minutos.

Procedimento:

Injeta-se a solução teste e calcula-se a resposta de pico enantiomérico como área percentual.

5 O tempo de retenção de (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é aproximadamente 9,2 min.

O tempo de retenção relativo de (R)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida é aproximadamente 1,9.

Exemplo 20

10 Ensaio com Citocromo P450

A inibição das cinco isoformas mais importantes de Citocromo P450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, e CYP3A4), envolvidas no metabolismo de fármacos, foi medida usando substratos específicos que se tornam fluorescentes mediante o metabolismo de CYP (Kit de Ensaio Gen-
15 test).

Os compostos foram testados em uma bandeja com 96 cavidades contendo tampão de incubação/regeneração NADPH. As isoenzimas e substratos recombinantes específicos de humano foram adicionados e incubados em 37° C por 15 minutos para CYP1A2/CEC, 40 minutos para
20 CYP2E1/MFC, 45 minutos para CYP2C9/MFC e 30 minutos para os outros CYP450.

Os substratos específicos foram os seguintes: 3-ciano-7-etoxicumarina (CYP2C19 e CYP1A2), 7-metoxi-4-trifluormetilcumarina (CYP2C9), 3[2(N,N-dietil-N-metilamino)etil]-7-metoxi-4-metilcumarina
25 (CYP2D6), benzilfenilcumarina (CYP3A4).

As placas foram lidas em um leitor de bandeja Victor (Perkin Elmer) nos comprimentos de onda de emissão/excitação adequados, e o IC₅₀ (concentração inibindo 50% da atividade da enzima) determinado. Os resultados são relatados nas Tabelas 1 e 2,

30 Exemplo 21

Ensaio de citotoxicidade em linhagem celular de neuroblastoma humano SH-SY-5Y

No tempo zero, as células foram distribuídas em $1,10^4/\text{cm}^2$ em bandejas de 96 cavidades em meio de crescimento DMEM + 10% de FBS desativado por calor + 2 mM 1-Glutamina + 100U/mL – 100 µg/mL de Penicilina/Estreptomicina.

5 Depois de 72 horas em fase sub-confluente de crescimento, o meio foi removido e as células foram incubadas por 24 horas a 37° C em 180 µl e meio neurobasal + 2mM de 1-Glutamina (Life Technologies) com ou sem compostos teste (20 µl, pelo menos 5 concentrações em triplicata).

10 No fim da incubação, 20 µl de corante Azul Alamar (AlamarBlueTM Assay Kit, Promega) foram diretamente adicionados ao meio celular.

Quatro horas depois, a citotoxicidade foi avaliada medindo-se a fluorescência em 530 nm de excitação e 595 nm de emissão usando leitor de bandejas Tecan Spectrafluor.

15 Antes e no fim do tratamento, as culturas foram monitoradas microscopicamente por um microscópio de luz invertida Olympus IX70 combinado com um Analisador de Imagem (Image Pro Plus, 5,1) para avaliar a morfologia celular.

Os resultados são expressos na Tabela 1 como concentração induzindo 50% de mortalidade.

20 Exemplo 22

Corrente HERG em linhagens celulares CHO transfectadas

A inibição de corrente HERG foi testada em células CHO estavelmente expressando canal HERG recombinante.

25 Para avaliar o efeito dos compostos teste em correntes HERG, as células foram fixadas a -80 Mv, despolarizadas a 0 mV por 5 segundos permitindo a ativação de corrente HERG e repolarizadas a -50 mV durante 5 segundos permitindo que a corrente de alargamento de HERG desative. Esse procedimento foi repetido em uma frequência de 0,06 Hz. A amplitude da corrente mediante a repolarização (corrente de alargamento de HERG) foi
30 medida antes e depois da exposição ao composto teste.

A inibição de corrente foi calculada como a diferença entre a amplitude de corrente de alargamento de HERG medida no fim do período

de perfusão de banho externo e a corrente de alargamento de HERG medida no fim do período de perfusão do composto teste (quando o efeito de regime permanente é alcançado) dividido por corrente de alargamento de HERG de controle.

- 5 As curvas de concentração-inibição de fármaco foram obtidas plotando-se os blocos tônicos versus as concentrações de fármacos. As curvas de resposta a dose foram ajustadas aos dados de blocoônico, de acordo com a equação logística: $y = A2 + (A1 - A2) / [1 + (x/IC_{50})^p]$. A1 e A2 são valores fixos de 0 e 1 correspondentes a 0 e 100% de inibição de corrente, x é a concentração de fármaco, IC_{50} é a concentração de fármaco resultando em 50% de inibição de corrente e p é o fator de coeficiente angular correspondente. Os resultados são relatados na Tabela 1.

Exemplo 23

Teste de Eletrochoque Máximo (MES) em ratos

- 15 O teste de eletrochoque máximo (MES) é usado comumente no exame de fármacos anti-epiléticos em modelos de roedores.

- Animais e Aparelho: Ratos CD1 machos pesando 25 g foram usados. O procedimento descrito por White e outros (White H. S., Woodhead J. H., Franklin M. R., Swinyard E. A., e Wolf H. H., Antiepileptic Drugs (1995), 4ª Ed.: 99 – 110, Raven Press, Ltd., Nova Iorque) foi seguido. Um gerador eletroconvulsivo Ugo Basile (Modelo ECT UNIT 7801) foi usado para liberar um estímulo elétrico suficiente para produzir uma resposta de extensorônico dos membros posteriores em ao menos 97% de animais de controle. O estímulo foi liberado de forma intra-audível através de eletrodos de garras em ratos (0,7 segundos de um choque de 40 mA, com um trem de pulsos de 80 Hz tendo uma duração de pulsos de 0,4 ms). O efeito agudo de compostos administrados de forma intraperitoneal ou oral 15 – 60 minutos antes de indução MES foi examinado e comparado com um grupo de controle de veículo. Dez ratos foram estudados por grupo. A supressão completa do componente extensorônico dos membros posteriores de convulsões foi tomada como evidência de atividade anti-convulsiva.

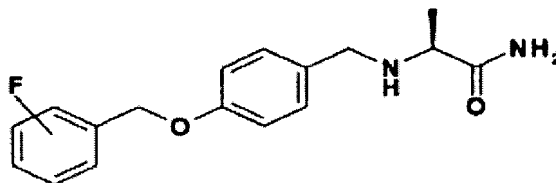
Os compostos da invenção foram administrados de forma oral

ou intraperitoneal nas doses de 3 – 30 mg/kg.

Os resultados são expressos nas Tabelas 3 e 4 como porcentagem de proteção.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para produzir (S)-2-[4-(3-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (safinamida) e (S)-2-[4-(2-fluorbenziloxy)benzilamino]propanamida (ralfinamida) com alto grau de pureza de fórmula (Ia) e (Ib)

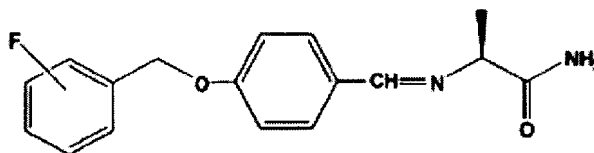


5

safinamida (Ia): 3-F

ralfinamida (Ib): 2-F

e seus sais com um ácido farmacologicamente aceitável, caracterizado pelo fato de que um intermediário de base de Schiff respectivamente de fórmula (VIa) ou (VIb)



(VIa): 3-F

(VIb): 2-F

10 é submetido à hidrogenação catalítica com gás hidrogênio na presença de um catalisador heterogêneo em um solvente orgânico prótico e, quando safinamida ou ralfinamida são obtidas em uma forma de base livre, opcionalmente convertendo a dita forma de base livre em um sal dessa com um ácido farmacologicamente aceitável.

15

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a hidrogenação catalítica é executada usando um catalisador heterogêneo selecionado a partir de catalisadores de níquel, ródio, platina, e paládio em um suporte inerte na presença de um solvente selecionado a partir de (C₁-C₅)alcanóis alifáticos inferiores, preferencialmente metanol, etanol, isopropanol.

20

3. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o catalisador é um catalisador de paládio ou platina, preferencialmente um catalisador de platina.

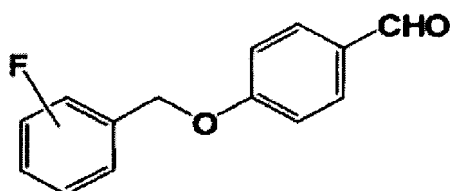
4. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o catalisador é Pt/C 5% úmido (50% de H₂O) ou Pd/C 10% úmido (50% de H₂O), preferencialmente Pt/C 5% úmido (50% de H₂O).

5 5. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que o ácido farmaceuticamente aceitável é ácido metanossulfônico.

6. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a pressão de hidrogênio está compreendida entre 1 e 10 bars e a temperatura está compreendida entre 10° C e 70° C.

7. Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a pressão de hidrogênio está compreendida entre 3 e 6 bars e a temperatura está compreendida entre 25° C e 40° C.

8. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que a hidrogenação catalítica é executada em um intermediário de base de Schiff (VIa) ou (VIb) que foi preparado através de iminoalquilação de 4-(3-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxi)benzaldeído (IVb)



(IVa):3-F (IVb):2-F

com L-alaninamida na presença de um solvente orgânico prótico.

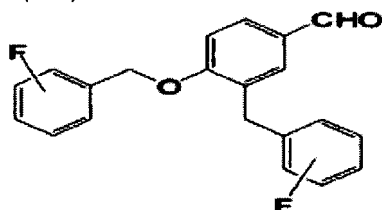
20 9. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a L-alaninamida é empregada como um sal com adição de ácido dessa na presença de uma base em uma quantidade suficiente para obter L-alaninamida livre a partir de seu sal.

25 10. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a hidrogenação catalítica do intermediário de base de Schiff é executada na mesma mistura reacional resultante do término da reação de iminoalquilação sob condições que causam precipitação do dito intermediário.

rio de base de Schiff para obter uma suspensão do dito intermediário no mesmo solvente reacional.

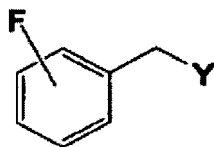
11. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o intermediário de base de Schiff resultante do término da reação de iminoalquilação é isolado antes de passar pela etapa de hidrogenação catalítica.

12. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído ou 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído de fórmula (IVa) ou (IVb) empregado como o material de partida para obter o intermediário de base de Schiff de fórmula (VIa) ou (VIb) contém menos de 0,03%, preferencialmente 0,01% ou menos (do peso), das respectivas impurezas 3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (Va) e 3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído (Vb).



(Va):3-F (Vb):2-F

13. Processo, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que o 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVb) é obtido por alquilação de 4-hidroxibenzaldeído com, respectivamente, um derivado de 3-fluorbenzil ou 2-fluorbenzil (IIIa) ou (IIIb)



(IIIa): 3-F

(IIIb): 2-F

onde Y é um grupo de saída incluindo Cl, Br, I, OSO_2CH_3 e $\text{OSO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-pCH}_3$ na presença de uma base e é submetido à cristalização antes do uso na etapa de reação sucessiva.

14. Processo de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que Y é Cl.

15. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 13 ou 14, caracterizado pelo fato de que a cristalização é executada adicionando-se um não solvente orgânico inerte a uma solução de 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVb) em um solvente orgânico inerte.

16. Processo de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o não solvente orgânico inerte é selecionado a partir de hidrocarbonetos alifáticos inferiores e o solvente orgânico inerte é selecionado a partir de hidrocarbonetos aromáticos.

17. Processo de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o hidrocarboneto alifático inferior é n-hexano e o hidrocarboneto aromático é tolueno.

18. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 13 ou 14, caracterizado pelo fato de que a cristalização é executada dissolvendo-se 4-(3-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVa) ou 4-(2-fluorbenziloxy)benzaldeído (IVb) em um solvente quente, preferencialmente, ciclohexano ou um di(C₃-C₄)alquil éter, mais preferencialmente, diisopropil éter em refluxo, e então resfriando-se a solução em temperatura ambiente, preferencialmente a 10 – 15° C.

19. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 13 a 18, caracterizado pelo fato de que a reação de alquilação é executada sob condições de transferência de fase.

20. Processo de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que a alquilação sob condição de transferência de fase é executada em um sistema sólido/líquido, onde os reagentes e o catalisador de transferência de fase são dissolvidos em uma fase orgânica líquida e a fase sólida é constituída por uma base inorgânica ou um sal de 4-hidroxibenzaldeído com a dita base inorgânica.

21. Processo de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que a alquilação sob condições de transferência de fase é exe-

cutada em um sistema líquido/líquido onde o reagente alquilante derivado de 3-fluorbenzil ou 2-fluorbenzil de fórmula (IIIa) ou (IIIb) é dissolvido em uma fase orgânica líquida e o 4-hidroxibenzaldeído é dissolvido em uma fase aquosa como um sal com uma base inorgânica.

5 22. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 19 a 21, caracterizado pelo fato de que o catalisador de transferência de fase é selecionado a partir de sais de amônio ou fosfônio quaternário ou polietileno glicóis de baixo peso molecular.

10 23. Processo de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que a quantidade de catalisador de transferência de fase está entre 0,02 a 1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldeído.

 24. Processo de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que a quantidade de catalisador de transferência de fase é 0,1 a 1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldeído.

15 25. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 24, caracterizado pelo fato de que o solvente orgânico da fase orgânica líquida é selecionado a partir de dialquil éteres e hidrocarbonetos aromáticos.

20 26. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 25, caracterizado pelo fato de que a relação molar entre o reagente alquilante de fórmula (IIIa) ou (IIIb) e 4-hidroxibenzaldeído está compreendida entre 0,6 e 1,5.

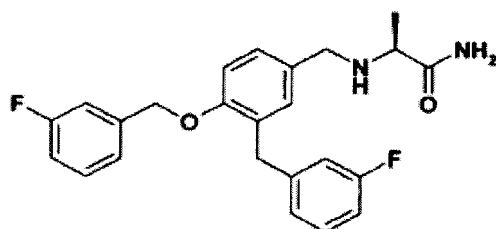
25 27. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 26, caracterizado pelo fato de que a temperatura está entre 60° C e 160° C.

 28. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 27, caracterizado pelo fato de que a base inorgânica é selecionada a partir de Na₂CO₃, K₂CO₃, NaOH e KOH, a temperatura está entre 80° C e 120° C, e a relação entre o reagente alquilante de fórmula (IIIa) ou (IIIb) e 4-hidroxibenzaldeído está compreendida entre 0,9 e 1,1.

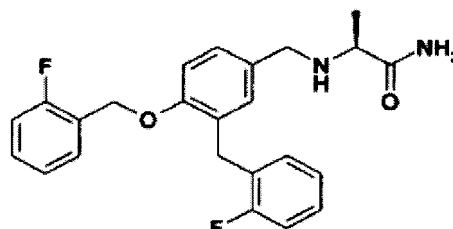
 29. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 28, caracterizado pelo fato de que a safinamida ou a ralfinamida ou seus

sais com um ácido farmacêuticamente aceitável têm um teor da respectiva impureza

(S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIa) e (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIb)



(IIa)

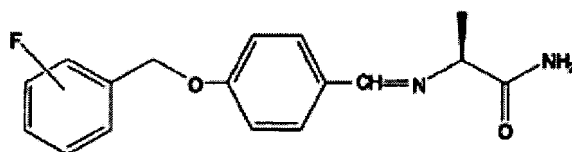


(IIb)

- 5 ou seus sais com um ácido farmacêuticamente aceitável inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso).

30. Processo de acordo com a reivindicação 29, caracterizado pelo fato de que o ácido farmacêuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com
10 ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

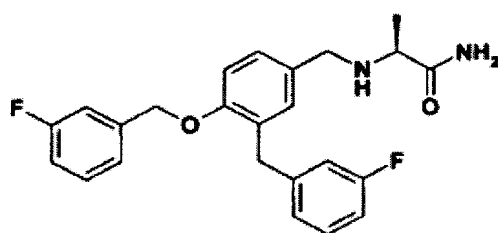
31. Base de Schiff isolada, caracterizada pelo fato de que a fórmula (VIa) ou (VIb)



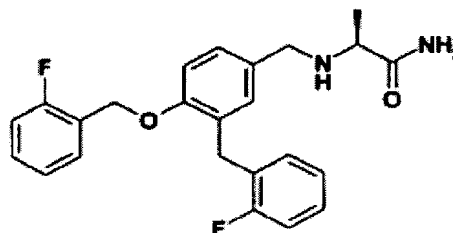
(VIa)

(VIb)

32. Safiamida ou ralfinamida com alto grau de pureza ou um sal dessas, caracterizada pelo fato de que se apresenta com um ácido farmacêuticamente aceitável com um teor da respectiva impureza (S)-2-[3-(3-fluorbenzil)-4-(3-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIa) e (S)-2-[3-(2-fluorbenzil)-4-(2-fluorbenziloxi)benzilamino]propanamida (IIb)
15



(IIa)



(IIb)

ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável que é inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso).

33. Sal de safiamida ou ralfinamida com alto grau de pureza com um ácido farmaceuticamente aceitável de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que o ácido farmaceuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

34. Uso de safinamida ou ralfinamida com alto grau de pureza ou sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, onde a respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) da reivindicação 32 ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável é inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso), caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o tratamento de respectivamente (a) epilepsia, mal de Parkinson, mal de Alzheimer, depressão, síndrome das pernas inquietas e enxaqueca, ou (b) condições de dor, incluindo dor crônica e neuropática, enxaqueca, desordens bipolares, depressões, desordens cardiovasculares, inflamatórias, urogenitais, metabólicas e gastrointestinais sob condições que não estão interferindo com os citocromos do sistema CYP450, em particular, CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 e não exibem propriedades de bloqueio de canal HERG.

35. Uso de safinamida ou ralfinamida com alto grau de pureza ou sal dessas com um ácido farmaceuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o tratamento de desordens, como definido na reivindicação 34, em pacientes que são classificados como metabolizadores pobres (MP) ou para o tratamento terapêutico

de pacientes que estão assumindo ao mesmo tempo outros fármacos que são conhecidos por interagirem com os citocromos do sistema CYP450 e/ou são conhecidos como tendo propriedades de bloqueio de canal HERG.

36. Uso de acordo com as reivindicações 34 e 35, caracterizado pelo fato de que o ácido farmaceuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

37. Uso de ralfinamida com alto grau de pureza ou um sal com adição de ácido farmaceuticamente aceitável, preferencialmente sal com ácido metanossulfônico, de acordo com qualquer uma das reivindicações 32 a 36, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o tratamento de uma desordem bipolar.

38. Formulação farmacêutica, caracterizada pelo fato de que contém safinamida ou ralfinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, onde o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) da reivindicação 32 ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável é inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso).

39. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 38, caracterizada pelo fato de que o ácido farmaceuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

40. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 38, caracterizada pelo fato de que contém um ou mais agente(s) ativos adicionais em adição à safinamida ou ralfinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, onde o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) da reivindicação 32 ou um sal dessa é inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% (do peso).

41. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 40, caracterizada pelo fato de que o ácido farmaceuticamente aceitável é ácido metanossulfônico e o teor da respectiva impureza de fórmula (IIa) e (IIb) como o sal com ácido metanossulfônico é inferior a 0,01% (do peso).

42. Formulação farmacêutica contendo safinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 40 ou 41, caracterizada pelo fato de que o agente ativo adicional é um agonista de dopamina e/ou levodopa e/ou um inibidor de catecol-O-metiltransferase (COMT).

43. Formulação farmacêutica contendo safinamida com alto grau de pureza ou um sal dessa com um ácido farmaceuticamente aceitável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 40 ou 41, caracterizada pelo fato de que o agente ativo adicional é gabapentina ou pregabalina ou um sal com adição de ácido farmaceuticamente aceitável desse.

RESUMO

Patente de Invenção: "PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE 2-[4-(3- E 2-FLUORBENZILOXI)BENZILAMINO]PROPANAMIDAS, BASE DE SCHIFF ISOLADA, SAFINAMIDA OU RALFINAMIDA, USO E FORMULAÇÕES

5 **CONTENDO AS MESMAS".**

Um processo para obter 2-[4-(3- e 2-(fluorbenziloxi)benzilamino]propanamidas e seus sais com ácidos farmaceuticamente aceitáveis com alto grau de pureza, em particular, com um teor de impurezas de derivados de dibenzila inferior a 0,03%, preferencialmente inferior a 0,01% do

10 peso. O processo é executado submetendo os intermediários de bases de Schiff 2-[4-(3- e 2-(fluorbenziloxi)benzilamino]propanamidas à hidrogenação catalítica na presença de um catalisador heterogêneo em um solvente orgânico prótico.