

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5460613号  
(P5460613)

(45) 発行日 平成26年4月2日(2014.4.2)

(24) 登録日 平成26年1月24日(2014.1.24)

(51) Int.Cl.

F 1

C07C 231/12	(2006.01)	C07C 231/12
C07C 237/04	(2006.01)	C07C 237/04
C07C 251/24	(2006.01)	C07C 251/24

A

請求項の数 39 (全 81 頁)

(21) 出願番号 特願2010-537377 (P2010-537377)  
 (86) (22) 出願日 平成20年12月1日 (2008.12.1)  
 (65) 公表番号 特表2011-506375 (P2011-506375A)  
 (43) 公表日 平成23年3月3日 (2011.3.3)  
 (86) 國際出願番号 PCT/EP2008/066559  
 (87) 國際公開番号 WO2009/074478  
 (87) 國際公開日 平成21年6月18日 (2009.6.18)  
 審査請求日 平成23年11月2日 (2011.11.2)  
 (31) 優先権主張番号 07023937.1  
 (32) 優先日 平成19年12月11日 (2007.12.11)  
 (33) 優先権主張国 歐州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 504082069  
 ニューロン・ファーマシューティカルズ・  
 エツセ・ピー・アー  
 イタリー国、イ-20091・プレツソ (ミラノ)、ビア・エル・アリオスト、21  
 (74) 代理人 110001173  
 特許業務法人川口國際特許事務所  
 (72) 発明者 バルバンティ、エレナ  
 イタリア国、イ-20093・コローニョ  
 ・モンツエーゼ (ミラノ)、ビア・ディ・  
 プラータニ、6  
 (72) 発明者 フアラベツリ、ラウラ  
 イタリア国、イ-20024・ガルバニヤ  
 テ・ミラネーゼ (ミラノ)、ビア・ローマ、4

最終頁に続く

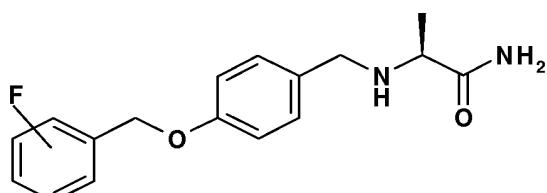
(54) 【発明の名称】高純度を有する2-[4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの製造方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

式(Ia)の(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(サフィナミド)、式(Ib)の(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(ラルフィナミド)

## 【化1】



10

サフィナミド (Ia): 3-F

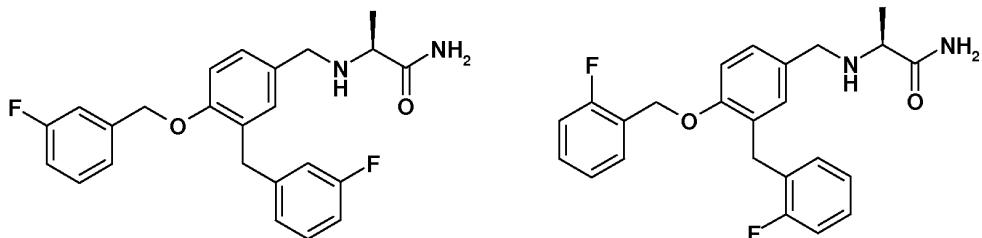
ラルフィナミド (Ib): 2-F

それぞれのR-エナンチオマー(I'a)および(I'b)、それぞれのラセミ混合物(Ia, I'a)および(Ib, I'b)およびこの医薬として許容される酸との塩から選択され、サフィナミド(Ia)、ラルフィナミド(Ib)、それぞれのR-エナンチオマー(I'a)もしくは(I'b)、またはそれぞれのラセミ混合物(Ia, I'a)および(Ib, I'b)またはこれらの医薬として許容される酸との塩は、0.03% (重量

20

) 未満である、それぞれの不純物、(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIa)、(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIb)、

【化2】



10

(IIa)

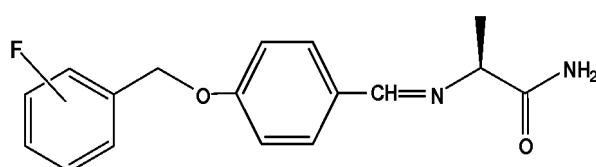
(IIb)

それぞれのR-エナンチオマー(II'a)もしくは(II'b)、またはそれぞれのラセミ混合物(IIa、II'a)もしくは(IIb、II'b)またはこの医薬として許容される酸との塩の含有量を有する、高純度2-[4-(3-又は2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド化合物を製造するための方法であって、

20

式(IIIA)、(IIIB)のS chiff塩基中間体

【化3】



(IIIa): 3-F

(IIIb): 2-F

30

それぞれのR-エナンチオマー(IIIA)もしくは(IIIB)又はそれぞれのラセミ混合物(IIIA、IIIA')若しくは(IIIB、IIIB')が、(i)いずれのモレキュラーシープの添加無しに、(C1-C5)低級アルカノールから選択される溶媒中、必要に応じて少量の水と共に、温度20から30において、同溶媒中のS chiff塩基の飽和溶液中にS chiff塩基の懸濁液が形成されるようなアルデヒドに対する溶媒の量の溶媒中、4-(3-又は2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドとL-アラミンアミド又はD-アラニンアミド、又はそれらのラセミ混合物とのイミノアルキル化によって得られ、ならびに(iii)イミノアルキル化反応完了後に、所定量の(C1-C5)低級アルカノール又はこれらの混合物から選択される有機溶媒中で、必要に応じて少量の水と共に、水素化ホウ素ナトリウム及び水素化ホウ素カリウムから選択される還元剤との還元反応にかけられ、ここで、有機溶媒対S chiff塩基との比は、還元反応工程の十分な部分の間、同有機溶媒におけるS chiff塩基の飽和溶液中へのS chiff塩基の懸濁物の形成及び存在を許し、ならびにS chiff塩基の各モル当たり0.5Lから3.0Lの範囲にあることを特徴とし、前記方法はさらに、S chiff塩基中間体(IIIA)、(IIIB)、(IIIA')、(IIIB')またはそれらのラセミ混合物(IIIA、IIIA')もしくは(IIIB、IIIB')に供される4-(3-又は2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド出発物質が0.03重量%未満の3-(3-又は2-フルオロベンジル)-4-(3-又は2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド不純物含有量を有することを特徴とし、これにより、サフィ

40

50

ナミド (I a)、ラルフィナミド (I b)、それぞれの R - エナンチオマー (I' a) もしくは (I' b) またはそれぞれのラセミ混合物 (I a, I' a) 若しくは (I b, I' b) は遊離塩基形態で得られ、ならびに必要に応じて該遊離塩基形態をこの医薬として許容される酸との塩に転換する、方法。

【請求項 2】

それぞれの不純物、(S) - 2 - [ 3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) - ベンジルアミノ ] プロパンアミド (II a)、(S) - 2 - [ 3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) - ベンジルアミノ ] プロパンアミド (II b)、それぞれの R - エナンチオマー (II' a) もしくは (II' b)、またはそれぞれのラセミ混合物 (II a, II' a) もしくは (II b, II' b) またはこの医薬として許容される酸との塩の含有量が 0.01% (重量) 未満である請求項 1 に記載の方法。10

【請求項 3】

前記有機溶媒対 Schiff 塩基との比は、Schiff 塩基の各モル当たり 0.7 L から 2.5 L の範囲にある請求項 1 および 2 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4】

前記有機溶媒対 Schiff 塩基との比は、Schiff 塩基の各モル当たり 0.8 L から 2.0 L の範囲にある請求項 1 から 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

Schiff 塩基中間体 (III a)、(III b)、(III' a)、(III' b) またはそれぞれのラセミ混合物 (III a, III' a) もしくは (III b, III' b) に供される 4 - (3 - 又は 2 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド出発物質が 0.01 重量% 未満の 3 - (3 - 又は 2 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - 又は 2 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド不純物含有量を有する請求項 1 から 4 のいずれかに記載の方法。20

【請求項 6】

還元剤は水素化ホウ素ナトリウムであり、ならびに有機溶媒はメタノール、エタノール、および 2 - プロパノールから選択され、必要に応じて少量の水が存在する、請求項 1 から 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

有機溶媒はメタノールである請求項 6 に記載の方法。30

【請求項 8】

水素化ホウ素ナトリウムまたは水素化ホウ素カリウムのいずれの添加も行う前に、反応混合物の pH を 7 から 9 の間に調整する、請求項 1 から 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

Schiff 塩基中間体に対する還元剤の分子の量は 0.5 から 1.4 (モル比) の範囲である、請求項 1 から 8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

還元反応温度は -10 から 30 の範囲である、請求項 1 から 9 のいずれかに記載の方法。40

【請求項 11】

還元反応温度は 5 から 15 の範囲である請求項 10 に記載の方法。

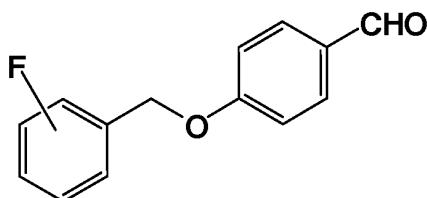
【請求項 12】

医薬的に許容される酸はメタンスルホン酸である、請求項 1 から 11 のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

式 (III a)、(III b)、(III' a)、(III' b) の Schiff 塩基中間体またはそれぞれのラセミ混合物 (III a, III' a) または (III b, III' b) が、メタノール、エタノールおよびイソプロパノールから選択される有機溶媒が、4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド (IV a) または 4 - (2 - フ

ルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (IVb)  
【化4】



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

10

に対して、同溶媒中の Schiff 塩基飽和溶液に Schiff 塩基の懸濁物が形成され得るような量で存在する下、アルデヒド (IVa) またはアルデヒド (IVb) を L - アラニンアミド、D - アラニンアミド、またはこのラセミ混合物でイミノアルキル化することにより調製される、請求項 1 から 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

L - アラニンアミド、D - アラニンアミド、またはこのラセミ混合物は、この酸付加塩から L - アラニンアミド、D - アラニンアミド、またはこのラセミ混合物を遊離させることに十分な量の塩基の存在下で、酸付加塩として用いられる、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

Schiff 塩基中間体の析出を引き起こして該中間体の同反応溶媒による懸濁液を与えるような条件下でイミノアルキル化反応を完了した結果得られる同反応混合物で、還元剤を用いた Schiff 塩基中間体の還元反応を行う、請求項 1 から 14 のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 16】

イミノアルキル化反応を完了した結果得られる Schiff 塩基中間体を単離してから還元剤で還元する、請求項 1 から 15 のいずれかに記載の方法。

【請求項 17】

水素化ホウ素ナトリウムまたは水素化ホウ素カリウム還元剤は、固体でまたは水酸化ナトリウムもしくは水酸化カリウムを加えて安定化したメタノール溶液の形でのいずれかで、少しづつ、Schiff 塩基と反応溶媒の混合物に加えられる、請求項 1 から 16 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 18】

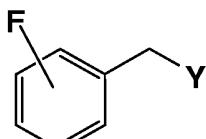
水素化ホウ素ナトリウムまたは水素化ホウ素カリウム還元剤は、反応過程の間、少しづつ、小分けして、加えられる請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

Schiff 塩基中間体 (IIIa)、(IIIb)、(III'a)、(III'b)、またはそれらのラセミ混合物を調製するための 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (IVa) または 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (IVb) 出発物質は、塩基の存在下、4 - ヒドロキシベンズアルデヒドを、それぞれ、3 - フルオロベンジルまたは 2 - フルオロベンジルアルキル化剤 (Va) または (Vb)

40

【化5】



(Va): 3-F

(Vb): 2-F

50

(Yは、C<sub>1</sub>、Br、I、OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、およびOSO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-pCH<sub>3</sub>を含む脱離基である。)

でアルキル化し、必要に応じて結晶化させてから、続く反応工程に用いて4-(3-または2-フルオロベキシルオキシ)ベンズアルデヒド出発物質(IVa)または(IVb)とすることで調製し、3-(3-または2-フルオロベンジル)-4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド不純物含量は0.03重量%未満である、請求項1から18のいずれかに記載の方法。

【請求項20】

3-(3-または2-フルオロベンジル)-4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド不純物含量が0.01重量%未満である請求項19に記載の方法

10

【請求項21】

YがC<sub>1</sub>である請求項19および20のいずれかに記載の方法。

【請求項22】

結晶化が4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVa)又は4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の不活性有機溶媒溶液に不活性有機非溶媒を加えることにより実施される請求項19から21のいずれかに記載の方法。

【請求項23】

不活性有機非溶媒が低級脂肪族炭化水素から選択され、ならびに不活性有機溶媒が芳香族炭化水素から選択される請求項22に記載の方法。

20

【請求項24】

低級脂肪族炭化水素がn-ヘキサンであり、ならびに芳香族炭化水素がトルエンである請求項23に記載の方法。

【請求項25】

結晶化が4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVa)又は4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)を還流下で高温溶媒に溶解し、次いで溶液を室温、または10-15℃に冷却することにより実施される請求項19および20のいずれかに記載の方法。

【請求項26】

前記溶媒がシクロヘキサン又はジ(C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>)アルキルエーテルである請求項25に記載の方法。

30

【請求項27】

前記溶媒がジイソプロピルエーテルである請求項26に記載の方法。

【請求項28】

アルキル化反応が相間移動条件下で実施される請求項19から25のいずれかに記載の方法。

【請求項29】

相間移動条件下的アルキル化が、試薬と相間移動触媒が有機液相に溶解され、固相が無機塩基又は前記無機塩基と4-ヒドロキシベンズアルデヒドの塩から構成される固/液系で実施される請求項28に記載の方法。

40

【請求項30】

相間移動条件下的アルキル化が、式(Va)又は(Vb)のアルキル化試薬3-フルオロベンジル又は2-フルオロベンジル誘導体が有機液相に溶解され、4-ヒドロキシベンズアルデヒドが無機塩基との塩として水相に溶解された液/液系で実施される請求項28に記載の方法。

【請求項31】

相間移動触媒が第4級アンモニウム、ホスホニウム塩及び低分子量ポリエチレングリコールから選択される請求項28から30のいずれかに記載の方法。

【請求項32】

50

相間移動触媒の使用量が4-ヒドロキシベンズアルデヒド1モル当たり0.02から1モルである請求項3-1に記載の方法。

【請求項3-3】

相間移動触媒の使用量が4-ヒドロキシベンズアルデヒド1モル当たり0.1から1モルである請求項3-2に記載の方法。

【請求項3-4】

有機液相の有機溶媒がジアルキルエーテル及び芳香族炭化水素から選択される請求項2-9から3-3のいずれかに記載の方法。

【請求項3-5】

式(Va)又は(Vb)のアルキル化試薬と4-ヒドロキシベンズアルデヒドのモル比が0.6から1.5である請求項2-9から3-4のいずれかに記載の方法。 10

【請求項3-6】

温度が60から160である請求項2-9から3-5のいずれかに記載の方法。

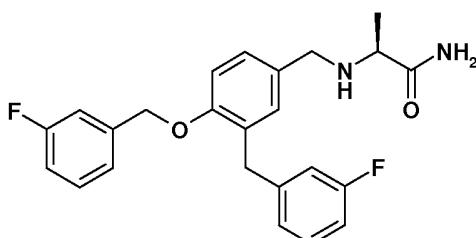
【請求項3-7】

無機塩基がNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、NaOH及びKOHから選択され、温度が80から120であり、ならびに式(Va)又は(Vb)のアルキル化試薬と4-ヒドロキシベンズアルデヒドのモル比が0.9から1.1である請求項2-9から3-6のいずれかに記載の方法。

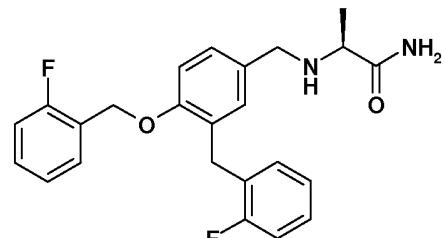
【請求項3-8】

サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー(I'a)もしくは(I'b)、またはそれぞれのラセミ混合物(Ia、I'a)および(Ib、I'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩は、それぞれの不純物、(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIa)、(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIb)、 20

【化6】



(IIa)



(IIb)

それぞれのR-エナンチオマー(II'a)もしくは(II'b)、またはそれぞれのラセミ混合物(IIa、II'a)もしくは(IIb、II'b)またはこれらの医薬的に許容される酸との塩の含量が0.03% (重量)未満であり、医薬的に許容される酸との塩はメタンスルホン酸との塩である、請求項1から3-7のいずれかに記載の方法。 40

【請求項3-9】

医薬的に許容される酸はメタンスルホン酸であり、メタンスルホン酸との塩としてのそれぞれ式(IIa)、(IIb)、(II'a)、(II'b)の不純物またはそれぞれのラセミ混合物(IIa、II'a)もしくは(IIb、II'b)の含量は0.01% (重量)未満である、請求項3-8に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

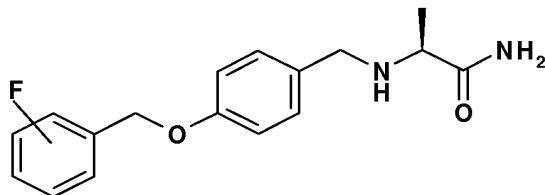
【0001】

本発明は、(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロ 50

パンアミド、即ちサフィナミド (Ia)、(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド、即ちラルフィナミド (Ib)、

【0002】

【化1】



10

サルフィナミド (Ia): 3-F

ラルフィナミド (Ib): 2-F

【0003】

それぞれのR-エナンチオマー (I'a) および (I'b)、それぞれのラセミ混合物 (Ia、I'a) および (Ib、I'b)、ならびにこれらの医薬的に許容される酸との塩、(Ic)、(Id)、(I'c)、(Id')、および塩のラセミ混合物 (Ic、I'c) および (Id、Id') から選択される 2-[4-(3-または 2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド化合物を、高収率であると同時に非常に高いエナンチオマー純度および化学純度で製造する新規方法に関する。

20

【0004】

本方法はこれらの大量生産にも非常に有用である。

【背景技術】

【0005】

サフィナミド (NW-1015, FCE-26743A, PNU-151774E) はナトリウムチャネル遮断薬、カルシウムチャネルモジュレーター、モノアミノオキシダーゼB (MAO-B) 阻害剤、グルタミン酸放出阻害剤及びトーパミン代謝モジュレーターである。

30

【0006】

サフィナミドはCNS障害、特に癲癇、パーキンソン病、アルツハイマー病、鬱病、不穏下肢症候群及び偏頭痛の治療に有用である (WO 90/14334、WO 2004/089353、WO 2005/102300、WO 2004/062655)。

【0007】

ラルフィナミド (NW-1029, FCE-26742A, PNU-0154339E) は慢性疼痛と神経因性疼痛を含む疼痛症状、偏頭痛、双極性障害、鬱病、心臓血管障害、炎症性障害、尿生殖器障害、代謝障害及び胃腸障害の治療に有用なナトリウムチャネル遮断薬である (WO 99/35125、WO 03/020273、WO 2004/062655、WO 2005/018627、WO 2005/070405、WO 2005/102300)。

40

【0008】

特に、サフィナミドは、WO 90/14334 に具体的に記載される。サフィナミド、このR-エナンチオマー、これらのラセミ混合物、およびこれらの医薬的に許容される酸との塩、ならびに抗てんかん剤、抗パーキンソン病剤、神経保護剤、抗鬱薬、鎮痙剤および/または睡眠剤として有効な薬学的組成物を製造するためのこれらの使用が、WO 90/14334 で具体的に特許請求されている。

【0009】

ラルフィナミドは、WO 90/14334 に具体的に記載される。ラルフィナミド、このR-エナンチオマー、これらのラセミ混合物、およびこれらの医薬的に許容される酸との塩、ならびに抗てんかん剤、抗パーキンソン病剤、神経保護剤、抗鬱薬、鎮痙剤および

50

/ または睡眠剤として有効な薬学的組成物を製造するためのこれらの使用が、 WO 90 / 14334 の特許請求の範囲に含まれている。

【 0010 】

さらに、 サフィナミド、 ラルフィナミド、 それぞれの R - エナンチオマー、 それぞれの ラセミ混合物、 ならびにこれらの医薬的に許容される酸との塩の、 鎮痛薬としての使用が WO 99 / 035125 で特許請求されている。

【 0011 】

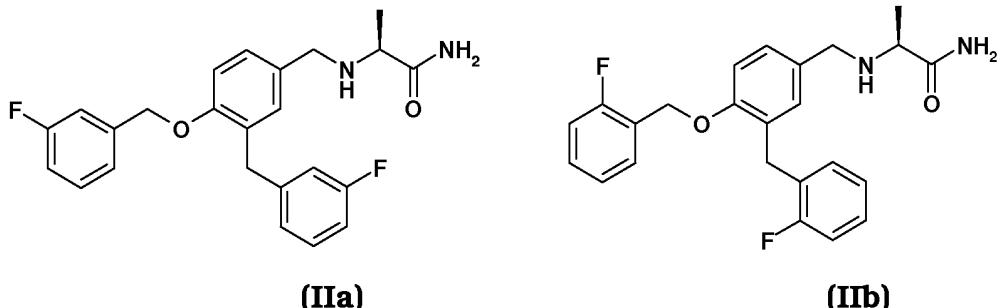
WO 2006 / 027052 A2 は、 ナトリウムまたはカルシウムチャネル機構が病理学的役割を果たす病状（疼痛、 偏頭痛、 身体系全体に影響を及ぼす炎症過程、 皮膚および関連組織に影響を及ぼす障害、 呼吸器系の障害、 免疫系および内分泌系の障害、 胃腸障害および尿生殖器障害など）の選択的治療のための、 ラルフィナミドの R - エナンチオマー即ち、 (R) - 2 - [ 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ ] プロパンアミド (I' b) 単体、 およびこの医薬的に許容される酸との塩の、 選択的ナトリウムおよびカルシウムチャネルモジュレーターとしての使用を具体的に開示して特許請求している。 使用においては、 上記化合物の治療活性は、 どのような MAO 阻害的副作用も実質的に含まないか、 MAO 阻害的副作用を示したとしても顕著に減少したものである。

【 0012 】

従来技術に記載されている方法による サフィナミド と ラルフィナミド の大規模調製物は 2 種類の望ましくない不純物としてそれぞれ (S) - 2 - [ 3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ ] プロパンアミド (II a) 及び (S) - 2 - [ 3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ ] プロパンアミド (II b) :

【 0013 】

【 化 2 】



とそれらの塩、 特にそれぞれのメタンスルホン酸塩 (II e) 及び (II d) を含有していることが今回判明した。

【 0014 】

同じ状況が、 従来技術の方法による サフィナミド および ラルフィナミド それぞれの R - エナンチオマー (I' a) および (I' b) 、 それぞれのラセミ混合物 (I a、 I' a) および (I b、 I' b) 、 ならびにこれらの医薬的に許容される酸との塩、 特にメタンスルホン酸塩 (I' c) 、 (I' d) 、 および塩それぞれのラセミ混合物 (I c、 I' c) および (I d、 I' d) の製造でも起こり、 結果として上記に同定される不純物 (II a) 、 (II b) 、 (II c) 、 および (II d) それぞれの R 異性体 (II' a) 、 (II' b) 、 (II' c) 、 および (II' d) 、 またはそれぞれのラセミ混合物 (II a、 II' a) 、 (II b、 II' b) 、 (II c、 II' c) 、 および (II d、 II' d) が混入する。

【 0015 】

上記の不純物はチトクローム P 450 系の酵素に非常に強い毒性を示すことがわかつて いるため、 この事実は特に問題である。

【 0016 】

薬剤候補の多くは望ましくない不純物に起因するヒト代謝への予想外の影響又は毒性に

10

20

30

40

50

より臨床試験に失敗しており、従って、初期前臨床段階でこのような不純物を除去することが重要であり、極めて望ましい。

【0017】

前臨床段階では、薬剤代謝酵素との相互作用、細胞毒性、代謝安定性及びプロファイリング、膜浸透性、固有クリアランス並びにヒトether-a-g-o-g-o関連遺伝子(HERG)チャネル遮断等の非常に十分に確立された一連のin vitroアッセイを使用して新規化合物の「薬剤適性」を評価することができる。

【0018】

チトクロームP450(CYP450)系は薬剤、発癌物質及び環境汚染物質を含む親油性生体異物の代謝の主要酵素系である。CYP450は多くの組織に存在するが、肝臓に最高濃度で存在するヘム含有膜結合多酵素系である。ヒト肝臓には、15~20種類の異なる生体異物代謝性CYP450種が存在すると推定される。これまでに、14種類を上回るCYP遺伝子ファミリーが哺乳動物で同定されている。高い相同性が存在するにも拘わらず、広範な研究の結果、各CYPファミリー及びサブファミリーは生体異物代謝において異なる役割をもつことが判明した。CYP1、CYP2及びCYP3の3種類のCYPファミリーがヒト肝ミクロソームCYPの約70%を占め、そのうちCYP3が約30%を占める。これらのCYPは大半の市販薬の代謝に最も大きく関与している。

【0019】

CYP1ファミリーはCYP1A1、CYP1A2及びCYP1B1等の数個のメンバーを含み、アセトアミノフェン、クロミプラミン及びイミプラミンの代謝に関与している。

【0020】

CYP2ファミリーはCYP2A、CYP2B、CYP2C、CYP2D及びCYP2E等の数個のサブファミリーを含む。CYP2Cサブファミリーは少なくとも7個のメンバーを含む。CYP2C9はイブプロフェン、ジクロフェナク、トルブタミド及びトラセミドの代謝に関与している。CYP2C19はジアゼパムとオメプラゾールの代謝の主要アイソザイムである。CYP2D6は抗鬱薬、心臓血管薬及び抗精神病薬を含む市販薬剤の30%以上の代謝に関与していることが分かっている。

【0021】

CYP3ファミリーでは、3種類のアイソフォームがヒト肝臓で同定されている。ヒトCYP3A4は薬剤代謝における最も重要なアイソフォームであるとして認められている。今日までに、CYP3A4により触媒される代謝は市販薬剤の約50%の主要な排泄経路である。

【0022】

CYP3A4とCYP2D6はいずれも薬剤代謝における重要性により、薬剤間相互作用に関与していることが多く、数種類の臨床使用されている化合物がそれぞれケトコナゾール、テルフェナジン、エリスロマイシン、ミコナゾール、プロプラノロール及びキニジン等のこれらのCYP450アイソフォームの強力な阻害剤として同定されている。このため、これらの薬剤の使用は明白に制限される。

【0023】

非抗不整脈薬の作用の副作用は医薬産業と保健行政当局にとって薬理安全性の大問題であるため、突然死も問題になっている。近年では、突然死の報告により少なくとも5品目の超大型新薬(アステミゾール、セルチンドール、テルフェナジン、シサブリド、グレバフロキサシン)が市場から撤退している。「torsades de pointes」は自然に心室細動に悪化して突然死の原因となり得る多形性心室頻拍であるが、いずれの場合も、心電図におけるQT間隔の延長を特徴とする心筋再分極異常であるQT延長症候群(LQTS)がその素因とみなされている。先天性LQTSはナトリウムチャネルと2種類の異なるカリウムチャネルである急速活性化遅延整流カリウムチャネル( $I_{Kr}$ )及び緩徐活性化遅延整流カリウムチャネル( $I_{Ks}$ )の欠損をもたらす数箇所の可能な突然変異に起因すると考えられる。重要な点として、薬剤暴露に関連する心筋活動電位持続時

10

20

30

40

50

間の延長（後天性 L Q T S ）のほぼ全症例は心筋内の  $I_{K_r}$  電流の遮断という同一の特定メカニズムに起因すると考えられる。Q T 間隔の終点の第3相再分極の要因であるこの電流は各サブユニットが H E R G によりコードされる四量体チャネルを流れる。H E R G  $K^+$  チャネルの遮断は薬剤誘発性 Q T 延長の主原因であると広く認められているので、この望ましくない副作用をもつ化合物の早期検出は医薬産業における重要な課題となっている。

## 【 0 0 2 4 】

薬剤代謝酵素、特に C Y P 4 5 0 酵素の強力な阻害剤であると共に H E R G チャネル遮断性をもつ化合物は毒性である確率が高く、その開発を早期に停止する必要がある。

## 【 0 0 2 5 】

表 1 に示すように、不純物 ( I I a ) 、 ( I I b ) 、 ( I I ' a ) 、 ( I I ' b ) 、ならびにそれぞれのラセミ体 ( I I a 、 I I ' a ) および ( I I b 、 I I ' b ) は、メタンスルホン酸塩 ( I I c ) 、 ( I I ' c ) 、 ( I I d ) 、 ( I I ' d ) 、ならびに塩それぞれのラセミ体 ( I I c 、 I I ' c ) および ( I I d 、 I I ' d ) とすると、マイクロモルおよびそれ以下の範囲で C Y P 3 A 4 、 C Y P 2 D 6 、 C Y P 2 C 1 9 、 C Y P 2 C 9 および H E R G 電流を強く阻害し、上記不純物含量が 0 . 0 3 重量 % 未満の高純度 サフィナミドメタンスルホン酸塩 ( I c ) および高純度 ラルフィナミドメタンスルホン酸塩 ( I d ) と比較して細胞毒性が高い。

## 【 0 0 2 6 】

## 【表 1 】

化合物	HERG $IC_{50}$ , $\mu M$	細胞 毒性 $IC_{50}$ , $\mu M$	CYP3A4 $IC_{50}$ , $\mu M$	CYP2D6 $IC_{50}$ , $\mu M$	CYP2C19 $IC_{50}$ , $\mu M$	CYP2C9 $IC_{50}$ , $\mu M$	CYP1A2 $IC_{50}$ , $\mu M$
不純物 ( I I c )	1.20	6.70	0.05	0.77	0.42	7.29	>40
不純物 ( I I ' c )	<1	8.81	0.09	0.15	0.15	4.94	29.24
不純物 ( I I c , I I ' c )	<1	11.84	0.06	0.31	0.17	5.57	28.03
サルフィナ ミドメタンスル ホン酸塩 ( I c )	27.0	248.0	>40	>40	23.85	>40	>40
不純物 ( I I d )	2.66	15.00	0.05	0.92	1.89	8.01	>40
不純物 ( I I ' d )	<1	11.46	0.07	0.62	0.03	4.34	>40
不純物 ( I I d , I I ' d )	<1	14.34	0.06	1.19	0.03	4.96	39.44
ラルフィナ ミドメタンスル ホン酸塩 ( I d )	18.0	>300	>40	>40	>40	>40	>40

## 【 0 0 2 7 】

表 2 は、上記不純物含量が 0 . 0 3 重量 % 未満の高純度 サフィナミドメタンスルホン酸塩 および高純度 ラルフィナミドメタンスルホン酸塩 の試料を用いた場合と、同じ高純度 サフィナミドメタンスルホン酸塩 および高純度 ラルフィナミドメタンスルホン酸塩 の試料にそれぞれの不純物 ( I I c ) および ( I I d ) を 0 . 3 重量 % 添加して用いた場合を比較する、チトクローム C Y P 3 A 4 の阻害についての比較結果 (  $IC_{50}$  ) を示す。

10

20

30

40

50

## 【0028】

0.3%の不純物 IIc 及び IID を高純度サフィナミド及びラルフィナミドメタンスルホン酸塩に加えると、どちらの場合も CYP3A4 の IC<sub>50</sub> の著しい低下が観察され、不純物が酵素活性の強い阻害の一因であることが分かる。

## 【0029】

## 【表2】

化合物	CYP3A4 IC <sub>50</sub> , $\mu\text{M}$
サルフィナミドメタンスルホン酸塩	>40
サルフィナミドメタンスルホン酸塩+0.3%不純物 IIc	18
ラルフィナミドメタンスルホン酸塩	>40
ラルフィナミドメタンスルホン酸塩+0.3%不純物 IID	7.76

10

## 【0030】

表3に示すように、不純物 (IIc) は 3 mg / kg ip からマウス最大電気ショック (MES) 試験における死亡率を増加させ、薬理活性即ち痙攣からの保護は認められなくなる。

## 【0031】

## 【表3】

化合物	MES					
	3 mg/kg ip		10 mg/kg ip		30 mg/kg ip	
	%保護	死/生	%保護	死/生	%保護	死/生
サルフィナミドメタンスルホン酸塩	50	0/10	100	0/10	100	0/10
不純物 IIc	0	5/10	0	4/10	0	4/10

20

## 【0032】

表4は最大電気ショック試験 (MES) で 10 及び 20 mg / kg を経口投与した場合の不純物 IID が同一用量のラルフィナミドメタンスルホン酸塩に比較してマウスを痙攣から保護しないことを報告する。

30

## 【0033】

## 【表4】

化合物	MES			
	10 mg/kg p. o.		20 mg/kg p. o.	
	%保護	死/生	%保護	死/生
ラルフィナミドメタンスルホン酸塩	60%	0/10	90%	0/10
不純物 (IID)	0%	0/10	0%	0/10

40

## 【0034】

これらのデータ全てを基にすると、WO 90 / 14334 および Pevarello らの J. Med. Chem., 1998, 41, 579 - 590 に記載の方法、または WO 2006 / 027052 に記載の方法により合成された、サフィナミド、ラルフィナミド、これらの R - 異性体、およびそれぞれのラセミ混合物の、それぞれの中に望ましくない量で存在する不純物 (IIc)、(II'c)、(IID)、および (II'd)、ならびにそれぞれのラセミ混合物 (IIc、II'c) および (IID、II'd) は、in vitro で望ましくない特徴 (細胞毒性、CYP450 のあるアイソフォームの強力な阻害、HERG チャネル遮断、および癲癇の「in vivo」モデルにおける保護活性の不在など) を幾つか示す。

50

## 【0035】

CYP の重要な側面の 1 つは異なる集団群間の変動である。薬剤代謝の変動は臨床試験で非常に重要である。CYP3A4 と CYP2D6 の酵素活性は異なる民族集団間で著しく相違し、同一民族集団でも個体間で著しく相違する。個体間の CYP 活性の差は各アイソザイムにより著しく異なる。各個体の CYP 発現レベルの相違により薬剤代謝も変動する可能性がある。更に重要な点として、多形の結果として酵素活性の増減した CYP 酵素が生じ、薬剤代謝の変動につながる可能性もある。CYP2D6 多形は薬剤代謝で詳しく研究されている事項である。臨床試験では、最初に抗高血圧薬と抗癲癇薬の代謝で個体間の顕著な変動が認められた。欠損 CYP2D6 対立遺伝子を保有する個体では CYP2D6 で代謝された薬剤の排泄が遅い。代謝の遅い個体は低代謝能群 (PM) に分類され、代謝のよい個体は高代謝能群 (EM) と呼ばれ、異なる人種に由来する集団における PM 表現型の発生率は異なり、白人では約 5 ~ 10 % が PM 表現型であるが、アジア人は 1 % に過ぎない。臨床関連で重要な別の多形アイソフォームは CYP2C19 である。10

## 【0036】

これらの点を考慮すると、CYP450 アイソフォームに干渉しない ( 阻害も誘導もない ) 化合物は臨床医療で薬剤間相互作用の危険が非常に低く、医師が簡単且つ安全に処方することができる。

## 【0037】

特に、CYP450 系のチトクロームに干渉しない薬剤は低代謝能群 (PM) に分類される個体の治療処置又は前記チトクロームと相互作用することが分かっている他の薬剤 ( 例えはケトコナゾール、テルフェナジン、エリスロマイシン、ミコナゾール、プロプラノロール及びキニジン ) 及び / 又は HERG チャネル遮断性をもつことが分かっている他の薬剤を同時に投与している患者の治療処置に特に指定される。20

## 【0038】

一般臨床医療によると、サフィナミド及びラルフィナミドメタンスルホン酸塩 (Ic 及び Id) は通常、これを必要とする患者に一日数回に分けて長期間投与される。これは特に治療する疾患がパーキンソン病、アルツハイマー病及び不穏下肢症候群 (サフィナミドの場合) や、慢性もしくは神経因性疼痛、心臓血管障害又は炎症性障害 (ラルフィナミドの場合) である治療用途の場合に該当する。1日用量は特定症状と患者の必要により異なるが、サフィナミドメタンスルホン酸塩の 1 日用量は通常 10 mg / 日 ~ 800 mg / 日とすることができます、ラルフィナミドメタンスルホン酸塩の 1 日用量は通常 10 mg / 日 ~ 1 g / 日とすることができます。これらの条件下で上記に報告したデータを考慮すると、サフィナミド及びラルフィナミド又はその塩の医薬製剤中の不純物 (IIa) 及び (IIb) 又はその塩、特にメタンスルホン酸塩 (IIc) 及び (IId) の濃度をできるだけ低く維持することが強く推奨され、いずれの場合もそれぞれサフィナミド及びラルフィナミド又はその塩、特にメタンスルホン酸塩の量に対して 0.03 % 未満、好ましくは 0.01 重量 % とする。30

## 【0039】

サフィナミドおよびラルフィナミドの R - エナンチオマー (I'a) および (I'b) 、それぞれのラセミ混合物 (Ia、I'a) および (Ib、I'b) 、ならびにこれらの医薬的に許容される酸との塩にも、それぞれの不純物 (II'a) 、 (II'b) 、それぞれのラセミ混合物 (IIa、II'a) および (IIb、II'b) 、ならびにこれらの医薬的に許容される酸との塩に関して同様な考察が当てはまる。40

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0040】

【特許文献 1】国際公開第 90 / 14334 号

【特許文献 2】国際公開第 2004 / 089353 号

【特許文献 3】国際公開第 2005 / 102300 号

【特許文献 4】国際公開第 2004 / 062655 号

【特許文献 5】国際公開第 99/035125 号

【特許文献 6】国際公開第 03/020273 号

【特許文献 7】国際公開第 2005/018627 号

【特許文献 8】国際公開第 2005/070405 号

【特許文献 9】国際公開第 2006/027052 号

【非特許文献】

【0041】

【非特許文献 1】Pevarello et al., J. Med. Chem., 1998, 41, 579-590

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0042】

本発明者らが行った調査と実験研究により、サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれの R - エナンチオマー、それぞれのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩は、従来技術の方法により製造すると、0.03重量%を上回る量で、それぞれの不純物 (IIa)、(IIb)、不純物それぞれの R - エナンチオマー (II'a) および (II'b)、それぞれのラセミ混合物 (IIa, II'a) および (IIb, II'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、((IIc)、(IId)、(II'c)、および (II'd)、またはそれぞれのラセミ混合物 (IIc, II'c) および (IId, II'd) など) を含有していることが判明した。従って、上記生成物は広範囲で安全な治療用途には不適切である。特に、サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれの R - エナンチオマー (I'a) または (I'b)、それぞれのラセミ混合物 (Ia, I'a) および (Ib, I'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩を含有する医薬製剤が、それぞれの不純物 (IIa)、(IIb)、(II'a)、(II'b)、これらのラセミ混合物 (IIa, II'a) および (IIb, II'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩を、上記治療活性物質に対して 0.03 重量%以上、好ましくは 0.01 重量%以上含有する場合、この医薬製剤は、上記のような特定の患者の群において医薬として不適切である。

20

【0043】

特に、サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれの R - エナンチオマー (I'a) もしくは (I'b)、またはそれぞれのラセミ混合物 (Ia, I'a) および (Ib, I'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩を含有する医薬製剤が、それぞれの不純物 (IIa)、(IIb)、(II'a)、(II'b)、不純物それぞれのラセミ混合物 (IIa, II'a) および (IIb, II'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩を、上記活性物質に対して 0.03 重量%以上、好ましくは 0.01 重量%以上含有する場合、この医薬製剤は、低代謝能群 (PM) に分類される個体または CYP450 系のチトクロームに干渉することが既知である他の薬物の付隨が想定されている (concomitantly assuming) 個体を含む患者集団を広く治療するのに用いるには不適切である。

30

【課題を解決するための手段】

40

【0044】

本明細書および特許請求の範囲において、上記範囲の値は、特に指定しない限り、「活性物質」の重量パーセント比、即ち治療活性物質 (Ia)、(Ib)、(I'a)、(I'b)、またはそれぞれのラセミ混合物 (IIa, II'a) および (IIb, II'b) の有効含量に対する、測定した毒物活性不純物 (IIa)、(IIb)、(II'a)、(II'b)、またはそれぞれのラセミ混合物 (IIa, II'a) および (IIb, II'b) の有効含量の比を表すものとする。

【0045】

本明細書および特許請求の範囲において、「高純度 (high purity)」、「高純度 (high purity degree)」、「化学的に高純度」、「高純度な

50

」などの表現は、サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー、それぞれのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩を示す場合には、生成物がサフィナミド(Ia)、ラルフィナミド(Ib)、それぞれのR-エナンチオマー(I'a)および(I'b)、それぞれのラセミ混合物(Ia、I'a)および(Ib、I'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩を98.5パーセント(HPLC法により面積%として評価)以上含有し、生成物中のそれぞれの不純物(IIa)、(IIb)、(II'a)、(II'b)、それぞれのラセミ混合物(IIa、II'a)および(IIb、II'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩の含量は、HPLC法で測定して0.03重量%未満、好ましくは0.01重量%未満(「活性物質」に対して)であることを特定する。

10

## 【0046】

その他の不純物は、ほとんど検出されないが、市販の3-フルオロベンジルクロリドおよび2-フルオロベンジルクロリドそれに混入している極少量のベンジル、2-および4-フルオロベンジルクロリド、ならびに3-および4-フルオロベンジルクロリドに由来する。3-フルオロベンジルクロリドおよび2-フルオロベンジルクロリドは、化合物(Ia)、(Ib)、(I'a)、(I'b)、(Ia、I'a)、および(Ib、I'b)、ならびにこれらの医薬的に許容される酸との塩を製造するためのそれぞれの中間体4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVa)および4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の合成に用いるものである。

20

## 【0047】

同様に、上記の用語「高純度(high purity)」、「高純度(high purity degree)」、「化学的に高純度」、「高純度な」は、4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド中間体(IVa)および(IVb)を示す場合には、生成物が上記の化合物それぞれを98.5パーセント(GC法により面積%として評価)以上含有し、生成物中のジベンジル化不純物(VIa)または(VIb)それぞれの含量は0.03重量%未満、好ましくは0.01重量%未満(GC法により評価)であることを特定する。

20

## 【0048】

本発明に記載される方法では、不純物を著しく低減することにより、高い化学純度と安全性の高い生体プロファイルをもつ生成物が得られる。

30

## 【0049】

本発明に記載される方法に従って、サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー(I'a)および(I'b)、それぞれのラセミ混合物(Ia、I'a)および(Ib、I'b)、ならびにこれらの医薬的に許容される酸との塩、特にメタンスルホン酸塩が、高収率であると同時に高純度で得られ、それぞれの不純物である(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIa)、(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIb)、不純物それぞれのR-エナンチオマー(II'a)および(II'b)、それぞれのラセミ混合物(IIa、II'a)および(IIb、II'b)、ならびにこれらの医薬的に許容される酸との塩、特にメタンスルホン酸塩(「ジベンジル化誘導体」と総称する。)の含量は、「活性物質」に対して0.03%未満、好ましくは0.01%(重量)未満である。

40

## 【0050】

本発明のさらなる目的は、サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー、それぞれのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩を、医薬として安全に用いるのに適した高純度で提供すること、特に式(IIa)、(IIb)(II'a)、(II'b)、これらのラセミ混合物(IIa、II'a)および(IIb、II'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、例えばメタンスルホン酸との塩であるそれぞれのジベンジル誘導体含量0.03重量%未満、好ましくは0.01重量%未満(「活性物質」に対して)で提供することで

50

ある。

【0051】

本発明の別の目的は、サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー(I'a)および(I'b)、それぞれのラセミ混合物(Ia、I'a)および(Ib、I'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩を活性剤として含み、それぞれのジベンジル誘導体(IIa)、(IIb)、これらのR-エナンチオマー(II'a)および(II'b)、それぞれのラセミ混合物(IIa、II'a)および(IIb、II'b)またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、例えはメタンスルホン酸との塩の含量が、0.03重量%未満、好ましくは0.01重量%未満(「活性物質」に対して)である、薬学的配合物を提供することである。 10

【0052】

より詳細には、本発明の好適な実施形態に従って、本明細書中に開示される方法により、CYP450系のチトクローム、特にCYP3A4、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9に干渉せず、ならびにHERGチャネル遮断性を示さない条件下で、それぞれ(i)癲癇、パーキンソン病、アルツハイマー病、うつ病、不穏下肢症候群疼痛、および偏頭痛、または(ii)慢性疼痛および神経因性疼痛を含む疼痛症状、偏頭痛、双極性障害、うつ病、心臓血管障害、炎症性障害、尿生殖器障害、代謝障害、および胃腸障害を治療するための、高純度の(i)サフィナミド、このR-エナンチオマー(I'a)、これらのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩、または高純度の(ii)ラルフィナミド、このR-エナンチオマー(I'b)、これらのラセミ混合物(IIa、II'a)および(IIb、II'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩を含有する医薬の製造が可能になる。 20

【0053】

さらに、本発明のさらに好適な実施形態に従って、本明細書中に開示される方法により、CYP450系のチトクローム、特にCYP3A4、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9に干渉せず、ならびにHERGチャネル遮断性を示さない条件下で、ナトリウムおよび/またはカルシウムチャネル機構がWO2006/027052A2で特定される病理学的役割を果たす病状(疼痛、偏頭痛、身体系全体に影響を及ぼす炎症過程、皮膚および関連組織に影響を及ぼす障害、呼吸器系の障害、免疫系および内分泌系の障害、胃腸障害、および尿生殖器障害など)を選択的に(即ち、患者に投与される活性物質の治療活性がどのようなMAO阻害的副作用も実質的に含まないか、MAO阻害的副作用を示したとしても顕著に減少したものである。)治療するための、高純度のラルフィナミドR-エナンチオマー単体、またはこの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩を含有する医薬の製造が可能になる。 30

【0054】

従って、本発明の方法により、低代謝能群(PM)に分類される患者またはCYP450系のチトクロームに干渉することが既知であるおよび/またはHERGチャネル遮断性を有することが既知である他の薬物の付隨が想定されている患者で、上記の障害を治療するのに適した、サフィナミド、このR-エナンチオマー(I'a)、ラルフィナミド、このR-エナンチオマー(I'b)、それぞれのラセミ混合物、(Ia、I'a)および(Ib、I'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩を含有する薬学的配合物の製造が可能になる。 40

【0055】

これらの新規薬学的配合物は全て、サフィナミドおよびラルフィナミドに関する薬理毒性学的知見を応用することによっても、当分野で利用可能な方法に従って調製したこれらの活性剤を用いることによっても、示唆も達成もされていなかった。

【0056】

上記の薬学的配合物は、上記の高純度を有するサフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー、それぞれのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される 50

酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩の他に、さらなる活性剤を1種類以上場合により含んでもよい。

【0057】

例えば、パーキンソン病または不穏下肢症候群の補助療法に有用な新規薬学的配合物は、本発明の方法に従って得られた、上記高純度を有するサフィナミド、このR-エナンチオマー、これらのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩の他にパーキンソン病の補助活性剤（WO 2004/089353およびWO 2005/102300に記載されるもの、好ましくはドーパミンアゴニストおよび/またはレボドパおよび/またはカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ（COMT）阻害剤など）を1種類以上含んでもよい。

10

【0058】

さらなる例として、慢性疼痛および神経因性疼痛を含む疼痛症状ならびに偏頭痛を治療するのに有用な本発明による新規薬学的配合物は、本発明の方法に従って調製された、上記高純度を有するラルフィナミド、このR-エナンチオマー、これらのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩の他に、さらなる活性剤（ガバペンチンおよびプレガバリン、またはEP 1423168に記載される通りのこれらの医薬的に許容される塩など）を場合により含有してもよい。

【0059】

同様に、WO 2006/027052 A2によるとナトリウムおよび/またはカルシウムチャネル機構が病理学的役割を果たしている病状（疼痛、偏頭痛、身体系全体に影響を及ぼす炎症過程、皮膚および関連組織に影響を及ぼす障害、呼吸器系の障害、免疫系および内分泌系の障害、胃腸障害および尿生殖器障害など）の選択的治療のための、ナトリウムおよび/またはカルシウムチャネルモジュレーターとして選択的に活性な医薬として有用である本発明による新規薬学的配合物は、さらなる活性剤を場合により含有してもよい。例えば、疼痛症状を治療する薬学的配合物は、本発明の方法に従って得られた、上記高純度を有するラルフィナミド（I'b）のR-エナンチオマー単体またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩の他に、ガバペンチンまたはガバペンチン関連作用剤を含有してもよい。

20

【0060】

本発明による高純度サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー、それぞれのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩を含有する薬学的組成物は、当分野で既知の従来手順により（例えば、活性化合物を薬学的治療上不活性な有機および/または無機キャリヤー材料と混合することにより）、製造することができる。本発明の組成物は、例えば溶液、懸濁液、エマルションなどの液体でもよいし、例えば錠剤、トローチ、カプセル、パッチなどの固体でもよい。

30

【0061】

本発明の組成物の製造に有用な適切な医薬治療用として不活性な有機および/又は無機キャリヤー材料としては、例えば水、ゼラチン、アラビアガム、ラクトース、澱粉、セルロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、植物油、ポリアルキレングリコール、シクロデキストリン等が挙げられる。本発明の医薬組成物は滅菌処理することができ、活性成分以外に、例えば防腐剤、安定剤、湿潤剤又は乳化剤（例えばパラフィン油）、モノオレイン酸マンニド、浸透圧調整用塩、緩衝液等の当業者に周知の他の成分を添加してもよい。

40

【0062】

本発明のさらなる目的は、CNS障害、特に癲癇、パーキンソン病、アルツハイマー病、および不穏下肢症候群の治療法を提供することであり、この方法は、この治療を必要とする患者に、それぞれのジベンジル誘導体（IIa）、（II'a）、これらのラセミ混合物（IIa、II'a）、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩の含量が（「活性物質」に対して）0.03重量%未満、好ましくは0.01重量%未満である高純度サフィナミド、このR-エナンチオマー、これらのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸

50

との塩を有効量で投与することを含む。上記方法は、この治療を必要とする患者に、上記の通りの高純度サフィナミド、このR-エナンチオマー(I'a)、これらのラセミ混合物(Ia、I'a)、またはこれらの塩の有効量を、WO2004/089353に記載されるようなパーキンソン病活性剤(例えば、ドーパミンアゴニストおよび/またはレボドパおよび/またはカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ(COMT)阻害剤)1種類以上と場合により組み合わせて投与することによりパーキンソン病又は不穏下肢症候群を治療することを含む。

#### 【0063】

さらに、本発明のさらなる目的は、慢性疼痛および神経因性疼痛を含む疼痛症状、偏頭痛、双極性障害、うつ病、心臓血管障害、炎症性障害、尿生殖器障害、代謝障害、および胃腸障害の治療法を提供することであり、この方法は、この治療を必要とする患者に、それぞれのジベンジル誘導体(I Ib)、(I I'b)、これらのラセミ混合物(I Ib、I I'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩の含量が(「活性物質」に対して)0.03重量%未満、好ましくは0.01重量%未満である高純度ラルフィナミド、このR-エナンチオマー、これらのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩を有効量で投与することを含む。上記方法は、高純度ラルフィナミド、このR-エナンチオマー、これらのラセミ混合物、またはこれらの塩を、ガバペンチンまたはプレガバリンと場合により組み合わせて用いて、慢性疼痛および神経因性疼痛を含む疼痛症状ならびに偏頭痛を治療することを含む。

#### 【0064】

さらに、本発明のさらなる目的は、ナトリウムまたはカルシウムチャネル機構が病理学的役割を果たす病状(疼痛、偏頭痛、身体系全体に影響を及ぼす炎症過程、皮膚および関連組織に影響を及ぼす障害、呼吸器系の障害、免疫系および内分泌系の障害、胃腸障害、および尿生殖器障害など)を選択的に治療する方法を提供することであり、この方法においては上記化合物の治療活性がどのようなMAO阻害的副作用も実質的に含まないか、MAO阻害的副作用を示したとしても顕著に減少したものであり、この方法は、この治療を必要とする患者に、不純物(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I I'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩の含量が0.03重量%未満、好ましくは0.01重量%未満であるラルフィナミドR-エナンチオマー単体、(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩、好ましくはメタンスルホン酸との塩を治療上有効量で、場合によりさらなる活性剤(例えば、疼痛症状の治療の場合、ガバペンチンまたはガバペンチン関連物質)と組み合わせて投与することを含む。

#### 【0065】

上記の治療法は、上記記載の疾患の患者で低代謝能群(PM)に分類される患者またはCYC450系のチトクロームに干渉することが既知である他の薬物の付隨が想定されている患者に特に有用である。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0066】

本明細書および特許請求の範囲において、「治療」または「治療する」という用語は、予防、軽減、治癒を含む。

#### 【0067】

##### 従来技術

WO90/14334及びPevarelloらの論文J. Med. Chem., 1998, 41, 579-590には、

a) 対応する4-ヒドロキシベンズアルデヒドを適切な塩化ベンジルでO-ベンジル化することにより中間体4-ベンジルオキシベンズアルデヒドを合成する段階と、

b) 下式:

10

20

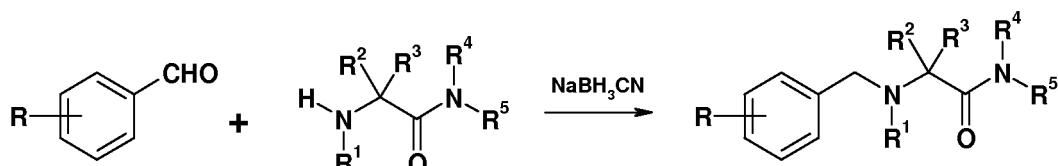
30

40

50

【0068】

【化3】



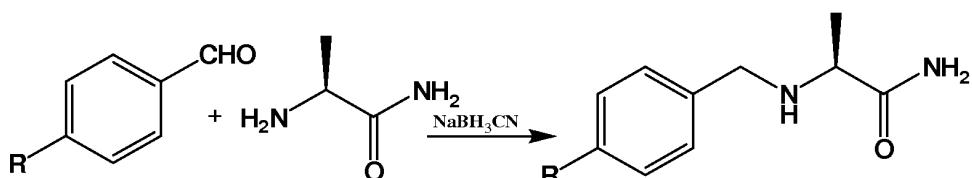
(式中、Rは特に3-F及び2-Fを表し；R<sup>1</sup>は特に水素を表し；R<sup>2</sup>は特に水素を表し；R<sup>3</sup>は特にCH<sub>3</sub>を表し；R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>はいずれも特に水素を表す)に模式的に示すように、シアノ水素化ホウ素ナトリウムを還元剤として使用して-L-アミノアミドを4-ベンジルオキシベンズアルデヒドで還元アルキル化する段階を含むベンジルオキシ-ベンジルアミノ-アルカンアミドの3段階製造法が記載されている。

【0069】

特に、サフィナミド及びラルフィナミド製造に関する限り、還元アルキル化は下式：

【0070】

【化4】



10

20

**R = 3-F-ベンジルオキシ=サルフィナミド (Ia)****R = 2-F-ベンジルオキシ=ラルフィナミド (Ib)**

に示すようにそれぞれ4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド及び4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドによるL-アラニンアミドの還元アルキル化である。

30

【0071】

J. Med. Chem. (Pevarello), 1998, 41, 579-590には、対応する(フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドから出発してそれぞれサフィナミド及びラルフィナミドメタンスルホン酸塩を収率45%及び60%で製造したことが報告されている。

30

【0072】

WO 90/14334と及び上記論文に記載されている方法は同一であり、イミノアルキル化と還元を同一反応器で実施するワンポット系を提供している。L-アラニンアミド塩酸塩とシアノ水素化ホウ素ナトリウムとメタノールと粉末状モレキュラーシーブの混合物に適切なアルデヒドを一度に加えるものである。

40

【0073】

(還元アルキル化による数種の-L-ベンジルアミノアミド誘導体の合成について記載している) Pevarello, Org. Prep. Proc. Int. 1996, 28, 179-183によると、イミニウムイオンはアルデヒドカルボニル基よりもシアノ水素化ホウ素ナトリウムと反応し易いので、対応するイミンの代わりにイミニウムイオンを形成するためには-L-アミノアミドを塩酸塩として使用することが重要である。

【0074】

上記著者らによると、このワンポット法はシップ塩基ラセミ化の問題がなくなると思われ、モレキュラーシーブにより反応速度が上げる(但し収率は低い)。

【0075】

50

シアノ水素化ホウ素ナトリウムが、好ましい薬剤として利用されると主張しているが、この選択はその反応性と選択性が低く (Review "Sodium Cyanoborohydride - A Highly Selective Reducing Agent for Organic Functional Groups" - C F. Lane, Synthesis 1975, 132 - 146 参照)、プロトン化シップ塩基と出発材料であるアルデヒドを区別できないためであると思われる。

【0076】

Peverall らの論文に記載されている合成はカラムクロマトグラフィーにより生成物を単離した後、酸処理により対応する塩に変換する。サフィナミド及びラルフィナミドの両者及び / 又はそれらの塩のエナンチオマー及び / 又は化学純度に関する情報は全く提供されていない。

10

【0077】

従来技術に記載されている方法には多数の欠点があり、このため大規模で応用するのに制限がある。以下に上記欠点の例を幾つか挙げる。

【0078】

シアン化物およびシアノ誘導体の形成；

物理的に変化し易く、また高価である、粉末状モレキュラーシーブの使用；

一般に 70% 未満の収率；

反応生成物の純度の低さと精製の難しさ；

還元アルキル化反応での大量の溶媒の使用 (1モルあたり約 5L から 7L)、その結果最終反応混合物中の最終生成物の濃度が下がること (約 4 から 6 重量 / 容量 %)；

20

化学合成による活性剤の大規模製造が関与する場合には煩雑で高価な単離法であるとみなされるカラムクロマトグラフィーによる反応生成物の単離。

【0079】

WO 2006 / 027052 A2 に記載される (R) - 2 - [4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ] プロパンアミド (I' b) の製造手順は、乾燥メタノール中モレキュラーシーブの存在下で、(R) - アラニンアミド塩酸塩を 4 - (2 - フルオロベンキシル (benzyl) オキシ) ベンズアルデヒド (この反応体の純度に関するデータは与えられていない。) およびトリエチルアミンと 4 時間反応させて得られる生成物の、水素化ホウ素ナトリウムによる還元に基づく。得られる最終化合物の純度に関するデータは与えられていない。この場合も同様に、大規模製造に応用した場合、手順の欠点として、粉末状またはペレット状モレキュラーシーブの使用、溶媒の大量使用、および、精製操作にもかかわらず、最終生成物 (I' b) 中に望ましくない不純物 (II' b) が 0.03 重量 % を超える量で存在すること (これにより CYP450 系のチトクロームと干渉するため、この方法で得られた活性物質 (I' b) は副作用の危険性なく、または低い危険性で治療に用いるには不適切となっている。) がある。WO 2006 / 027052 に記載の方法の最終生成物の純度が低く収率も低い (30% から 32%、モル濃度) ことは、この明細書中に記載される規模の異なる方法での複数の再現により示されている。そうした方法の代表例が本明細書の実施例 23.3 である。

30

【0080】

WO 2006 / 027052 に開示される方法が本発明の方法と区別される主要な特徴の 1 つであり、従来方法の顕著な低収率の原因となっていることが判明しているものは、この方法で用いられる有機溶媒 (メタノール) の量が、Schiff 塩基のモル量に対して、Schiff 塩基 1 モルあたり約 5L のオーダーの量であることである。こうした条件が最終生成物で、Schiff 塩基とこの前駆体 (同じ出発アルデヒド、このアセタール、およびアミノアセタールなど) の平衡に関与する種に由来する望ましくない不純物の増加を引き起こすことが今回発見された。

40

【0081】

本明細書に従う説明例は、従来技術に記載される方法に従って得られた生成物が、不純物 (II a)、(II b)、(II c)、(II d)、(II' a)、(II' b)、(

50

II'c)、(II'd) (IIa、II'a)、(IIb、II'b)、(IIc、II')c)、または(IId、II'd)を、それぞれの治療上活性物質である(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(I'a)、(I'b)、(I'c)、(I'd)、(Ia、I'a)、(Ib、I'b)、(Ic、I'c)、または(Id、I'd)に対して0.03重量%を超える量で含有することを裏付ける。また、最終生成物サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー、それぞれのラセミ混合物、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩に存在するこうした不純物を、溶媒からの結晶化またはクロマトグラフィーに基づく既知の精製方法(いずれにしろ収率の低下を暗示する。)を用いて除去することが難しいことが示された。

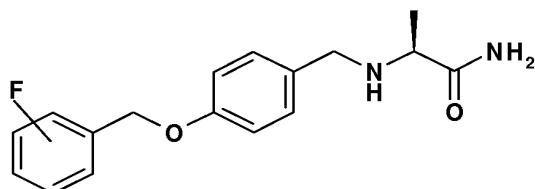
【0082】

10

本発明の目的は、(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(サフィナミド、Ia)、(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(ラルフィナミド、Ib)

【0083】

【化5】



20

サルフィナミド(Ia): 3-F

ラルフィナミド(Ib): 2-F

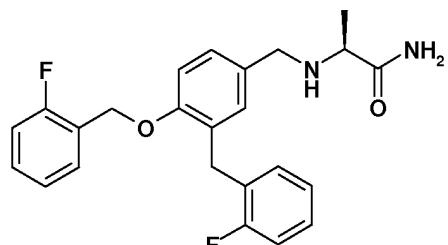
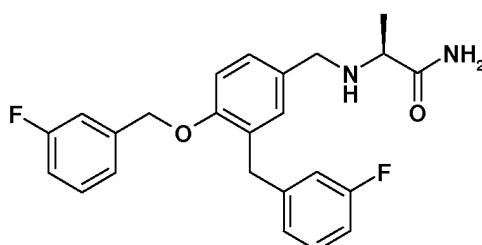
【0084】

それぞれのR-エナンチオマー(I'a)および(I'b)、それぞれのラセミ混合物(Ia、I'a)および(Ib、I'b)、ならびにこれらの医薬的に許容される酸との塩から選択される、高純度2-[4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド化合物の製造法を提供することであり、この方法では、サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー(I'a)もしくは(I'b)、またはそれぞれのラセミ混合物(Ia、I'a)および(Ib、I'b)、またはこれらの医薬的に許容される酸との塩は、それぞれの不純物、(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIa)、(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIb)、

30

【0085】

【化6】



40

(IIa)

(IIb)

【0086】

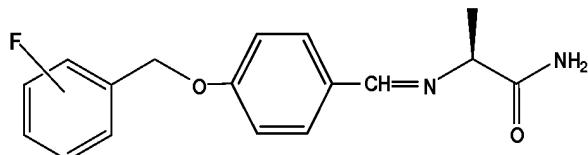
それぞれのR-エナンチオマー(II'a)または(II'b)、またはそれぞれのラ

50

セミ混合物 (II a、II ' a) または (II b、II ' b)、または医薬的に許容される酸との塩の含量が、0.03%未満、好ましくは0.01% (重量) であり、4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドとL-アラニンアミドまたはD-アラニンアミドまたはこれらのラセミ混合物とのイミノアルキル化反応により得られる、式 (III a)、(III b) の Schiff 塩基中間体、

【0087】

【化7】



10

(IIIa): 3-F

(IIIb): 2-F

【0088】

それぞれのR-エナンチオマー (III ' a) または (III ' b)、またはそれらのラセミ混合物 (III a、III ' a) または (III b、III ' b) を、イミノアルキル化反応完了後、(C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub>) 低級アルカノールまたはこれらの混合物から選択される場合により少量の水を含む所定量の有機溶媒中、水素化ホウ素ナトリウムおよび水素化ホウ素カリウムから選択される還元剤で還元し、還元中の有機溶媒対Schiff塩基の比は、還元反応過程の実質的な部分の間、Schiff塩基懸濁液からSchiff塩基の同有機溶媒の飽和溶液になって存在することを可能とするもので、Schiff塩基1モルあたり0.5Lから3.0L、好ましくは0.7Lから2.5L、より好ましくは0.8Lから2.0Lの範囲であることを特徴とする。この方法によりサフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー (I ' a) または (I ' b)、またはそれらのラセミ混合物 (I a、I ' a) または (I b、I ' b) が遊離塩基形で得られ、この遊離塩基は場合により医薬的に許容される酸との塩に変換される。

20

【0089】

本発明の好適な実施形態に従って、この方法はさらに、Schiff塩基中間体 (II a)、(II b)、(II ' a)、(II ' b)、またはそれらのラセミ混合物 (III a、III ' a) または (III b、III ' b) の生成に用いた4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド出発物質における、3-(3-または2-フルオロベンジル)-4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド不純物の含量が0.03重量%未満、好ましくは0.01重量%未満であることを特徴とする。

30

【0090】

本明細書中および特許請求の範囲に示される通りの式 (III a) および式 (III b) は、E配置およびZ配置の両方でSchiff塩基中間体を確定する。

【0091】

40

本発明の好適な実施形態に従って、本発明の対象とする方法は、以下の3工程を含む：  
 a) 4-ヒドロキシベンズアルデヒドを、一般式、3-または2-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>-Y (Va) または (Vb) (式中、Yは脱離基 (Cl、Br、I、OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>など) である。) の誘導体でO-ベンジル化して高純度4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド出発物質を調製する；このO-ベンジル化は、O-アルキル化の選択性が非常に高い条件下で行われて、4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドまたは4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを高純度で生成する；

b) モレキュラーシープを全く用いることなく、4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド出発物質を、塩基または塩の形のL-アラニンアミド、D-

50

アラニンアミド、またはこのラセミ混合物と縮合させることにより、S chiff 塩基中間体の形成を完了させる；

c) 後処理と結晶後に、それぞれ高収率であると同時に上記に定義される化学純度でもってサフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー、またはそれぞれのラセミ混合物を得るため、還元反応過程の実質的な部分の間、(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)アルカノールから選択される有機溶媒が、S chiff 塩基に対して、S chiff 塩基が固体の形とこの溶媒の飽和溶液とで同時に存在する（即ちこの有機溶媒によるS chiff 塩基懸濁液）を可能にするのに適切な比で存在する下で、水素化ホウ素ナトリウムおよび水素化ホウ素カリウムから選択される還元系でS chiff 塩基を処理する；および、場合により、慣用塩形成手順によりこれらの医薬的に許容される酸との塩を調製する。

10

【0092】

医薬的に許容される酸は、例えば、硝酸、塩酸、臭化水素酸、硫酸、過塩素酸、リン酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸(propionic)、グリコール酸、乳酸、シュウ酸、マロン酸、リンゴ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、ケイ皮酸、マンデル酸、およびサリチル酸から選択される。

【0093】

4(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド出発物質の合成

既知の方法に従って、4-ヒドロキシベンズアルデヒドを塩基性媒体中でベンジル化することにより、本発明によるサフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー、およびそれぞれのラセミ混合物の合成にそれぞれ用いられるS chiff 塩基中間体(I I I a)、(I I I b)、(I I I ' a)、(I I I ' b)、およびそれぞれのラセミ混合物(I I I a, I I I ' a)および(I I I b, I I I ' b)の調製に必要な、(フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド出発物質を得る。アンビデントな求核剤であるフェノール塩のベンジル化により2種類の異なる生成物、即ち所望のO-アルキル化誘導体と望ましくないC-アルキル化誘導体が得られる。

20

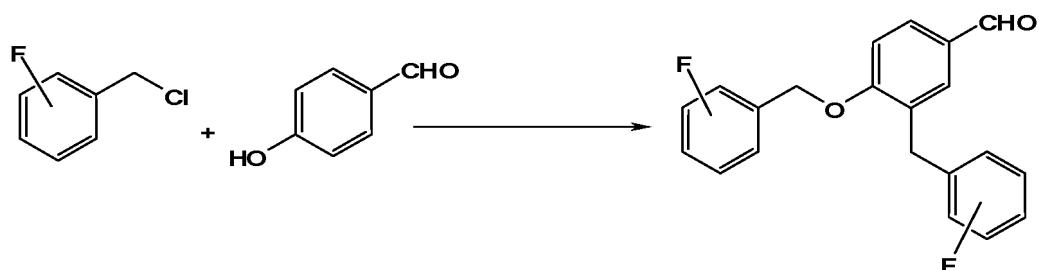
【0094】

従来技術に従って4-ヒドロキシベンズアルデヒドを3-フルオロベンジルクロリドでフルオロベンジル化すると、主生成物として4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(V a)が得られると共に、4-ヒドロキシベンズアルデヒドの4位ヒドロキシ基と3位炭素原子の両者のアルキル化に由来する3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(V I a)も得られる。下記スキーム：

30

【0095】

【化8】



40

(V<sub>a</sub><sub>1</sub>): 3-F

(V<sub>b</sub><sub>1</sub>): 2-F

(VI<sub>a</sub>): 3-F

(VI<sub>b</sub>): 2-F

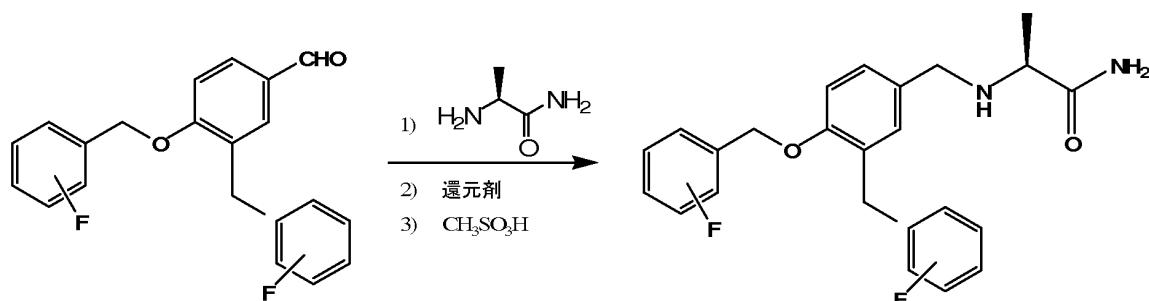
【0096】

50

L-またはD-アラニンアミドまたはこのラセミ混合物による4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドのイミノアルキル化により形成されたS ch i f f 塩基の還元は、アルデヒド出発物質がジアルキル化不純物を含有する場合、以下のスキームに示す通り、式(I a)、(I b)、(I' a)、(I' b)、またはそれらのラセミ混合物(I a、I' a)または(I b、I' b)の最終生成物も、遊離塩基のジアルキル誘導体(I I a)、(I I b)、(I I' a)、(I I' b)、またはそれらのラセミ混合物(I I a、I I' a)または(I I b、I I' b)であるか、酸と塩を形成した化合物(好ましくはメタンスルホン酸と)(I I c)、(I I d)、(I I' c)、(I I' d)、またはそれらのラセミ混合物(I I c、I I' c)または(I I d、I I' d)であるかにかかわらず、それらのジアルキル化合物で汚染されたものとなる。スキームは、サフィナミドおよびラルフィナミドにそれら関連したジベンジル化不純物(I I c)と(I I d)の生成を示す。

【0097】

【化9】



10

20

(VIIa): 3-F

(VIIb): 2-F

(IIc): 3-F

(IId): 2-F

【0098】

それぞれのR-エナンチオマー(I I' c)、(I I' d)およびそれらのラセミ混合物も同様に生成する。メタンスルホン酸が好ましいが、他の医薬的に許容される酸(例えば、硝酸、塩酸、臭化水素酸、硫酸、過塩素酸、リン酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、乳酸、シュウ酸、マロン酸、リンゴ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、ケイ皮酸、マンデル酸およびサリチル酸)も使用できる。

30

【0099】

モノアルキル化誘導体(サフィナミド、ラルフィナミド、それらのR-エナンチオマー、およびそれらのラセミ混合物)とこれに対応するジアルキル化不純物は、同様な化学的・物理的性質を持つため、サフィナミドおよびラルフィナミドを従来の方法で精製するのは難しい。

【0100】

40

さらに、既知のベンジル化方法、その中でもフルオロベンジル化には、さらに以下の欠点がある。

【0101】

1) 溶媒として低級アルコールを使用すること；塩基性条件下では、この溶媒(例えばメタノール)はこれ自体が求核試薬として作用し、3-または2-フルオロベンジルクロリドと共に一定量のメチルフルオロベンジルエーテルを生じる可能性がある；

2) アルコール性反応溶媒を反応混合物から除去した後にしか最終生成物を水非混和性有機溶媒で抽出することができないこと。

【0102】

上記従来技術の方法を使用することにより、不純物(I I a)、(I I b)、(I I' a)、(I I' b)を除去する。

50

a)、(II'I'b)、またはそれぞれのラセミ混合物(II'a、II'I'a)または(II'b、II'I'b)の含量が0.03% (重量)未満である式(IVa)、(IVb)、(I'a)、(I'b)、またはそれぞれのラセミ混合物(IVa、IVb)または(IVb、I'b)の最終生成物を得るために、中間体4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVa)または4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)を徹底的に精製して式(VIa)および(VIb)のそれぞれの不純物含量を低減する必要があることが今回判明した。

## 【0103】

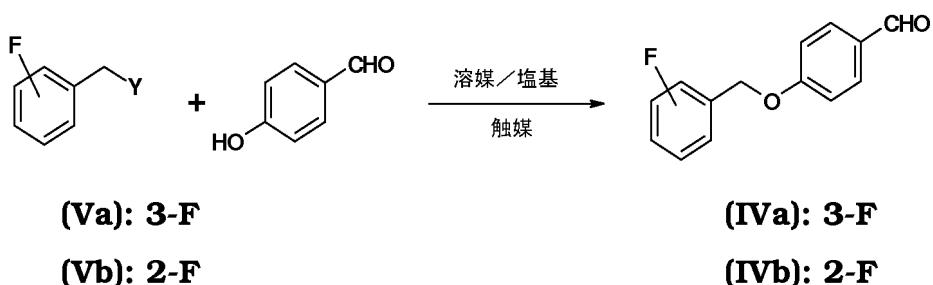
前記精製は反応生成物を結晶化することにより実施すること好ましく、粗化合物(IVa)又は(IVb)の不活性有機溶媒溶液に混和性不活性有機非溶媒を加えることにより実施することがより好ましい。不活性有機溶媒は芳香族炭化水素から選択することが好ましく、トルエンがより好ましい。混和性不活性有機非溶媒は低級脂肪族炭化水素から選択することが好ましく、n-ヘキサンがより好ましい。別の結晶化法としては、上記化合物(IVa)又は(IVb)を高温溶媒(例えば還流下のシクロヘキサン又はジ(C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>)アルキルエーテル、例えばジイソプロピルエーテル)に溶かした後、溶液を室温、好ましくは10~15℃に冷却する方法が挙げられ、純化合物(IVa)又は(IVb)の純結晶を加えることにより結晶化を誘導することが最も好ましい。

## 【0104】

本発明の1つの態様に従って、式(Va)または(Vb)のアルキル化剤(以下のスキームを参照、スキーム中、F原子は、2位または3位にあり、Yは脱離基(例えば、C<sub>1</sub>、Br、I、OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、OSO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-p-CH<sub>3</sub>など)である。)と4-ヒドロキシベンズアルデヒドとの反応を相間移動条件下で行うことにより、Schiff塩基中間体の調製に必要な4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド出発物質が得られる。この条件下、対応する4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドが、好ましくは結晶化後、高収率であると同時に非常に低いC、O-ビス-アルキル化不純物濃度で得られる。

## 【0105】

## 【化10】



## 【0106】

相間移動条件下の4-ヒドロキシベンズアルデヒドのこの新規フルオロベンジル化は、試薬と相間移動触媒を有機液相に溶かし、固相を無機塩基又は(場合により4-ヒドロキシ-ベンズアルデヒドと無機塩基自体からin situ生成された)4-ヒドロキシベンズアルデヒド塩から構成した固/液系と、無機塩基を水相に溶かした液/有機液/水系のいずれでも実施することができる。

## 【0107】

好ましい系は固/液系であり、無機塩基はNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、KOH、およびNaOHから選択することが好ましい。

## 【0108】

反応で使用される有機溶媒は液/液系及び固/液系のいずれの場合もジアルキルエーテル(例えばジ-tert-ブチルエーテル、エチル-tert-ブチルエーテル)又は芳香族炭化水素(例えばトルエン、エチルベンゼン、イソプロピルベンゼン及びキシレン)

とすることができる。これらの全溶媒は蒸留により容易に回収することができる。

【0109】

利用する相間移動触媒は第4級アンモニウム又はホスホニウム塩とすることができる、例えばテトラブチルアンモニウムプロミド、テトラデシルトリメチルアンモニウムプロミド、ヘキサデシルトリブチルホスホニウムプロミド、トリカプリルメチルアンモニウムクロリド(Aliquat)、メチルトリアルキル( C<sub>8</sub> - C<sub>10</sub> )アンモニウムクロリド(Adogen)が挙げられ、テトラデシルトリメチルアンモニウムプロミドが好ましい。

【0110】

例えばPEG-200(CAS25322-68-3)又はPEG-400(CAS25322-68-3)等の低分子量ポリエチレングリコールも相間移動触媒として使用することができる。

10

【0111】

相間移動触媒の使用量は4-ヒドロキシベンズアルデヒド1モル当たり0.02~1モル、好ましくは4-ヒドロキシベンズアルデヒド1モル当たり0.1~1モルであり、これらの条件下ではC<sub>10</sub>-ビス-フルオロベンジル化不純物の量を0.3%未満、好ましくは0.01重量%以下にすることができる。

【0112】

式(V)のアルキル化剤と4-ヒドロキシベンズアルデヒドの比は0.6~1.5であり、0.9~1.1が好ましい。

20

【0113】

反応温度は60~160であり、80~120が好ましい。

【0114】

反応時間は一般に4~8時間とする。

【0115】

反応収率は非常に高く、一般に90%を上回る。

【0116】

上記反応条件下で反応生産性即ち反応混合物中の反応生成物の濃度は非常に高く、一般に25(重量/容量)%以上である。

【0117】

4-(3-または2-ベンジルオキシ)ベンズアルデヒドとL-アラニンアミドまたはD-アラニンアミドまたはこれらのラセミ混合物およびこれらの塩との反応により形成されたSCHIFF塩基の還元による、サフィナミドおよびラルフィナミド、これらのR-エナンチオマー、およびそれぞれのラセミ混合物の合成

30

本発明の目的であるこの方法は、以下の2工程を含む：

a) Schiff塩基中間体の完全な形成

b) 水素化ホウ素ナトリウムおよび水素化ホウ素カリウムから選択される還元剤によるSchiff塩基の還元

この2工程は、Schiff塩基の単離を行う行わないのいずれでも、同一反応器中で連続して実行することができ(ワンポット反応)、いずれの場合も高収率である。

【0118】

40

Schiff塩基中間体の形成は、4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドとL-アラニンアミド、D-アラニンアミド、またはこれらのラセミ混合物、またはこれらの酸との塩、好ましくは無機酸(塩酸、臭化水素酸、硫酸、メタンスルホン酸など)との塩(「アラニンアミド化合物」)との縮合を含む。アラニンアミドのL-またはD-エナンチオマーの代わりにラセミ体を用いると、4-(3-または2-ベンジルオキシ)ベンジルアミノプロパンアミドのラセミ混合物が得られる。

【0119】

Schiff塩基を単離する場合、この形成に適用される実験条件は、高収率であると同時に高純度である析出物の形でSchiff塩基を単離して得ることを可能にするものである。

50

## 【0120】

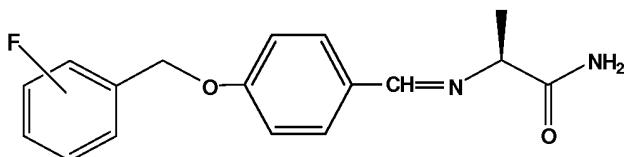
Schiff塩基の調製は、有機プロトン性溶媒中で適切に行われるが、有機プロトン性溶媒は、試薬および生成物に対して不活性でなければならず、イミン二重結合の還元条件にも不活性でなければならない。同じ反応媒体中で連続して還元工程を行うことが望ましい場合、適した溶媒とは、例えば、(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)低級アルカノール、好ましくはメタノール、エタノール、およびイソプロパノールである。

## 【0121】

Schiff塩基中間体の形成は完了させなければならず、これはその後の還元工程で高収率を達成することに関連した要因である。本発明のプロセスを行う方法に従って、4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドとL-アラニンアミド、D-アラニンアミド、またはこのラセミ混合物との縮合反応から得られるSchiff塩基中間体(IICIa)または(IICIb)

## 【0122】

## 【化11】



(IIIa):3-F

(IIIb):2-F

10

20

## 【0123】

それぞれのR-エナンチオマー(IICI'a)または(IICI'b)、またはそれぞれのラセミ混合物を単離し、それからイミン二重結合の還元を実施する。

## 【0124】

または、イミノ化合物中間体(IICIa)、(IICIb)、それぞれのR-エナンチオマー(IICI'a)または(IICI'b)、またはそれぞれのラセミ混合物(IICIa、IICI'a)または(IICIb、IICI'b)の反応溶媒への析出を起こさせ、それから上記イミノ誘導体中間体を含有する懸濁液を還元工程にかけるような条件下で操作することにより、イミノアルキル化反応を完了することもできる。

30

## 【0125】

L-アラニンアミド、D-アラニンアミド、またはこれらのラセミ混合物(塩基または塩)と4-(3-または2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドの比は、1:1が可能であるが、有利には、アラニンアミド化合物を10%過剰にすることも可能である。

## 【0126】

アラニンアミド化合物は、遊離の塩基として、またはこの酸付加塩としてのいずれで導入されてもよい。好ましくは、アラニンアミド化合物は塩として、より好ましくは塩酸塩として、化学量論的量の塩基、好ましくは第三級アミン(例えばトリエチルアミン、またはジイソプロピルエチルアミンなど)と共に反応混合物に導入される。

40

## 【0127】

Schiff塩基の調製における反応温度は、0から60、好ましくは20から30の間である。

## 【0128】

反応時間は、通常1時間から15時間、好ましくは2時間から6時間の間である。

## 【0129】

ある条件下、D-またはL-アラニンアミドを遊離塩基として用い、イミノアルキル化反応時間が8時間を超える場合、得られるSchiff塩基は、キラル中心でラセミ化を起こす可能性がある。このことは、Schiff塩基がイミノアルキル化反応中に結晶化

50

しない場合には特にそうである。

【0130】

Schiff 塩基を、水素化ホウ素ナトリウムおよび水素化ホウ素カリウムから選択される還元剤で還元するのは、Schiff 塩基形成が完了してからのみである：完了前に還元を開始すると、二次反応が深刻になり、ときには優勢となって、収率および純度が低下する。こうした二次反応の1つで、より深刻なものは、選択の（フルオロベンジルオキシ）ベンズアルデヒドのカルボニル基の還元によるベンジルアルコールの形成を引き起す。

【0131】

Schiff 塩基形成は、当分野で既知の分析方法により、例えば母液のGC定量分析により、完了まで制御下に置くことができる。

【0132】

Schiff 塩基の還元は、本発明の方法の中で最も重要な工程であり、この実施は幾つかの特定条件を必要とする。

【0133】

水素化ホウ素ナトリウムまたは水素化ホウ素カリウム還元剤は、Schiff 塩基に対して0.5から1.4の範囲の分子量で用いられる。

【0134】

水素化ホウ素ナトリウムは、この商業的利用可能性とコストを考えると用いるのに好ましい。反応は通常溶媒中で行われるが、この溶媒は、アラニンアミドとの縮合反応が完了した後にSchiff 塩基が懸濁液の形で存在する溶媒と同じものが可能である。このような場合、(C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub>)低級アルカノール（メタノール、エタノール、1-プロパノール、および2-プロパノールなど、好ましくはメタノール）が、反応溶媒として、通常用いられる。または、反応媒体からSchiff 塩基を単離する場合（例えば濾過または遠心分離により）、単離したSchiff 塩基生成物を、場合により水少量（好ましくは、有機溶媒の量に対して1.5重量%未満）を含む所定量の有機溶媒、好ましくはプロトン性有機溶媒、例えば低級(C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub>)アルカノール、好ましくはメタノールなど、またはプロトン性有機溶媒の混合物に加える。

【0135】

4 - (3 - または 2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドとアラニンアミド化合物との縮合反応を、後者を酸との塩として反応混合物に導入することにより行う場合は、pH値を7から9の間に調整するために塩基（水酸化ナトリウムもしくは水酸化カリウム、第三級(C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>)アルキルアミン、ピロリジン、4-メチルモルホリンなど）を適量加える。イミノアルキル化反応の終了時に反応混合物のpH値がこの範囲より下がつてしまっていたら、水素化ホウ素ナトリウムまたは水素化ホウ素カリウム還元剤のどのような添加も行う前にpHをこの値に戻すために、Schiff 塩基を含有する反応混合物にこれら塩基をさらに適量加える。

【0136】

水素化ホウ素ナトリウムまたは水素化ホウ素カリウム還元剤は、通常、反応過程の間制御された条件下、固体（粉末または微細結晶など）のものを何回かに小分けして（通常は15から20回に分けて）Schiff 塩基と反応溶媒の混合物に加える。

【0137】

または、水素化ホウ素ナトリウムまたは水素化ホウ素カリウムは、水酸化ナトリウム（通常、水素化ホウ素ナトリウムに対して水酸化ナトリウム約15重量%）または水酸化カリウムを加えて安定化したメタノール溶液の形で、反応混合物に少しづつ、または滴下して加える。

【0138】

Schiff 塩基還元を行う好適な方法に従って、水素化ホウ素ナトリウムまたは水素化ホウ素カリウムの安定メタノール溶液を、Schiff 塩基および所定量の反応溶媒、好ましくはメタノールを含有する反応混合物に、15から25回に分けて加えるか、1か

10

20

30

40

50

ら2時間かけて滴下する。

【0139】

選択した溶媒に飽和するまで溶解しているS chiff塩基と固形のS chiff塩基の両方が同時に存在し、溶媒相外のS chiff塩基の量が最大になるような溶媒対S chiff塩基の比である条件下で還元工程を行うために、用いる溶媒の量は、適切に選択しなければならない。

【0140】

従って、還元工程で用いられる有機溶媒の合計量は、S chiff塩基1モルあたり0.5Lから3.0L、好ましくは0.7Lから2.5L、より好ましくは0.8Lから2.0Lの範囲が可能である。このような条件下、還元工程が進行している反応媒体中に存在するS chiff塩基の相当部分は、反応過程の実質的な部分において、固形である。このような条件下、最終生成物の生産性は非常に高く、このことは工業規模の生産において経済的に好影響を及ぼす。

【0141】

還元工程にかけられる反応混合物のpHは、アルデヒドとアラニンアミド(alanine amide)誘導体との縮合にアラニンアミドの塩が用いられた場合、必要であれば、塩基(水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウム、第三級(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキルアミン、ピロリジン、4-メチルモルホリンなど)を適切な量で加えることにより、7から9、好ましくは8から8.5の間の値に調整される(pHメーターを用いて直接反応混合物で測定する。)。

【0142】

還元工程中の反応温度は、-10から30、好ましくは5から15の間に維持される。

【0143】

還元時間は、用いる溶媒、温度、濃度などによって、0.5から5時間と変えることができる。全ての要因は、当業者に周知である。

【0144】

還元剤として水素化ホウ素ナトリウムを用い、溶媒としてメタノールをS chiff塩基1モルあたり0.8Lから2.0Lの割合で用い、5から10の間の温度で、約3時間反応を行うと最適な結果が得られる。

【0145】

反応が終了したら、反応溶媒を減圧下で蒸留し、残渣を水非混和性有機溶媒に溶解して、水で洗うことにより無機塩を除去する。

【0146】

反応生成物が溶解している有機溶媒を蒸留して除去することにより、最終的な粗生成物、即ちサフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー、またはそれらのラセミ混合物を回収する。

【0147】

それから、粗サフィナミド、ラルフィナミド、それぞれのR-エナンチオマー、またはそれらのラセミ混合物を、結晶化により精製する。結晶化は、式(Ia)、(Ib)、(I'a)、(I'b)、(Ia、I'a)、または(Ib、I'b)の粗化合物それぞれを不活性有機溶媒に溶解した溶液に、混和性不活性有機非溶媒を加えることにより行うことができる。有機不活性溶媒は、好ましくは芳香族炭化水素(ベンゼン、トルエン、ジメチルベンゼン、およびエチルベンゼンなど)および酢酸低級アルキルエステルから選択され、より好ましくは、酢酸エチルである。混和性不活性有機非溶媒は、好ましくは低級脂肪族炭化水素(ヘキサンおよびヘプタンなど)およびシクロヘキサンから選択され、より好ましくはn-ヘキサンである。

【0148】

または、結晶化は、最終的な粗生成物を熱有機溶媒(好ましくはトルエンまたはシクロヘキサン)に溶解し、それから溶液を室温に冷却して、純粋な生成物を濾過して回収する

10

20

30

40

50

ことにより行う。

【0149】

次に公知方法により塩基を所望塩に変換し、特に医薬用医薬製剤へのその後の製剤化に適した物理的／化学的性質（安定性、粒度、流動性等）をもつメタンスルホン酸塩に変換する。

【実施例】

【0150】

（実施例1）

相間移動触媒反応による精製4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の調製

2-フルオロベンジルクロリド(6.0 kg, 41.50 mol)と4-ヒドロキシベンズアルデヒド(4.7 kg, 38.33 mol)と炭酸カリウム(5.2 kg, 37.33 mol)とテトラデシルトリメチルアンモニウムプロミド(0.49 kg, 1.46 mol)をトルエン(11.4 kg)に加えた混合物を窒素下で攪拌しながら還流温度までゆっくりと加熱し、6時間還流する。

【0151】

次に溶液を室圧で濃縮し、トルエン3.6 kgを加えて留去し、この手順をもう一度繰り返す。

【0152】

次に不均一混合物を室温まで冷却し、固形分を濾別する。次に残留溶媒を減圧除去し、油性残渣にトルエン1.4 kgを加える。混合物を約30～35まで加熱し、純4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド数グラムをシード添加する。

【0153】

不均一混合物を30～35で30分間攪拌した後、この温度で30分間n-ヘキサン(11 kg)を加える。

【0154】

0～5まで冷却し、この温度で更に1時間攪拌後、固形分を濾取し、減圧乾燥し、m.p. 56.7(DSC, 5 /分)の4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド8.0 kg(89%収率)を得る。

【0155】

m.p. 56.7(DSC, 5 /分)、GC純度98.2(面積%，実施例24A参照)及びGC(実施例24B参照)により測定した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIb)含量が0.01重量%の4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド66.8 g(90%)が得られる。

【0156】

(\*)本実施例および以下の実施例で報告する収率は特に指定しない限り、モル収率である。

【0157】

1.1 結晶化による4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)のさらなる精製

実施例1に記載の手順に従って調製した生成物1 kgを、還流下攪拌しながら、ジイソプロピルエーテル2 kgに溶解する。

【0158】

溶液を10から15分間で50から55まで冷却し、高純度4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド5 g(GC純度99.9面積%；実施例24Aを参照、(VIb)含量は0.005%未満)を種結晶として添加する。

【0159】

懸濁液を45～60分間で10～15まで冷却し、更に1時間攪拌する。

【0160】

10

20

30

40

50

最後に沈殿を濾取し、冷ジイソプロピルエーテル(0.2Kg)で洗浄し、減圧乾燥し、GC純度99.8(面積%，実施例24A参照)及び実施例24Bに従ってGCにより測定した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIb)含量が0.005重量%の4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド0.93kgを得る。

## 【0161】

1.2 各種触媒を用いた相間移動触媒反応(PTC)による4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の調製

3種類の異なる相間移動触媒を用いた以外は実施例1と同一手順に従い、4-ヒドロキシベンズアルデヒド(0.39g)を2-フルオロベンジルクロリドでアルキル化することにより、4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを調製する。

## 【0162】

結果を以下の表5にまとめる。

## 【0163】

## 【表5】

実験番号	相間移動触媒 PCT	% (VIb) **	% 収率
1.2(a)	テトラブチルホスホニウムブロミド		
		0.02	85.0
1.2(b)	Aliquat 336*		
		0.04***	88.8
1.2(c)	PEG 400		
		0.16***	96.0

\* Aliquat 336: トリカプリルメチルアンモニウムクロリド

\*\* % (VIb): 3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドの含量(GC:重量%)実施例24B。

\*\*\* 生成物を実施例1.1の手順に従ってさらに精製して、不純物(VIb)の含量を0.03重量%未満に減らしてもよい(実施例24Bを参照)。

## 【0164】

1.3 キシレン中の相間移動触媒反応(PTC)による4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の調製

トルエンの代わりにキシレンを溶媒として使用した以外は実施例1と同一手順に従って4-ヒドロキシベンズアルデヒド(4.7g)を2-フルオロベンジルクロリドと反応させることにより、GC(実施例24B参照)により測定した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド含量が0.02重量%の4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを87.2%収率で製造する。

## 【0165】

1.4 水酸化カリウムを塩基として用いた相間移動触媒反応による4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の調製

炭酸カリウムの代わりに水酸化カリウム(108.6g)を使用した以外は実施例1と同一手順に従って4-ヒドロキシベンズアルデヒド(121g)を2-フルオロベンジルクロリドと反応させることにより、GC(実施例24B参照)により測定した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド含量が0.49重量%の4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを88%収率で製造する。

## 【0166】

この生成物を実施例1.1に従って結晶化によりさらに精製し、不純物(VIb)の含

10

20

30

40

50

量を0.03重量%未満に減らす(実施例24Bを参照)。

【0167】

1.5 2-フルオロベンジルプロミドを用いた相間移動触媒反応による4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の調製

実施例1と同一手順に従って4-ヒドロキシベンズアルデヒド(161g)を2-フルオロベンジルクロリドの代わりに2-フルオロベンジルプロミドと反応させることにより、GC(実施例24B参照)により測定した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIb)含量が0.06重量%の4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを89.2%収率で製造する。

【0168】

この生成物を実施例1.1に従って結晶化によりさらに精製し、不純物(VIb)の含量を0.03重量%未満に減らす(実施例24Bを参照)。

【0169】

1.6 イソプロパノール中での4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の調製

反応器に、イソプロパノール(206kg)、炭酸カリウム(29.4kg、0.21kmol)、ヨウ化カリウム(11.4kg、0.068kmol)、および4-ヒドロキシベンズアルデヒド(26kg、0.21kmol)を投入する。混合物を、20から25で15分間攪拌する。次に、2-フルオロベンジルクロリド(33kg、0.23kmol)を加える。混合物を加熱して3時間還流攪拌する。

【0170】

溶媒を減圧除去して残量701にする。

【0171】

シクロヘキサン(70kg)および水(95kg)を加え、混合物を50に加熱し、この温度で30分間攪拌する。攪拌を止めて相を分離させる。

【0172】

有機相を50で水(48kg)で洗う。分離した有機相を減圧濃縮して残量601にする。

【0173】

不均一混合物を約2時間で20に冷却し、この温度で30分間攪拌する。

【0174】

混合物を遠心分離して、固体をシクロヘキサンで洗う。

【0175】

濡れている固体を減圧下で乾燥させて、標記生成物を得る: 40.2kg(0.18kmol); 収率82%、GC純度99.87(面積%、実施例24Aを参照)、および実施例24Bに従ってGCにより測定した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIb)含量0.063重量%。

【0176】

この生成物を実施例1.1に従って結晶化によりさらに精製し、不純物(VIb)の含量を0.03重量%未満に減らす(実施例24Bを参照)。

【0177】

1.7 エタノール中での4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の調製

反応器に、4-ヒドロキシベンズアルデヒド(30.3g、248mmol)、エタノール(400mL)、2-フルオロベンジルクロリド(28.92g; 198mmol)、炭酸カリウム(103.8g、751mmol)、ヨウ化ナトリウム(1.34g、0.05mmol)を投入する。窒素雰囲気下、混合物を加熱して還流攪拌し、この状態を5時間維持する。

【0178】

混合物を室温まで冷却し、酢酸エチルで抽出して2Mの水酸化ナトリウム水溶液で洗う

10

20

30

40

50

(3 x 300 mL)。

【0179】

溶媒を減圧でエバポレートし、標記化合物を、黄色油状物(40.75g)として得る。この生成物はGC純度91.77(面積%、実施例24Aを参照)および実施例24Bに従って測定した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIb)含量0.346重量%を有する。

【0180】

この生成物を実施例1.1に従って結晶化によりさらに精製し、不純物(VIb)の含量を0.03重量%未満に減らす(実施例24Bを参照)。

【0181】

(実施例2)

高純度(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ib)の調製(ワンポット反応)

a) 反応器にメタノール(25L)およびL-アラニンアミド塩酸塩(2.0kg)を攪拌しながら仕込み、混合物を23で15分間攪拌する(pH値3.8)。次に、トリエチルアミン(1.65kg)および実施例1.1に従って調製した4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(3.32kg)を、先に調製してpH値を8.3に調整した溶液に加える。混合物を25で3時間攪拌し(不均一混合物のpHは8)、攪拌しながら8に冷却する。水素化ホウ素ナトリウム(0.53kg)を20回に小分けして攪拌しながら3時間で混合物に加え、さらに30分攪拌を続ける。反応混合物を40

で減圧濃縮して残渣(5.2L)を得る。窒素雰囲気下攪拌しながら、トルエン(13.9kg)および水(23.0L)を反応混合物に加える。混合物を60まで加熱し、攪拌しながら30分間この温度に保つ。相を分離した後、60で、有機相を水(6.4L)で洗い、この水は廃棄する。有機相を2時間で18に冷却し、この状態を1時間維持する。

【0182】

不均一混合物を濾過し、固体をトルエン(3x1.0L)で洗い、減圧下約40で乾燥させて、(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(ラルフィナミド、Ib)3.96Kgを得る:実施例25Aの方法に従って測定したHPLC純度99.4(面積%)、および実施例25Bの方法に従ってHPLCにより測定したC,O-ジアルキル化(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド含量0.005重量%未満。

【0183】

b) 水素化ホウ素ナトリウムを、メタノール(水素化ホウ素ナトリウム1グラムあたりメタノール約5.8g)と30%水酸化ナトリウム(水素化ホウ素ナトリウム1グラムあたり30%水酸化ナトリウム約0.5g)の混合物にあらかじめ溶解し、温度を8に保ちながら約30分でSchiff塩基混合物に滴下することを除いては、上記と同一条件下で反応を行う。

【0184】

得られる生成物は、実施例25Aに従って測定したHPLC純度が99.5%であり、実施例25Bに従ってHPLCにより測定したC,O-ジアルキル化不純物含量が0.005重量%未満である。

【0185】

c) 室温で攪拌しながら、無水トリエチルアミン(19.8kg、0.20kmol)をメタノール(275L)とL-アラニンアミド塩酸塩(24.4kg、0.20kmol)の混合物に加える。

【0186】

この混合物に、実施例1.6で調製した4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(40.0kg、0.17kmol)を約20分で加え、反応混合物を25で

10

20

30

40

50

3時間攪拌し、それからすぐ温度を8に下げる(混合物A)。

【0187】

第二の反応器に、メタノール(501)および水酸化ナトリウム30%水溶液(3.2kg)を入れて0から5で混合する。この混合物に、0から5で、水素化ホウ素ナトリウム粉末(6.6kg, 0.17kmol)を小分けして加える。窒素下、混合物を0から5で2時間攪拌する(混合物B)。

【0188】

窒素下攪拌しながら、温度を8に保ちながら約4時間で、上記反応混合物Aに混合物Bを加える。

【0189】

反応混合物を減圧濃縮して残量701にする。窒素下攪拌しながら、残渣にトルエン(170kg)および水(280kg)を加え、混合物を60から65に加熱する。

【0190】

有機相を分離して水(70kg)を加え、2相混合物を60から65で攪拌する。

【0191】

有機相を分離して、徐々に20まで冷却する。

【0192】

混合物を遠心分離して、固体をトルエンで洗い、減圧下乾燥後、標記生成物を得る(48.4Kg, 0.16kmol)、収率:92%。

【0193】

生成物のHPLC純度は99.87(面積%、実施例25Aを参照)であり、C, O-ジアルキル化(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド含量は、0.005重量%未満である(実施例25Bを参照); m.p. 109.5(キャピラリー)。

【0194】

キラルHPLCカラムで測定したラルフィナミドのエナンチオマー組成はS-エナンチオマー100%(面積%、実施例26Aを参照)である。

【0195】

(実施例3)

高純度(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(1d)の調製

実施例2aに記載したように製造するラルフィナミド(2.8kg, 9.26mol)を2-イソプロパノール(19.5kg)に溶かし、不活性雰囲気下で攪拌下に65~70に維持する。

【0196】

活性炭(150g)処理と濾過後に、溶液に純ラルフィナミドメタンスルホン酸塩をシード添加し、50~55の温度で攪拌下にメタンスルホン酸(900g, 9.36mol)を30分間加える。次に懸濁液を2時間で15~20まで冷却し、攪拌を更に1時間続ける。最後に固体分を濾取し、減圧乾燥し、ラルフィナミドメタンスルホン酸塩3.46kg(94.0%収率)を得る。

【0197】

得られた生成物のHPLC純度は99.7(面積%、実施例25A参照)であり、C, O-ジアルキル化(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量は0.005重量%(実施例25B参照)であり、DSC(5/分)によるm.p. 240.9である。

【0198】

キラルHPLCカラムで測定したラルフィナミドメタンスルホン酸塩のエナンチオマー純度は99.9(面積%、実施例26A参照)である。

【0199】

10

20

30

40

50

b) 実施例 2 b) に記載した通りに調製したラルフィナミド (2.8 kg、9.26 mol) を、上記の手順によりこのメタンスルホン酸塩に変換する。収率は 95.8 % である。

【0200】

得られる生成物の HPLC 純度は 99.6 (面積%、実施例 25 A を参照) であり、C, O-ジアルキル化 (S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量は 0.005 重量% 未満 (実施例 25 B を参照) である; DSC (5 / 分) による m.p. 240.6。

【0201】

キラル HPLC カラムで測定したラルフィナミドメタンスルホン酸塩のエナンチオマー純度は 99.8 超 (面積%、実施例 26 A 参照) である。

【0202】

c) 2-プロパノール (385 kg) と実施例 2 c) で調製した (S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ] プロパンアミド (ラルフィナミド、4.8.1 kg、0.16 kmol) の混合物を、攪拌しながら 60 に加熱し、透明な溶液となるまでこの状態を維持する。

【0203】

60 で、溶液に無水メタンスルホン酸をゆっくりと加える。

【0204】

不均一混合物を 20 に冷却し、この温度で 2 時間攪拌する。

【0205】

混合物を遠心分離し、固体を 2-プロパノールで洗い、減圧下乾燥させて、標記生成物 61 kg (0.15 kmol) を得る; 収率 96%; HPLC 純度 99.83 (面積%、実施例 25 A を参照) を有し C, O-ジアルキル化 (S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩を 0.005 重量% 未満 (実施例 25 B を参照) 含む; m.p. 237 (キャピラリー)。

【0206】

キラル HPLC カラムで測定したラルフィナミドメタンスルホン酸塩のエナンチオマー組成は S-エナンチオマー 100% (面積%、実施例 26 A 参照) である。

【0207】

(実施例 4)

L-アラニンアミド塩基を用いた高純度 (R, S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (I d、I'd) の調製 (ワンポット反応)

a) (R, S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ] プロパンアミド (I b、I'b)

ナトリウムメチラート等モル量を L-アラニンアミド塩酸塩 (30 g) のエタノール (351 mL) 溶液に加えて L-アラニンアミド遊離塩基を調製する。窒素下室温で、混合物を 30 分間攪拌する。固体を濾過し、溶媒を減圧下完全に除去して L-アラニンアミド 21.1 g を得る。

【0208】

丸底フラスコ中、L-アラニンアミド 21.1 g をメタノール 320 g (約 405 mL) に溶解する。

【0209】

20 で約 15 分後、実施例 1.1 に従って調製した 4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンズアルデヒド 48.8 g を加え、混合物を室温で 20 時間攪拌する。

【0210】

混合物を 8 ± 2 に冷却し、温度を 8 ± 2 に維持しながら、混合物に固体の NaBH

10

20

40

50

<sup>4</sup> 8 g を小分けして加える。

【0211】

反応混合物を少なくとも 12 時間攪拌し、それから最小量まで濃縮する。

【0212】

トルエン (248 mL) および水 (355 mL) を加え、二相混合物を 70 °C で攪拌し、それから有機層を分離する。

【0213】

70 °C で、有機溶液を水 (70 mL) で洗い、それから室温に冷却して懸濁液を得る。懸濁液をろ過してトルエンで洗う。

【0214】

固体を減圧下 40 °C で乾燥させ、標記生成物 47.7 g (収率 74.4%) を白色粉末として得る。

【0215】

得られる生成物の HPLC 純度は 95.85 (面積%、実施例 25A を参照) であり C, O-ジアルキル化 (S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ] プロパンアミド含量は 0.005 重量% 未満 (実施例 25B を参照) である。

【0216】

キラル HPLC カラムで測定したラルフィナミドの R/S エナンチオマー比は、52.5 / 47.5 (面積%、実施例 26A を参照) である。

【0217】

イミノアルキル化反応過程をさらに続ける (control) と、この工程中にラセミ化が生じることがわかる。

【0218】

b) (R, S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (I'd, I'd')

丸底フラスコに、2-プロパノール 129.5 g および工程 a) の生成物 16.5 g を入れて、完全に溶解するまで攪拌しながら 70 ± 3 °C に加熱する。

【0219】

温度を 70 ± 3 °C に保ちながら、メタンスルホン酸 5.2 g を滴下する。70 ± 3 °C で 30 分間攪拌した後、混合物をゆっくりと 20 ± 3 °C に冷却し、それから 1 時間攪拌する。

【0220】

生成物を濾過し、2-プロパノールで洗い、減圧下 40 °C で乾燥させて、標記生成物 19.4 g を白色粉末として得る。

【0221】

収率: 92% ; HPLC 純度 99.74 (面積%、実施例 25A を参照) を有し、C, O-ジアルキル化 (R, S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩を 0.005 重量% (実施例 25B を参照) 含む。こうして得られた (R, S) ラルフィナミドは、キラル HPLC カラムにより S : R = 53.8 : 47.0 (面積%、実施例 26A を参照) のエナンチオマー混合物であることがわかる。

【0222】

(実施例 5)

高純度 (R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (I'd) の調製 (ワンポット反応)

a) (R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ] プロパンアミド (I'b)

反応器にメタノール (28 L) および D-アラニンアミド塩酸塩 (2.1 kg) を攪拌しながら仕込み、混合物を 23 °C で 15 分間攪拌する。次に、トリエチルアミン (1.6

10

20

30

40

50

5 kg) および実施例 1.1 に従って調製した 4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(3.30 kg)を、先に調製した溶液に加える。混合物を 25 度で 3 時間攪拌し、攪拌しながら 8 度に冷却する。水素化ホウ素ナトリウム(0.50 kg)を小分けして 3 時間で攪拌しながら加え、混合物をさらに 30 分間攪拌する。反応混合物を 40 度減圧濃縮して残渣(5.0 L)を得て、それから窒素下攪拌しながら、トルエン(14 kg)および水(25.0 L)を反応混合物に加える。混合物を 60 度まで加熱し、攪拌しながら 30 分間この温度に保つ。相を分離した後、60 度で、有機相を水(7.0 L)で洗い、この水は廃棄する。有機相を 2 時間で 18 度に冷却し、この状態を 1 時間維持する。

## 【0223】

10

不均一混合物を濾過し、固体をトルエン(3 × 1.2 L)で洗い、減圧下約 40 度で乾燥させて、(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'b)3.90 Kgを得る：実施例 25 A の方法に従って測定した HPLC 純度 99.9(面積%)、および実施例 25 B の方法に従って HPLC により測定した C, O-ジアルキル化(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド含量 0.005 重量%未満。

## 【0224】

b) (R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(I'd)

上記実施例 5 a) に従って得られたラルフィナミド R-エナンチオマーを実施例 3 a と同一の手順に従ってメタンスルホン酸塩に変換する。

20

## 【0225】

得られる生成物の HPLC 純度は 99.9(面積%、実施例 25 A を参照)であり、C, O-ジアルキル化(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量は 0.005 重量%未満(実施例 25 B を参照)である；DSC(5 / 分)による m.p. 241.0。

## 【0226】

キラル HPLC カラムで測定した(I'd)のエナンチオマー純度は 99.9 超(面積%、実施例 26 B を参照)である。

30

## 【0227】

(実施例 6)

Schiff 塩基中間体(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド(I'Ib)を単離する、高純度(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(I'd)の調製

a) (S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド(I'Ib)

実施例 1.1 の通りに調製した 4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(60.0 g、0.26 mol)、と L-アラニンアミド塩酸塩(35.7 g、0.29 mol)をメタノール(280 mL)に加えた懸濁液に、窒素雰囲気下攪拌しながら室温で、トリエチルアミン(29.1 g、0.29 mol)を加える。さらに 1 時間攪拌を続ける。

40

## 【0228】

溶液に(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド数 mg を種結晶として加え、温度を 5 から 10 度に下げる攪拌を 2 時間続ける。

## 【0229】

固体を濾過して集め、0 度でメタノールで洗う。

## 【0230】

50

減圧下で乾燥させて、標記化合物を収率90%で得る：m.p.122(キャピラリーアミド)。

【0231】

<sup>1</sup>H-NMR：(CDC1<sub>3</sub>, 300MHz, 298K) (TMSに対するppm) : 1.46(3H, d, J=7.0Hz, CH<sub>3</sub>) ; 3.91(1H, q, J=7.0Hz, CH-CO) ; 5.17(2H, s, O-CH<sub>2</sub>) ; 7.02(2H, d, J=8.9Hz, O-CH<sub>2</sub>とオルトにある芳香族H) ; 7.09(1H, ddd, J<sub>H-F</sub>=9.78Hz, J<sub>ortho</sub>=8.55Hz, J<sub>meta</sub>=1.23Hz, Fとオルトにある芳香族H) ; 7.15(1H, dt, J<sub>ortho</sub>=7.35Hz, J<sub>meta</sub>=1.23Hz, Fとパラにある芳香族H) ; 7.27-7.40(1H, m, CH<sub>2</sub>とパラにある芳香族H) ; 7.48(1H, dt, J<sub>ortho</sub>=J<sub>H-F</sub>=7.35Hz, J<sub>meta</sub>=1.53Hz, CH<sub>2</sub>とオルトにある芳香族H) ; 7.71(2H, d, J=8.9Hz, CH=Nとオルトにある芳香族H) ; 8.17(1H, s, C=N)

<sup>13</sup>C-NMR：(CDC1<sub>3</sub>, 75.4MHz, 298K) (ppm) : 21.4(CH<sub>3</sub>) ; 63.8(OCH<sub>2</sub>) ; 68.4(H<sub>2</sub>NCOCH) ; 115.0(d, J<sub>C-F</sub>=22.4Hz, 芳香族CH) ; 115.5(d, J<sub>C-F</sub>=20.7Hz, 芳香族CH) ; 123.7(d, J<sub>C-F</sub>=14.4Hz, 第四級芳香族C) ; 124.5(bd, 芳香族CH) ; 129.0(第四級芳香族C) ; 129.8(bd, 芳香族CH) ; 130.1(bd, 2芳香族CH) ; 160.5(d, J<sub>C-F</sub>=246.4Hz, 第四級芳香族C) ; 161.1(芳香族C-O) ; 161.1(C=N) ; 176.9(CO NH<sub>2</sub>)

b) (S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ib)

【0232】

上記の通り調製した(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド(IICIb)(30g)とメタノール(180mL)の混合物を攪拌しながら2から5℃に冷却する。温度を5℃未満に保ちながら、調製した冷混合物に、水素化ホウ素ナトリウム(3.8g)を18回に分けて90分で少しづつ加える。それから混合物を5℃でさらに10分間攪拌する。反応混合物を減圧濃縮し、実施例2に記載される通りに後処理して、(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(ラルフィナミド、Ib)28.75g(収率95%)を得る：実施例25Aの方法に従って測定したHPLC純度99.5(面積%)、および実施例25Bの方法に従ってHPLCにより測定したC<sub>6</sub>O<sub>2</sub>ジアルキル化(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド含量0.005重量%未満。

【0233】

c) (S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic)

【0234】

上記実施例6b)に記載される通りに得られたラルフィナミドを、実施例3に記載される通りにメタンスルホン酸と反応させ、メタンスルホン酸塩(Ic)を収率95%で得る。

【0235】

得られる生成物のHPLC純度は99.9(面積%、実施例25Aを参照)であり、C<sub>6</sub>O<sub>2</sub>ジアルキル化(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量は0.005重量%未満(実施例25Bを参照)である；DSC(5/分)によるm.p.240.6。

【0236】

キラルHPLCカラムで測定したラルフィナミドメタンスルホン酸塩のエナンチオマー

純度は 99.9 超 (面積%、実施例 2 6 A を参照) である。

【0237】

(実施例 7)

Schiff 塩基中間体 (R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド (III'b) を単離する、高純度 (R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (I'd) の調製

a) (R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド (III'b)

実施例 1.1 の通りに調製した 4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (60.0 g、0.26 mol) と D-アラニンアミド塩酸塩 (35.7 g、0.29 mol) をメタノール (280 mL) に加えて懸濁液とし、窒素雰囲気下攪拌しながら室温で、これにトリエチルアミン (29.1 g、0.29 mol) を加える。さらに 1 時間攪拌を続ける。

【0238】

次に、溶液に、(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド数 mg を種結晶として加え、温度を 5 から 10 に下げて攪拌を 2 時間続ける。

【0239】

固体を濾過して集め、0 でメタノールで洗う。

20

【0240】

固体を減圧下で乾燥させて、標記化合物を収率 91% で得る ; m.p. 121 (キヤピラリー)。

【0241】

<sup>1</sup>H-NMR : (CDC13, 300 MHz, 298 K) (TMSに対する ppm) : 1.46 (3H, d, J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>) ; 3.91 (1H, q, J = 7.0 Hz, CH-CO) ; 5.17 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>) ; 7.02 (2H, d, J = 8.9 Hz, O-CH<sub>2</sub> とオルトにある芳香族H) ; 7.09 (1H, ddd, J<sub>H-F</sub> = 9, 7.8 Hz, J<sub>ortho</sub> = 8, 5.5 Hz, J<sub>meta</sub> = 1, 2.3 Hz, F とオルトにある芳香族H) ; 7.15 (1H, dt, J<sub>ortho</sub> = 7, 3.5 Hz, J<sub>meta</sub> = 1, 2.3 Hz, F とパラにある芳香族H) ; 7.27-7.40 (1H, m, CH<sub>2</sub> とパラにある芳香族H) ; 7.48 (1H, dt, J<sub>ortho</sub> = J<sub>H-F</sub> = 7, 3.5 Hz, J<sub>meta</sub> = 1, 5.3 Hz, CH<sub>2</sub> とオルトにある芳香族) ; 7.71 (2H, d, J = 8, 9 Hz, CH = N とオルトにある芳香族H) ; 8.17 (1H, s, C = N)

30

<sup>13</sup>C-NMR : (CDC13, 75.4 MHz, 298 K) (ppm) : 21.4 (CH<sub>3</sub>) ; 63.8 (OCH<sub>2</sub>) ; 68.4 (H<sub>2</sub>NCOCH) ; 115.0 (d, J<sub>C-F</sub> = 22.4 Hz, 芳香族CH) ; 115.5 (d, J<sub>C-F</sub> = 20.7 Hz, 芳香族CH) ; 123.7 (d, J<sub>C-F</sub> = 14.4 Hz, 第四級芳香族C) ; 124.5 (bd, 芳香族CH) ; 129.0 (第四級芳香族C) ; 129.8 (bd, 芳香族CH) ; 130.1 (bd, 2芳香族CH) ; 160.5 (d, J<sub>C-F</sub> = 246.4 Hz, 第四級芳香族C) ; 161.1 (芳香族C-O) ; 161.1 (C = N) ; 176.9 (CONH<sub>2</sub>)

40

【0242】

b) (R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド (I'd)

(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド (III'b) (30 g) とメタノール (180 mL) の混合物を攪拌しながら 2 から 5 に冷却する。温度を 5 未満に保ちながら、調製した冷混合物に、水素化ホウ素ナトリウム (3.8 g) を 20 回に小分けして 90 分で加える。それから混合物を 5 でさらに 10 分間攪拌する。反応混合物を減圧濃縮し、実施例 2 に記載される通りに後処理し

50

て、(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'b)28.44g(収率94%)を得る;実施例25Aの方法に従って測定したHPLC純度99.8(面積%)、および実施例25Bの方法に従ってHPLCにより測定したC,O-ジアルキル化(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド含量0.005重量%未満。

【0243】

c)(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(I'd)の調製

上記実施例7bに従って得られるラルフィナミドのR-エナンチオマーを、実施例3aに記載される通りにメタンスルホン酸と反応させ、メタンスルホン酸塩(I'd)を収率95%で得る。 10

【0244】

得られる生成物のHPLC純度は99.9(面積%、実施例25Aを参照)であり、C,O-ジアルキル化(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量は0.005重量%未満である(実施例25Bを参照);DSC(5/分)によるm.p.240.6。

【0245】

キラルHPLCカラムで測定したラルフィナミドメタンスルホン酸塩のエナンチオマー純度は99.8超(面積%、実施例26Bを参照)である。 20

【0246】

(実施例7A)

(R,S)2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(I'd、I'd)

a)250mLガラス反応器にメタノール(54mL)および(R,S)アラニンアミド塩酸塩(10.09g、82mmol)を仕込み、25で無水トリエチルアミン(11.36mL、96mmol)を滴下する。

【0247】

実施例1.6で調製した4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(15.99g、69mmol)を約10分で加え、混合物を25で12時間攪拌する(混合物A)。 30

【0248】

第二の反応器(50mL)中、メタノール(20mL)および水酸化ナトリウム30%水溶液(1.3g)を攪拌して混合し、温度を0.6に下げる。1で、溶液に、水素化ホウ素ナトリウム粉末(2.61g、69mmol)を少しづつ加える。窒素下1で、混合物を2時間攪拌する(混合物B)。

【0249】

窒素下攪拌して温度を10に保ちながら、上記の混合物Aに混合物Bを約30分で加える。 40

【0250】

反応混合物を10で30分間攪拌し、減圧濃縮して残量20mLにする。窒素下攪拌しながら、残渣にトルエン(70mL)および水(120mL)を加え、混合物を60から65に加熱する。

【0251】

有機相を分離して水(20mL)を加え、混合物を60から65で攪拌する。

【0252】

有機相を分離して約7まで徐々に冷却し、3時間この状態に保つ。

【0253】

混合物を濾過し、固体をトルエン(3×5mL)で洗って減圧下で乾燥させて、(R, 50

S ) 2 - [ 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミド ( 13 . 59 g ) を得る ; 収率 65.2 % 。

【 0254 】

生成物の HPLC 純度は 97.73 % ( 面積 % 、 実施例 25A を参照 ) であり、 C , O - ジアルキル化 ( R , S ) - 2 - [ 3 - ( 2 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) - ベンジルアミノ ] プロパンアミド含量は 0.020 重量 % ( 実施例 25B を参照 ) である。

【 0255 】

このようにして得られる ( R , S ) ラルフィナミドは、 キラル HPLC カラムにより S : R = 52.3 : 47.7 ( 面積 % 、 実施例 26A を参照 ) のエナンチオマー混合物であることがわかる。 10

【 0256 】

b ) 2 - プロパノール ( 102 mL ) と実施例 7a ) で調製した ( R , S ) - 2 - [ 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミド ( 10 g 、 33 mmol ) の混合物を攪拌しながら 70 ℃ に加熱し、 透明な溶液になるまでこの状態に保つ。

【 0257 】

60 ℃ で、 この溶液に、 無水メタンスルホン酸 ( 3.18 g ; 2.15 mL ) をゆっくりと加える。

【 0258 】

不均一混合物を 20 ℃ に冷却し、 この温度で 2 時間攪拌する。 20

【 0259 】

混合物を遠心分離し、 固体を 2 - プロパノールで洗って減圧下乾燥させて、 標記生成物 10.77 g を得る ;

収率 92 % ; HPLC 純度 99.50 ( 面積 % 、 実施例 25A を参照 ) を有し、 C , O - ジアルキル化 ( R , S ) - 2 - [ 3 - ( 2 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) - ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩を 0.009 重量 % ( 実施例 25B を参照 ) 含む。

【 0260 】

このようにして得られる ( R , S ) ラルフィナミドは、 キラル HPLC カラムにより S : R = 52.8 : 47.2 ( 面積 % 、 実施例 26A を参照 ) のエナンチオマー混合物であることがわかる。 30

【 0261 】

[ ] <sup>2.5</sup> D ( c 2 % 、 メタノール中 ) : 0.0473

【 0262 】

( 実施例 8 )

( S ) - 2 - [ 3 - ( 2 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) - ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩 ( II d ) の調製

a ) 3 - ( 2 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド ( VI b ) 40

5 L 丸底フラスコに、 4 - ヒドロキシベンズアルデヒド ( 293 g 、 2.407 mol ) 、 炭酸カリウム ( 315.85 g 、 2.287 mol ) 、 トルエン ( 900 mL ) 、 および 2 - フルオロベンジルクロリド ( 1392 g 、 9.628 mol ) を順番に加える。

【 0263 】

攪拌しながら、 反応混合物に水 ( 150 mL ) を加える。

【 0264 】

混合物を急速に加熱して還流させ、 この状態に 3 日間保つ。

【 0265 】

GC 分析により、 3 - ( 2 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド ( VI b ) が 3.2 重量 % ( 実施例 24B を参照 ) 存在することが明らかとなる。 50

## 【0266】

混合物を60℃に冷却し、攪拌しながら水(1000mL)を加える。相を分離させる。有機相をブライン(500mL)で洗う。それから溶媒を、それ以上溶媒が出てこなくなるまで、35℃で減圧(10mmHg)蒸留する。

## 【0267】

残渣を3mmHgで蒸留して180から220℃の画分を集め。蒸留残渣を冷却してCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>に溶解し、溶媒を減圧除去して残渣を得る。GC純度は89%であるが、原料のアルデヒドは0.5%である。

## 【0268】

ヘキサン：酢酸エチル=95:5を用いたシリカゲルクロマトグラフィーによりGC純度99%超(面積%)；GC条件は実施例24Bを参照)である生成物(15.7g)を得る。生成物のm.p.71℃(キャピラリー)。

## 【0269】

<sup>1</sup>H-NMR:(CDCI<sub>3</sub>, 300MHz, 298K)(TMSに対するppm): 4.06(2H, s, CH<sub>2</sub>) ; 5.23(2H, s, OCH<sub>2</sub>) ; 6.95-7.40(9H, m, 芳香族H) ; 7.67(1H, bd, J=0.9Hz, C=OおよびCH<sub>2</sub>とオルトにある芳香族H) ; 7.76(1H, dd, J<sub>1</sub>=2.1Hz, J<sub>2</sub>=8.3Hz, C=Oおよび芳香族CHとオルトにある芳香族H) ; 9.84(1H, s, CHO)。

## 【0270】

<sup>13</sup>C-NMR:(CDCI<sub>3</sub>, 75.4MHz, 298K)(ppm): 29.2(CH<sub>2</sub>) ; 64.1(OCH<sub>2</sub>) ; 111.4(芳香族CH) ; 115.4(d, J<sub>C-F</sub>=22.0Hz, 芳香族CH) ; 115.5(d, J<sub>C-F</sub>=21.1Hz, 芳香族CH) ; 123.3(d, J<sub>C-F</sub>=14.2Hz, 第四級芳香族C) ; 124.1(d, J<sub>C-F</sub>=2.6Hz, 芳香族CH) ; 124.5(d, J<sub>C-F</sub>=3.2Hz, 芳香族CH) ; 126.6(d, J<sub>C-F</sub>=15.5Hz, 第四級芳香族C) ; 128.2(d, J<sub>C-F</sub>=8.1Hz, 芳香族CH) ; 129.6(d, J<sub>C-F</sub>=6.2Hz, 芳香族CH) ; 129.6(第四級芳香族C) ; 130.0(第四級芳香族C) ; 130.2(d, J<sub>C-F</sub>=8.3Hz, 芳香族CH) ; 131.1(芳香族CH) ; 131.3(d, J<sub>C-F</sub>=4.1Hz, 芳香族CH) ; 131.8(芳香族CH) ; 160.5(d, J<sub>C-F</sub>=246.8Hz, 第四級芳香族C) ; 161.2(d, J<sub>C-F</sub>=245.1Hz, 第四級芳香族C) ; 161.3(第四級芳香族C) ; 191.1(CHO)。

## 【0271】

b)(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIb)

3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(3.56g, 0.0105mol)を50mLフラスコに加え、L-アラニンアミド塩酸塩(1.2g, 0.0119mol)のメタノール溶液17mLに攪拌下にトリエチルアミン(1.48g, 0.0119mol)を注意深く加えることにより予め調製した溶液を室温で加える。

## 【0272】

この反応混合物を室温で1時間攪拌し(対応するイミンの析出が生じる。)、それから混合物を0.18Lオートクレーブに移して湿った(50%H<sub>2</sub>O)Pt/C 5%0.34gを加える。

## 【0273】

オートクレーブ中の空気を窒素でバージし、それから水素を5.0barで導入する。

## 【0274】

35℃で反応を3から5時間実施する。

## 【0275】

室温まで冷却し、触媒を濾過して除去した後、溶媒を減圧蒸留して約6.5gの残渣を

10

20

30

40

50

得る。この残渣に、水(22 mL)を加え、攪拌しながら少なくとも2時間この温度に保つ。

【0276】

得られる結晶を濾過して水で洗う。標記化合物を収率83%(0.00872 mol)で得る; m.p. 161 (キャピラリー)。

【0277】

<sup>1</sup>H-NMR: (CDC1<sub>3</sub>, 300 MHz, 298 K) (TMSに対するppm): 1.32 (3H, d, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>) ; 1.97 (1H, bs, NH) ; 3.22 (1H, q, J = 6.7 Hz, CH-CO) ; 3.67 (2H, ABq, J = 12.8 Hz, NCH<sub>2</sub>のジアステレオトピックH) ; 4.03 (2H, s, CH<sub>2</sub>) ; 5.12 (2H, s, OCH<sub>2</sub>) ; 5.98 (1H, bs, NH<sub>2</sub>) ; 6.89 (1H, d, J<sub>orth</sub> = 8.3 Hz, CH<sub>2</sub>NHおよび芳香族CHとオルトにある芳香族H) ; 6.95 - 7.40 (10H, m, 芳香族H)。 10

【0278】

<sup>13</sup>C-NMR: (CDC1<sub>3</sub>, 75.4 MHz, 298 K) (ppm): 19.6 (CH<sub>3</sub>) ; 29.2 (CH<sub>2</sub>) ; 52.0 (NHCH<sub>2</sub>) ; 57.7 (H<sub>2</sub>NCOCH) ; 63.8 (OCH<sub>2</sub>) ; 111.7 (芳香族CH) ; 115.2 (d, J<sub>c-f</sub> = 21.9 Hz, 芳香族CH) ; 115.3 (d, J<sub>c-f</sub> = 21.3 Hz, 芳香族CH) ; 124.0 (d, J<sub>c-f</sub> = 3.5 Hz, 芳香族CH) ; 124.3 (d, J<sub>c-f</sub> = 2.9 Hz, 芳香族CH) ; 124.3 (d, J<sub>c-f</sub> = 14.4 Hz, 第四級芳香族C) ; 127.5 (芳香族CH) ; 127.6 (d, J<sub>c-f</sub> = 15.0 Hz, 第四級芳香族C) ; 127.8 (d, J<sub>c-f</sub> = 7.5 Hz, 芳香族CH) ; 128.8 (第四級芳香族C) ; 129.0 - 130.0 (m, 2芳香族CH) ; 130.5 (芳香族CH) ; 131.3 (d, J<sub>c-f</sub> = 4.6 Hz, 芳香族CH) ; 131.8 (第四級芳香族C) ; 155.6 (第四級芳香族C) ; 160.4 (d, J<sub>c-f</sub> = 245.8 Hz, 第四級芳香族C) ; 161.2 (d, J<sub>c-f</sub> = 244.6 Hz, 第四級芳香族C) ; 178.2 (CONH<sub>2</sub>)。 20

【0279】

c) (S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (II d) 30  
0.2 Lガラス反応器中、(S)-3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド塩基3.59 g (0.00872 mol)を2-プロパノール40.0 mLに溶解させる。溶液を攪拌しながら55から60に加熱し、この温度に1時間保つ。この溶液に、メタンスルホン酸(0.00881 mol)を15分で加え、温度を90分で20に下げる。一晩後、固体を濾過して集め、減圧下50で乾燥させ、それからメタノールから結晶化させて(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩を収率89%で得る; m.p. 190 (キャピラリー)。

【0280】

<sup>1</sup>H-NMR: (DMSO-d<sub>6</sub>, 300 MHz, 298 K) (TMSに対するppm): 1.42 (3H, d, J = 6.8 Hz, CH<sub>3</sub>CH) ; 2.33 (3H, s, CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>) ; 3.50 - 4.20 (5H, m, CH-CO, CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>のジアステレオトピックH) ; 5.19 (2H, s, OCH<sub>2</sub>) ; 6.95 - 8.00 (11H, m, 芳香族H) ; 9.02 (2H, bs, NH<sub>2</sub><sup>+</sup>)。 40

【0281】

<sup>13</sup>C-NMR: (DMSO-d<sub>6</sub>, 75.4 MHz, 298 K) (ppm): 16.5 (CH<sub>3</sub>) ; 28.8 (CH<sub>2</sub>) ; 48.6 (NHCH<sub>2</sub>) ; 54.9 (H<sub>2</sub>NCOCH) ; 64.3 (OCH<sub>2</sub>) ; 112.8 (芳香族CH) ; 115.0 - 117.0 (2芳香族CH) ; 124.2 (d, J<sub>c-f</sub> = 14.4 Hz, 第四級芳香族C) ; 124 50

. 4 (第四級芳香族C) ; 124.8 (芳香族CH) ; 125.0 (芳香族CH) ; 127.3 (d,  $J_{C-F} = 16.1$  Hz, 第四級芳香族C) ; 128.6 (第四級芳香族C) ; 128.8 (芳香族CH) ; 129.0 - 133.0 (m, 5芳香族CH) ; 156.9 (第四級芳香族C) ; 160.8 (d,  $J_{C-F} = 245.2$  Hz, 第四級芳香族C) ; 160.9 (d,  $J_{C-F} = 243.5$  Hz, 第四級芳香族C) ; 171.1 (CO-NH<sub>2</sub>)。

## 【0282】

d) (IIId) を 0.13 重量% 含有するラルフィナミドメタンスルホン酸塩 (Id) の分取HPLCによる単離

(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド (IIb) をメタンスルホン酸塩 (IIId) として 0.13 重量% 含有する J. Med. Chem., 1998, 41, 579, 方法 A に従って製造する サフィナミドメタンスルホン酸塩 (Id) 200 g からも (IIb) のサンプル (100 mg) を分取HPLCにより単離する。

## 【0283】

キラルカラムでのHPLC分析(実施例27Cを参照)は、Sエナンチオマー (RT7.3) 対 Rエナンチオマー (RT7.6) の比が 99.5/0.5 を超えることを示す。分離は、以下のスキームに従って、2段階で実施する(ステージ1およびステージ2)：

## 【0284】

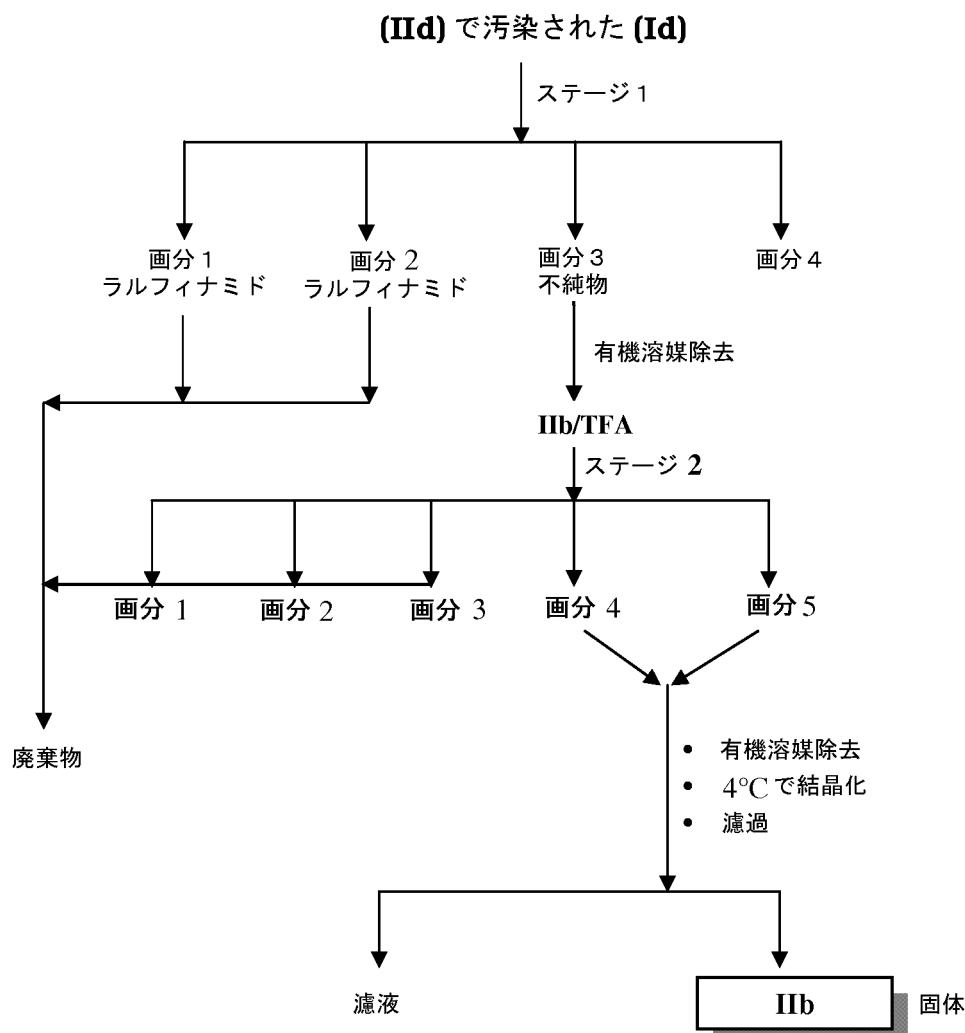
## 【化12】

10

20

30

40



## 【0285】

## ステージ1

50

第1段階の目的は I I b / T F A (トリフルオロ酢酸) 含量の多い粗生成物を単離することである。

【0286】

分取HPLC条件は以下の通りである。

【0287】

分取HPLC条件：

機器：Waters Delta Prep 4000 (往復ポンプ、低圧ミキサー付き  
グラジエントコントローラー)

Radial Compression Module Prep LC Base (W  
aters) 10

Jasco 7125 可変波長UV検出器, o.p.0.2mm

Merk D2000 プリンター - プロッター

カラム：Delta Pak C18, 15 μm, 40 × 100 mm (Waters)。

溶離液A：70 / 30, 水 / アセトニトリル + 0.1% TFA

溶離液B：30 / 70, 水 / アセトニトリル + 0.1% TFA

流速：27.0 ml / 分

勾配：40分間, 100% A一定 1分間で 100% B

検出：UV 227 nm

注入：水 50 ml 中 5 g (ポンプ入口側配管Dによる)

【0288】

ステージ2

この段階は TFA を I I b / T F A から除去し、I I b を更に精製するために必要である。

【0289】

以下の分取HPLC条件を使用して I I b / T F A をクロマトグラフィー精製する。

【0290】

画分4及び5を合わせ、アセトニトリルが完全に除去されるまで 40 で減圧蒸発させる。残留水溶液を 4 の冷蔵庫に保存する。不溶分を濾過により単離し、室温で減圧乾燥し、I I b (100 mg; HPLC 純度 100%) を得る。

【0291】

分取HPLC条件：

機器：Waters Delta Prep 4000 (往復ポンプ、低圧ミキサー付き  
グラジエントコントローラー)

Jasco 7125 可変波長UV検出器, o.p.0.2mm

Merk D2000 プリンター - プロッター

カラム：Symmetry C 18, 7 μm, 20 × 250 mm (Waters)

溶離液A：70 / 30, 水 / アセトニトリル

溶離液B：30 / 70, 水 / アセトニトリル

流速：15.0 ml / 分

勾配：20分間, 100% A一定 1分間で 100% B

検出：UV 227 nm

注入：不純物「I I a / T F A」溶液 50 ml (ポンプ入口側配管Dによる)

【0292】

(実施例9)

(R) - 2 - [3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) - ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (I I ' d ) の調製

a) 3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド (V I b)

標記化合物を実施例8a)に従って調製する。

【0293】

10

20

30

40

50

b) (R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド

実施例8b)の手順に従って、実施例9a)の通りに調製した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIb)をD-アラニンアミド塩酸塩と反応させることにより、標記化合物を調製する。

【0294】

c) (R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(IId')

実施例8c)に記載されるのと同一の手順により、工程b)で得られた(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドを標記化合物に変換する。

【0295】

<sup>1</sup>H-NMRデータ、<sup>13</sup>C-NMRデータに基づき、(IId')の構造をこのようにして得られたメタンスルホン酸塩に割り当てる。<sup>1</sup>H-NMRスペクトル、<sup>13</sup>C-NMRスペクトル、およびm.p. 190(キャピラリー)は、S-エナンチオマー(IId)のものと完全に一致する(実施例8c)を参照)。

【0296】

キラルカラムでのHPLC分析(実施例27Cを参照)は、R-エナンチオマー(RT 7.6)対S-エナンチオマー(RT 7.3)の比が99.5/0.5を超えることを示す。

【0297】

(実施例9A)

(R,S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(IId、IId')

上記の実施例8a)に従って調製した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIb)(5.g)、と(R,S)-アラニンアミド塩酸塩から、実施例8b)にある手順どおりに、(R,S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドを調製する。

【0298】

実施例9c)に記載される手順により、生成物をメタンスルホン酸塩に変換する。この塩は(VIb)から収率70%で得られる。

【0299】

分光分析データはR-エナンチオマー(IId')のものと完全に一致する(実施例9c)を参照)。

【0300】

キラルカラムでのHPLC分析(実施例27Cを参照)は、R-エナンチオマー(RT 7.6)とS-エナンチオマー(RT 7.3)の比が1:1であることを示す。

【0301】

[ ]<sup>25</sup><sub>D</sub>(c 1%、メタノール中) 0

【0302】

(実施例10)

精製した4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVa)の調製a) 4-ヒドロキシベンズアルデヒド(2.28kg、18.68mol)、炭酸カリウム(2.84kg、20.54mol)、ヨウ化カリウム(0.33kg、1.98mol)をエタノール(21.0kg)に加えた混合物に、攪拌しながら室温で、3-フルオロベンジルクロリド(2.70kg、18.68mol)を加える。

【0303】

混合物を徐々に加熱して還流させ、それからこの温度に6時間保つ。

【0304】

10

20

30

40

50

それから反応混合物を 25 に冷却し、懸濁液を濾過して固体をエタノール (1.5 kg) で洗う。エタノール液を 1 つにまとめ、それから減圧濃縮して約 6.0 kg の残渣を得る。

【0305】

この残渣に、トルエン (10 kg) および水 (2.5 kg) を加え、溶媒混合物を 30 分間激しく攪拌し、水相を分離した後、有機層を減圧下乾固するまでエバポレートして粗 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒドを得る。

【0306】

この生成物をトルエン (3 kg) に溶解して、20 から 25 で攪拌しながらそこに 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒドを種結晶として加え、次に n - ヘキサン (6.0 kg) を 45 分かけて加え、混合物を攪拌しながら 0 に冷却する。

【0307】

3 時間後、固体を濾過して n - ヘキサン (2.0 kg) で洗う。乾燥させて、所望の生成物 3.95 kg (収率 92.0 %) を得る；ガスクロマトグラフィー純度 99.8 (面積 %、実施例 24 A を参照)、および G. C. で測定した 3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド含量 0.01 重量 % (面積 %、実施例 24 B を参照)；DSC 5 / 分による m. p. 43.1。

【0308】

標記化合物のさらなる調製を以下の通り行った：

b) 10 L 反応器に、2 - プロパノール (5.51 kg)、炭酸カリウム (793 g、5.74 mol)、ヨウ化カリウム (305 g、1.84 mol)、および 4 - ヒドロキシベンズアルデヒド (700 g、5.74 mol) を投入する。混合物を 20 から 25 で 15 分間攪拌する。

【0309】

滴下ロートを用いて、3 - フルオロベンジルクロリド (871 g、6.03 mol) を約 20 分で反応器に投入する。

【0310】

混合物を 3 時間攪拌しながら加熱還流する。

【0311】

その後、混合物を約 50 に冷却し、方法制御のためにサンプル採取する。

【0312】

溶媒を減圧除去して残量を約 1.8 l にする。

【0313】

シクロヘキサン (1.84 kg) および水 (2.5 kg) を加え、それから混合物を 65 ± 3 に加熱し、この温度で 30 分間攪拌する。攪拌を止めて 20 分間置いて相を分離させる。水相を廃棄する。

【0314】

有機相に水 (1.31 kg) を加え、二相混合物を 65 ± 3 で 30 分間攪拌する。20 分間置いて相を分離させる。水相を廃棄し、40 から 55 の温度で有機相を減圧濃縮して体積約 3 l とする。

【0315】

混合物を約 30 に冷却し、種結晶を加え、この温度で 30 分間攪拌する。

【0316】

混合物を 20 ± 2 に冷却し、この温度で少なくとも 3 時間攪拌する。

【0317】

生成物を吸引濾過して、固体をシクロヘキサン (3 × 150 g) で洗う。

【0318】

濡れた固体 (1.5 kg) を 100 mbar 未満の圧力下 20 から 25 で 12 時間乾燥させて 1.17 kg (5.09 mol) を得る；収率 88 %；ガスクロマトグラフィー純度 99.43 (面積 %、実施例 24 A を参照)、および G. C. で測定した (面積 %、

10

20

30

40

50

実施例 24 B を参照 ) 3 - ( 3 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド ( V I a ) の含量 0 . 0 6 3 重量 % 。実施例 11 . 1 に記載される手順に従って、この生成物をさらに精製して、G C で測定した ( 実施例 24 B を参照 ) 不純物 ( V I a ) 含量が 0 . 0 1 重量 % である生成物を得る。

## 【 0 3 1 9 】

( 実施例 11 )

相間移動触媒反応による 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド ( I V a ) の調製

3 - フルオロベンジルクロリド ( 1 0 k g 、 6 9 . 1 6 m o l ) 、 4 - ヒドロキシ - ベンズアルデヒド ( 7 . 8 k g 、 6 3 . 8 8 m o l ) 、 炭酸カリウム ( 9 . 4 6 k g 、 6 8 . 4 4 m o l ) 、 および テトラデシルトリメチルアンモニウムプロミド ( 1 . 0 3 k g 、 3 . 7 2 m o l ) をトルエン ( 3 0 . 0 k g ) に加えた混合物を、窒素雰囲気下攪拌しながら、ゆっくりと還流温度にし、それから 7 時間還流させる。

## 【 0 3 2 0 】

溶液を室内圧力で濃縮し、それからトルエン 6 k g を加えて留去する。この手順をもう一度繰り返す。

## 【 0 3 2 1 】

それから、不均一混合物を室温に冷却して固体を濾別する。濾液の溶媒を減圧除去して、油状残渣にトルエン 2 . 6 k g を加える。

## 【 0 3 2 2 】

混合物を 2 0 から 2 5 で攪拌して、純粋な 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド数グラムを種結晶として加え、次に 2 0 から 2 5 に保ちながら攪拌した混合物に n - ヘキサン ( 1 8 k g ) を 4 5 分で加える。

## 【 0 3 2 3 】

3 から 6 に冷却し、この温度でさらに 1 時間攪拌した後、固体を濾過して集め、減圧下乾燥して 1 3 . 5 k g を得る ; 収率 8 6 . 3 % 、 G C 純度 9 9 . 8 ( 面積 % 、実施例 24 A を参照 ) 、 および 3 - ( 3 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド含量 0 . 0 1 重量 % ( 実施例 24 B を参照 ) 。

## 【 0 3 2 4 】

1 1 . 1 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド ( I V a ) の結晶化によるさらなる精製

実施例 10 b ) に従って調製した 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド 1 k g を、還流攪拌しながらジイソプロピルエーテル 2 k g に溶解させる。

## 【 0 3 2 5 】

溶液を 1 0 から 1 5 分で 5 0 から 5 5 に冷却し、純粋な 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド数グラムを種結晶として加える。

## 【 0 3 2 6 】

懸濁液を 4 5 から 6 0 分で 1 0 から 1 5 に冷却し、さらに 1 時間攪拌する。

## 【 0 3 2 7 】

最後に析出物を濾過して集め、冷ジイソプロピルエーテル ( 0 . 2 k g ) で洗い、減圧下乾燥して、 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド 0 . 9 0 k g を得る : G C 純度 9 9 . 9 ( 面積 % 、実施例 24 A を参照 ) 、 および G C で測定した 3 - ( 3 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド含量 0 . 0 1 重量 % ( 実施例 24 B を参照 ) 。

## 【 0 3 2 8 】

1 1 . 2 3 - フルオロベンジルプロミドを用いた相間移動触媒反応による 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンズアルデヒド ( I V a ) の調製

実施例 11 と同一の手順に従って、ただし 3 - フルオロベンジルクロリドの代わりに 3 - フルオロベンジルプロミドを用いて、 4 - ヒドロキシベンズアルデヒド ( 2 6 . 5 2 g ) を 3 - フルオロベンジルプロミドと反応させることにより、 4 - ( 3 - フルオロベンジ

10

20

30

40

50

ルオキシ)ベンズアルデヒドを収率87.0%で調製する: GCで測定した3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド含量0.05重量% (実施例24Bを参照)。

【0329】

そうして得られる4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを実施例11.1に従って精製し、標記生成物を収率95.0%で得る: GCで測定した3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド含量0.01重量% (実施例24Bを参照)。

【0330】

11.3 3-フルオロベンジルメタンスルホン酸塩を用いた相間移動触媒反応による4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVa)の調製 10

実施例11と同一の手順に従って、4-ヒドロキシベンズアルデヒド(15.6g)を、3-フルオロベンジルクロリドの代わりに3-フルオロベンジルメタンスルホン酸塩と反応させて、4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを収率97.5%で調製する: GCで測定した3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIa)含量0.45重量% (実施例24Bを参照)。この生成物を、実施例11.1の手順に従ってさらに精製し、不純物(VIa)含量を0.01重量%に減らす。

【0331】

(実施例12) 20  
高純度(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic)の調製(ワンポット反応)

a)(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ia)の調製

機械攪拌器、温度計、還流冷却管を備えた21四つ口丸底フラスコに、窒素流下、L-アラニンアミド塩酸塩(124.6g、0.49mol)およびメタノール(840mL)を投入し、20で15分間攪拌する。トリエチルアミン(49.5g、0.49mol)を、温度が30を超えないよう速度で加える。混合物を10分間攪拌し、すぐに実施例10b)で調製した固体の4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(100g)を約30分で少しづつ加える。20で3時間攪拌した後、混合物を5に冷却し、固体のNaBH<sub>4</sub>(16.4g、0.44mol)を10回に分けて注意しながら1.5時間かけて加える。加え終わったら、混合物を5で30分間攪拌する。混合物を減圧濃縮して体積100から150mLにする。 30

【0332】

残渣に、トルエン(550mL)および水(750mL)を加え、温度を75に上げる。30分間攪拌後、相を分離させ、有機相を水(140mL)で洗う。相を分離した後、有機相を68に冷却し、種結晶を加え、この温度で1時間攪拌する。混合物を約2時間で20に冷却し、この温度で2時間攪拌する。固体を濾過して単離し、トルエン(2×40mL)で洗い、減圧下乾燥して白色固体118gを得る; 収率90%。

【0333】

得られる生成物のHPLC純度は99.95(面積%、実施例25Aを参照)であり、C、O-ジアルキル化(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド含量は0.008重量% (実施例25Bを参照)である。 40

【0334】

キラルHPLCカラムで測定したサフィナミドのエナンチオマー純度は100%(面積%、実施例27Aを参照)である。

【0335】

<sup>1</sup>H-NMR(D<sub>2</sub>O)(Bruker AV300)(4.7ppmのH<sub>2</sub>Oに対するppm): 1.43(3H, d, J=7Hz, CH<sub>3</sub>); 2.66(3H, s, C 50

H<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) ; 3.87 (1H, q, J = 7 Hz, H-2) ; 3.97 (2H, bs, CH<sub>2</sub>NR) ; 4.89 (2H, s, CH<sub>2</sub>OR) ; 6.88 および 7.23 (4H, AA'XX'芳香族p-二置換系; 6.90 ÷ 7.22 (4H, 芳香族H)

<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O) (Bruker AV300) ppm: 15.68 (CH<sub>3</sub>) ; 38.27 (CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) ; 48.99 (CH<sub>2</sub>NR) ; 54.81 (CH) ; 69.00 (OCH<sub>2</sub>) ; 114.15 (d, J<sub>C-F</sub> = 21 Hz, 芳香族CH) ; 114.76 (d, J<sub>C-F</sub> = 20 Hz, 芳香族CH) ; 115.38 (芳香族CH) ; 123.06 (d, J<sub>C-F</sub> = 24 Hz, 芳香族CH) ; 123.24 ; 130.29 (d, J<sub>C-F</sub> = 6 Hz, 芳香族CH) ; 131.54 (芳香族CH) ; 138.76 (d, J<sub>C-F</sub> = 7 Hz, 芳香族CH) ; 158.52 ; 162.89 (d, J<sub>C-F</sub> = 245 Hz, C-F) ; 171.92 (CO) 10

### 【0336】

a1) 代替手順として、固体のNaBH<sub>4</sub>の代わりにNaBH<sub>4</sub>メタノール溶液を用いて還元を行う。

### 【0337】

窒素下搅拌しながら0から5で、NaBH<sub>4</sub>(16.4g)をメタノール(120mL)とNaOH 30%水溶液(5.8mL)の混合物に加えることにより、NaBH<sub>4</sub>メタノール溶液を調製する。

### 【0338】

機械搅拌器、温度計、還流冷却管を備えた21四つ口丸底フラスコに、窒素流下、L-アラニンアミド塩酸塩(124.6g、0.49mol)およびメタノール(720mL)を投入し、20で15分間搅拌する。トリエチルアミン(49.5g、0.49mol)を、温度が30を超えないような速度で加える。混合物を10分間搅拌し、すぐに実施例10b)で調製した固体の4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(100g)を約30分で少しづつ加える。20で3時間搅拌後、混合物を5に冷却し、先に調製したNaBH<sub>4</sub>溶液を滴下ロートから注意して1.5時間かけて加える。加え終わったら、混合物を5で30分間搅拌する。混合物を減圧濃縮して体積100から150mLにする。 20

### 【0339】

残渣に、トルエン(550mL)および水(750mL)を加え、温度を75に上げる。30分間搅拌後、相を分離させ、有機相を水(140mL)で洗う。相を分離した後、有機相を68に冷却し、種結晶を加え、この温度で1時間搅拌する。混合物を約2時間で20に冷却し、この温度で2時間搅拌する。固体を濾過して単離し、トルエン(2×40mL)で洗い、減圧下40で乾燥して白色固体116gを得る；収率88.5%。 30

### 【0340】

生成物のHPLC純度は100.0%（面積%、実施例25Aを参照）でありC, O-ジアルキル化(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド含量は0.009重量%（実施例25Bを参照）である。 40

### 【0341】

キラルHPLCカラムで測定したサフィナミドのエナンチオマー純度は100%（面積%、実施例27Aを参照）である。

### 【0342】

b)(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic)

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(20g、66mmol、実施例12aで調製)と酢酸エチル(510g)の混合物を、搅拌しながら65まで加熱し、透明な溶液となるまでこの状態を保つ。55に予め冷却した溶液に、40分でメタンスルホン酸(7g、72.6mmol)を加える。混合物 50

を3時間で徐々に20℃に冷却し、20℃に2時間保つ。不均一混合物を濾過し、固体を減圧下40℃で乾燥して標記化合物26.1gを白色固体として得る(収率99%)。

【0343】

得られる生成物のHPLC純度は99.94%(面積%、実施例25Aを参照)であり、C,O-ジアルキル化(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量は0.005重量%(実施例25Bを参照)である。

【0344】

キラルHPLCカラムで測定したサフィナミドメタンスルホン酸塩のエナンチオマー純度は100%(面積%、実施例27Aを参照)である。

10

【0345】

b1)実施例12a1)に従って調製した(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(20g、66mmol)を、実施例12b)にある手順を用いてメタンスルホン酸塩(Ic)に変換し、標記化合物26.2gを得る(収率99%)。

【0346】

得られる生成物のHPLC純度は99.95%(面積%、実施例25Aを参照)であり、C,O-ジアルキル化(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量は0.005重量%(実施例25Bを参照)である。

20

【0347】

キラルHPLCカラムで測定したサフィナミドメタンスルホン酸塩のエナンチオマー純度は100%(面積%、実施例27Aを参照)である。

【0348】

(実施例13)

高純度(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic)の調製

4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを実施例11に従って調製する以外は実施例12a1)と同一の手順に従い、そうして得られる(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドをメタンスルホン酸塩(Ic)に変換して、標記生成物を収率87%で調製する:実施例25Aの方法に従って測定した純度99.7%(面積%)、および実施例25Bの方法に従って測定したC,O-ジアルキル化不純物(IIa)含量0.005重量%。

30

【0349】

(実施例14)

L-アラニンアミド塩基を用いた高純度(R,S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic、I'c)の調製(ワンポット反応)

a)(R,S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ia、I'a)

40

機械攪拌器、温度計を備えた1L四つ口丸底フラスコに、窒素流下、L-アラニンアミド塩酸塩(59g、0.47mol)およびエタノール(690mL)を入れて、混合物を20±3℃で20分間攪拌する。ナトリウムメチラートの30%メタノール溶液(83.9g、0.47mol)を、約15分で加える。混合物を20±3℃で1時間攪拌する。固体(NaCl)を濾別し、透明な溶液を減圧濃縮する。

【0350】

残渣をメタノール(640g、約800mL)に取り、4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンズアルデヒド(96.5g、0.42mol、実施例10bで調製)を30分かけて少しづつ加える。室温で20時間攪拌後、透明な溶液を5±2℃に冷却して、固体のNaBH4(15.8g、0.42mol)を、温度を10℃未満に保ちながら1.

50

5時間かけて少しづつ注意して加える。加え終わったら、混合物を  $5 \pm 2$  で30分間攪拌する。混合物を減圧濃縮して体積100から150mLにする。

【0351】

残渣に、トルエン(550mL)および水(750mL)を加え、温度を  $75 \pm 2$  に上げる。30分間攪拌後、相を分離させ、有機相を水(140mL)で洗う。相を分離した後、有機相を  $68 \pm 2$  に冷却し、種結晶を加え、この温度で1時間攪拌する。混合物を約2時間で20に冷却し、この温度で2時間攪拌する。固体を吸引濾過して単離し、トルエン(2×40mL)で洗う。

【0352】

濡れた固体を減圧下40で乾燥して、(R, S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド70gを得る：収率65%、HPLC純度99.88(面積%、実施例25Aを参照)、およびHPLCで測定した(R, S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド含量0.008重量%(実施例25Bを参照)。

【0353】

実施例27Aに従ったキラルHPLCカラムでの生成物の分析から、得られる化合物のR:S比が52:48であるとわかる。

【0354】

イミノアルキル化反応過程のさらなる実施(control)はこのイミノアルキル化工程の間にラセミ化が生じることを示す。

【0355】

b) (R, S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic, I'c)

実施例14a)に従って調製した化合物を、実施例4b)と同一の手順に従ってメタンスルホン酸塩に変換する：収率85.0%、HPLC純度99.8(実施例25Aを参照)。

【0356】

HPLCで測定(実施例25Bを参照)した不純物(R, S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(IIc, II'c)の含量は0.005重量%未満である。

【0357】

(実施例15)

D-アラニンアミド塩酸塩を用いた高純度(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(I'c)の調製(ワンボット反応)

a) (R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'a)

L-アラニンアミド塩酸塩をD-アラニンアミド塩酸塩に変えて、実施例12a1)に従って化合物を調製し、(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドを得る：収率91%、HPLC純度99.8(面積%、実施例25Aを参照)、およびHPLCで測定(実施例25Bを参照)した(R)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド含量0.005重量%。

【0358】

b) (R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(I'c)

実施例15a)に従って調製したサフィナミドのR-エナンチオマーを、実施例12bと同一の手順に従ってメタンスルホン酸塩(I'c)に変換する：収率92.0%、HPLC純度99.9%(実施例25Aを参照)。

【0359】

10

20

30

40

50

HPLCで測定(実施例25Bを参照)した不純物(R)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(II'c)含量は0.005重量%未満である。標記化合物のDSC(5/分)によるm.p.は216.8である。

【0360】

キラルHPLCカラムで測定したエナンチオマー純度は、99.9超である(面積%、実施例27Bを参照)。

【0361】

<sup>1</sup>H-NMR(D<sub>2</sub>O)(Bruker AV300)(4.7ppmでのH<sub>2</sub>Oに対するppm): 1.43(3H, d, J=7Hz, CH<sub>3</sub>) ; 2.66(3H, s, CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) ; 3.87(1H, q, J=7Hz, H-2) ; 3.97(2H, bs, CH<sub>2</sub>NR) ; 4.89(2H, s, CH<sub>2</sub>OR) ; 6.88および7.23(4H, AA'XX'芳香族p-二置換系) ; 6.90÷7.22(4H, 芳香族H) 10

<sup>13</sup>C-NMR(D<sub>2</sub>O)(Bruker AV300) ppm: 15.68(CH<sub>3</sub>) ; 38.27(CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) ; 48.99(CH<sub>2</sub>NR) ; 54.81(CH) ; 69.00(OCH<sub>2</sub>) ; 114.15(d, J<sub>C-F</sub>=21Hz, 芳香族CH) ; 114.76(d, J<sub>C-F</sub>=20Hz, 芳香族CH) ; 115.38(芳香族CH) ; 123.06(d, J<sub>C-F</sub>=24Hz, 芳香族CH) ; 123.24 ; 130.29(d, J<sub>C-F</sub>=6Hz, 芳香族CH) ; 131.54(芳香族CH) ; 138.76(d, J<sub>C-F</sub>=7Hz, 芳香族CH) ; 158.52 ; 162.89(d, J<sub>C-F</sub>=245Hz, C-F) ; 171.92(CONH<sub>2</sub>) 20

【0362】

この実施例15の化合物のさらなる調製を以下の通り行った:

a1)(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(II'a)

丸底フラスコ中、D-アラニンアミド(alaninamide)塩酸塩12.2gをメタノール166.8mLに溶解し、温度を30未満に保ちながら、これに順番にトリエチルアミン9.9g、次いで4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド20gを加える。混合物を室温で3時間攪拌し、それから8±2で冷却し、温度を約8に保ちながら固体のNaBH<sub>4</sub>3.3gを加えた。 30

【0363】

反応物を少なくとも1時間攪拌し、最小量に濃縮し、それからトルエン(110mL)および水(152mL)を加えた。

【0364】

二相混合物を70で攪拌し、有機層を分離して70で水(30mL)で洗う。

【0365】

得られる溶液を室温まで冷却し、ろ過してトルエンで洗う。

【0366】

固体を減圧下40で乾燥し、標記生成物22.6gを白色粉末として得る(収率86.1%) 40

[ ]<sup>25</sup><sub>D</sub>(c2%、メタノール中): +10.63°

300MHz <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d6): 7.55-7.48(1H, m), 7.37-7.30(5H, m) 7.26-7.19(1H, m) 7.02-7.01(3H, m) 5.19(2H, s), 3.70(1H, d), 3.57-5.53(1H, d), 3.10-3.04(1H, q), 1.21-1.19(3H, d)。

【0367】

b1)(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(II'c)

丸底フラスコに、2-プロパノール65gと上記工程a1)に従って調製した化合物8.25gを加え、完全な溶液となるまで攪拌しながら70で加熱する。 50

## 【0368】

温度を  $70 \pm 3$  に保ちながら、メタンスルホン酸 2.6 g を滴下する。

## 【0369】

70 で 30 分間攪拌後、混合物をゆっくりと 20 に冷却し、それから 1 時間攪拌する。

## 【0370】

生成物を濾過し、イソプロパノールで洗い、減圧下 40 で乾燥して、標記生成物 10 g を白色固体として得る（収率 92%）、m.p. 218.4 (キャピラリー)；[  
] $^{25}_{\text{D}}$  (c 2%、メタノール中) : +0.6°。

得られる生成物の HPLC 純度は 99.88%（面積%、実施例 25A を参照）であり 10 、C, O-ジアルキル化 (R)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量は 0.006 重量%（実施例 25B を参照）である；m.p. 218.4 (キャピラリー)。

## 【0371】

キラル HPLC カラムで測定した R-サフィナミドメタンスルホン酸塩のエナンチオマー純度は 100%（面積%、実施例 27B を参照）である。

## 【0372】

300 MHz  $^1\text{H}$ -NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) : 7.97 (1H, b s), 7.70 (1H, b s), 7.56 - 7.47 (3H, m), 7.38 - 7.34 (2H, m), 7.27 - 7.21 (1H, d t), 7.17 - 7.15 (2H, d), 5.25 (2H s), 4.10 (2H, b s), 3.81 - 3.79 (1H, q), 2.39 (3H, s), 1.50 - 1.48 (3H, d)。 20

## 【0373】

## (実施例 16)

Schiff 塩基中間体 (S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ] プロパンアミド (IIIA) を単離する、高純度 (S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (Ic) の調製

a) (S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ] プロパンアミド (IIIA) 30

実施例 10 に記載したように製造する 4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (192.0 g, 0.83 mol) と L-アラニンアミド塩酸塩 (114.2 g, 0.93 mol) のメタノール (960 mL) 懸濁液に窒素雰囲気下で室温にて攪拌下にトリエチルアミン (93.12 g, 0.93 mol) を加える。攪拌を更に 1 時間続ける。

## 【0374】

次に溶液に (S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ] プロパンアミド数グラムをシード添加し、温度を 5 ~ 10 まで下げ、攪拌を 3 時間続ける。

## 【0375】

固形分を濾取し、2 のメタノールで洗浄する。 40

## 【0376】

減圧乾燥後、DSC (5 / 分) による m.p. 112.0 の標記化合物 190.4 g (76.0% 収率) が得られる。

## 【0377】

$^1\text{H}$ -NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) (Bruker AV300) (2.55 ppm の TMS; 3.35 ppm の DMSO 溶媒に対する ppm) : 1.31 (3H, d, J = 7 Hz, CH<sub>3</sub>) ; 3.86 (1H, q, J = 7 Hz, H-2) ; 5.18 (2H, s, CH<sub>2</sub>OR) ; 7.08 及び 7.79 (4H, AA'XX' p-ジ置換芳香族系) ; 7.10 - 7.50 (4H, m, 芳香族 H) ; 8.27 (1H, s, CH = NR)。 50

## 【0378】

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) (Bruker AV300) (ppm) : 20.5 (CH<sub>3</sub>) ; 67.6 (CH) ; 68.4 (OCH<sub>2</sub>) ; 114.1及び114.4 (d, J<sub>C-F</sub> = 21 Hz, 芳香族CH) ; 114.5及び114.8 (d, J<sub>C-F</sub> = 21 Hz, 芳香族CH) ; 114.8 (芳香族CH) ; 123.5 (d, J<sub>C-F</sub> = 2 Hz, 芳香族CH) ; 129.0及び129.9 (芳香族CH) ; 130.4及び130.5 (d, J<sub>C-F</sub> = 7 Hz, 芳香族CH) ; 139.6及び139.7 (d, J<sub>C-F</sub> = 6 Hz, 四重線芳香族C) ; 160.2 ; 160.5及び163.8 (d, J<sub>C-F</sub> = 24.5 Hz, C-F) ; 160.6 (CH=N) ; 174.8 (CO)。

[ ]<sup>25</sup>D (c 1%, クロロホルム中) : +68.1°

10

## 【0379】

b) (S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド (Ia)

実施例16a)に記載される通りに調製した(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド (IIIa) (150 g)とメタノール (900 mL)の混合物を、攪拌しながら2から5℃に冷却する。温度を5℃未満に保ちながら、この冷混合物に、水素化ホウ素ナトリウム (19.0 g)を、2時間で少しづつ加える。それから混合物を5℃でさらに20分間攪拌する。反応混合物を減圧濃縮し、実施例2に記載される通りに後処理して、(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド (Ia) 135 gを得る(収率89.2%) : HPLC純度98.8(面積%、実施例25Aの方法に従って測定)、および実施例25Bの方法に従ってHPLCにより測定したC, O-ジアルキル化 (S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド含量0.005重量%。

20

## 【0380】

c) (S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (Ic)

実施例16b)に従って調製したサフィナミドを、実施例12b)と同一の手順に従つてメタンスルホン酸塩 (Ic)に変換する: 収率94.0%、HPLC純度99.9%(実施例25Aを参照)。

30

## 【0381】

HPLCで測定(実施例25Bを参照)した不純物 (S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (IIc)含量は0.005重量%未満である。

## 【0382】

キラルHPLCカラムで測定したエナンチオマー純度は、99.9超(面積%、実施例27Aを参照)である。

## 【0383】

(実施例17)

Schiff塩基中間体 (R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド (III'a)を単離する、高純度 (R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (solfonate) (I'c)の調製

40

a) (R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド (III'a)

機械攪拌器、温度計、還流冷却管を備えた250 mL四つ口丸底フラスコに、窒素流下、D-アラニンアミド塩酸塩 (6.1 g)およびメタノール (80 mL)を投入し、20℃で15分間攪拌する。トリエチルアミン (5 g)を、温度が30℃を超えないような速度で加える。混合物を10分間攪拌し、すぐに固体の4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (10 g、実施例10b)を約30分で少しづつ加える。20℃で3

50

時間攪拌後、混合物を5℃に冷却する。この温度で3時間攪拌後、固体をろ過し、予め冷却したメタノール少量で洗う。濡れた固体を減圧下25℃で12時間乾燥させ、標記化合物6.4gを白色固体として得る：収率46.4%；m.p.111.9。

【0384】

[ ]<sub>D</sub> = -67.9°(c = 1、クロロホルム中)；

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)(Bruker AV300)(2.55ppmのTMSに対するppm；3.35ppmのDMSO溶媒)：1.31(3H,d,J=7Hz,CH<sub>3</sub>)；3.86(1H,q,J=7Hz,H-2)；5.18(2H,s,CH<sub>2</sub>OR)；7.08および7.79(4H,AA'XX'p-二置換芳香族系)；7.10-7.50(4H,m,芳香族H)；8.27(1H,s,CH=NR)。 10

【0385】

<sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)(Bruker AV300)(ppm)：20.5(CH<sub>3</sub>)；67.6(CH)；68.4(OCH<sub>2</sub>)；114.1e114.4(d,J<sub>C-F</sub>=21Hz,芳香族CH)；114.5e114.8(d,J<sub>C-F</sub>=21Hz；芳香族CH)；114.8(芳香族CH)；123.5(d,J<sub>C-F</sub>=2Hz,芳香族CH)；129.0および129.9(芳香族CH)；130.4および130.5(d,J<sub>C-F</sub>=7Hz,芳香族CH)；139.6および139.7(d,J<sub>C-F</sub>=6Hz,芳香族第四級C)；160.2；160.5および163.8(d,J<sub>C-F</sub>=245Hz,C-F)；160.6(CH=N)；174.8(CO) b)(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'a) 20

【0386】

実施例16b)の手順を用いて、ただし実施例17a)で調製した(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジリデンアミノ]プロパンアミド(I'I'a)をこのエナンチオマー(I'Ia)の代わりに用いて、化合物を調製する。

【0387】

c)(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(I'c)

【0388】

実施例17b)に従って調製した(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドを、実施例12b)と同一の手順に従ってメタンスルホン酸塩(I'c)に変換する：収率92%。 30

【0389】

HPLCで測定(実施例25Bを参照)した不純物(R)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(I'I'c)含量は、0.005重量%未満である。標記化合物のDSC(5/分)によるm.p.は216.8である。

【0390】

キラルHPLCカラムで測定したエナンチオマー純度は、99.9超(面積%、実施例27Bを参照)である。 40

【0391】

(実施例17A)

(R,S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic,I'c)

a)1000mLグラス反応器に、メタノール(80mL)および(R,S)-アラニンアミド塩酸塩(15.14g、123mmol)を投入し、25℃で無水トリエチルアミン(17.04mL、144mmol)を滴下する。

【0392】

実施例10b)で調製した4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(23.99g、103.5mmol)を約10分で加え、混合物を25℃で10時間攪拌す 50

る（混合物A）。

【0393】

第二の反応器（100mL）中、メタノール（30mL）と水酸化ナトリウム30%水溶液（1.3g）を攪拌して混合し、温度を0から6℃に下げる。溶液に、1で、水素化ホウ素ナトリウム粉末（3.92g、103.5mmol）を少しづつ加える。窒素下1から2で、混合物を2時間攪拌する（混合物B）。

【0394】

窒素下攪拌しながら、温度を5から10℃に保ちつつ上記の混合物Aに混合物Bを約30分で加える。

【0395】

反応混合物を5から10℃で30分間攪拌し、減圧濃縮して残量20mLにする。窒素下攪拌しながら、残渣にトルエン（120mL）および水（100mL）を加え、混合物を60から65℃まで加熱する。

【0396】

有機相を分離して水（30mL）を加え、混合物を60から65℃で攪拌する。

【0397】

有機相を分離して、約7℃まで徐々に冷却し、この状態に3時間保つ。

【0398】

混合物をろ過し、固体をトルエン（3×10mL）で洗って減圧下乾燥して、（R,S）-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド（21.40g）を得る。

【0399】

b) 2-プロパノール（65g）および実施例17Aa）で調製した（R,S）-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド（8.2g）を反応器に投入する。

【0400】

混合物を攪拌しながら70℃に加熱し、透明な溶液が得られるまでこの状態に保つ。

【0401】

この溶液に、70℃で、無水メタンスルホン酸（2.6g）をゆっくりと加える。

【0402】

不均一混合物を20℃に冷却し、この温度で少なくとも2時間攪拌する。

【0403】

混合物を遠心分離し、固体をイソプロパノールで洗って減圧下乾燥して、標記生成物9.4gを得る：収率86.4%、HPLC純度99.9（面積%、実施例25Aを参照）、およびC,O-ジアルキル化（R,S）-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量0.005重量%未満（実施例25Bを参照）。

【0404】

このようにして得られる（R,S）サフィナミドは、キラルHPLCカラムによりS:R=50.30:49.70（面積%、実施例27Aを参照）のエナンチオマー混合物であることがわかる。

【0405】

（実施例18）

（S）-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩（IIc）の調製

a) 3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド（VIa）

窒素雰囲気下に維持する4L丸底フラスコに4-ヒドロキシベンズアルデヒド（400g, 3.28mol）と炭酸カリウム（453g, 3.28mol）とトルエン（2L）と3-フルオロベンジルクロリド（1400g, 9.68mol）を順に加え、混合物を

10

30

40

50

5日間還流攪拌する。この時点ではGC分析によると、反応混合物は4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドと3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを91.4:8.6(面積/面積、実施例24A参照)の比で含有していることがわかる。

【0406】

反応混合物を室温まで冷却する後、攪拌下に水2Lを加える。有機相を分離し、溶媒が消失するまで溶媒を35で減圧(20mmHg)蒸留する。次に圧力を3mmHgまで下げ、外部温度を300まで上げ、255~265で蒸留する画分(40.6g)を集め。

【0407】

GC分析によると、標記化合物のモノアルキル化誘導体(IVa)に対するC,O-ジベンジル化誘導体(VIa)面積/面積比は99.6:0.4(面積/面積、実施例24B参照)である。

【0408】

<sup>1</sup>H-NMR(CDC1<sub>3</sub>)(Bruker AV300)(TMSに対するppm):4.05(2H,s,CH<sub>2</sub>);5.13(2H,s,OCH<sub>2</sub>);6.85-7.40(9H,m,芳香族H);7.73-7.79(2H,m,C=Oに対してオルト位の芳香族H);9.88(s,CHO)。

【0409】

<sup>13</sup>C-NMR(CDC1<sub>3</sub>)(Bruker AV300)(ppm):36.1(CH<sub>2</sub>);69.4(CH<sub>2</sub>O);111.4(芳香族CH);112.9及び113.2(d,J<sub>C-F</sub>=20Hz,芳香族CH),113.9及び114.2(d,J<sub>C-F</sub>=22Hz,芳香族CH);114.9及び115.0(d,J<sub>C-F</sub>=21Hz,芳香族CH);115.7及び115.9(d,J<sub>C-F</sub>=25Hz,芳香族CH);122.6(d,J<sub>C-F</sub>=3Hz,芳香族CH);124.4(d,J<sub>C-F</sub>=3Hz,芳香族CH);129.6及び129.8(d,J<sub>C-F</sub>=8Hz,芳香族CH);(d,J<sub>C-F</sub>=7Hz,四重線芳香族C);129.9(四重線芳香族C);130.0(四重線芳香族C);130.1及び130.2(d,J<sub>C-F</sub>=7Hz,芳香族CH);131.2(芳香族CH);131.5(芳香族CH);138.3(d,J<sub>C-F</sub>=7Hz,四重線芳香族C);161.0,161.2及び164.4(d,J<sub>C-F</sub>=240,オーバーラップする2本のC-F);190.8(CHO)。

【0410】

b)(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIa)

3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(35.6g,0.105mol)を500mLフラスコに加え、L-アラニンアミド塩酸塩(14.8g,0.119mol)のメタノール溶液170mLに攪拌下にトリエチルアミン(12g,0.119mol)を注意深く加えることにより予め調製した溶液を室温で加える。

【0411】

この反応混合物を1時間室温で攪拌する後、1.8Lオートクレーブに移し、含水(50%H<sub>2</sub>O)Pt/C5%3.4gを加える。

【0412】

オートクレーブから空気を窒素バージした後、水素を5.0バールで導入する。

【0413】

35の温度で反応を3~5時間実施する。

【0414】

室温まで冷却して触媒を濾別後、約65gの残渣が得られるまで溶媒を減圧留去する。この残渣に酢酸エチル(340mL)と水(250mL)の混合物を加え、明白な2相が

10

20

30

40

50

得られるまで不均一混合物を 40 ℃まで昇温し、搅拌せずにこの温度に維持する。2相を分離し、約 50 g の残渣が得られるまで有機相を減圧蒸留する。

【0415】

この残渣を酢酸エチル 220 mL に溶かし、外部温度 40 ℃で溶媒を減圧留去する。この操作を2回繰返し、標記化合物を固体残渣として得る (42.4 g)。

【0416】

c) (S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (IIc)

2 L ガラス反応器中、実施例 18b で調製した (S)-3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド 42.4 g (0.103 mol) を、酢酸エチル 950 mL に溶解させる。溶液を搅拌しながら 50 から 55 ℃に加熱し、この温度に 1 時間保つ。この溶液に、メタンスルホン酸 14.5 g (0.15 mol) を 20 分で加え、温度を 90 分で 20 ℃に下げる。30 分後、固体を濾過して集め、減圧下 50 ℃で乾燥させ、メタノールから結晶化 (メタノール：生成物は重量で 1:5) させて、エナンチオマーとして純粋な (実施例 27D を参照) (S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩 25.1 g を得る：m.p. 187 ℃ (キャピラリー)。

【0417】

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) (Bruker AV300) (TMSに対する ppm) : 1.44 (3H, d, J = 7 Hz, CH<sub>3</sub>) ; 2.35 (3H, s, CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>) ; 3.81 (1H, q, J = 7 Hz, H-2) ; 3.99 (2H, bs, ベンジルCH<sub>2</sub>) ; 4.02 (2H, AB系, CH<sub>2</sub>N-) ; 5.17 (2H, s, CH<sub>2</sub>OR) ; 6.98 - 7.63 (11H, m, 芳香族H) ; 7.62 及び 7.75 (2H, bs, アミドNH<sub>2</sub>) ; 9.02 (2H, broad, NH<sub>2</sub><sup>+</sup>)。

【0418】

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) (Bruker AV300) (ppm) : 15.9 (CH<sub>3</sub>) ; 35.5 (CH<sub>2</sub>) ; 39.7 (CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) ; 48.1 (CH<sub>2</sub>NR) ; 54.4 (CH) ; 68.4 (OCH<sub>2</sub>) ; 112.2 (芳香族CH) ; 112.7 (d, J<sub>C-F</sub> = 22 Hz, 芳香族CH) ; 113.8 (d, J<sub>C-F</sub> = 22 Hz, 芳香族CH) ; 114.5 (d, J<sub>C-F</sub> = 22 Hz, 芳香族CH) ; 115.2 (d, J<sub>C-F</sub> = 22 Hz, 芳香族CH) ; 123.2 (芳香族CH) ; 123.8 ; 124.6 (芳香族CH) ; 128.7 及び 130.0 (d, J<sub>C-F</sub> = 6 Hz, 芳香族CH) ; 130.04 (芳香族CH) ; 130.3 (d, J<sub>C-F</sub> = 6 Hz, 芳香族CH) ; 132.6 (芳香族CH) ; 139.8 (d, J<sub>C-F</sub> = 7 Hz) ; 143.4 (d, J<sub>C-F</sub> = 7 Hz) ; 158.1, 160.5 及び 163.7 (d, J<sub>C-F</sub> = 240, C-F) ; 160.6 及び 163.8 (d, J<sub>C-F</sub> = 240, C-F) ; 170.5 (CONH<sub>2</sub>)。

【0419】

d) (IIc) を 0.12 重量% 含有する サフィナミドメタンスルホン酸塩 (Ic) の分取 HPLC による (IIa) の単離

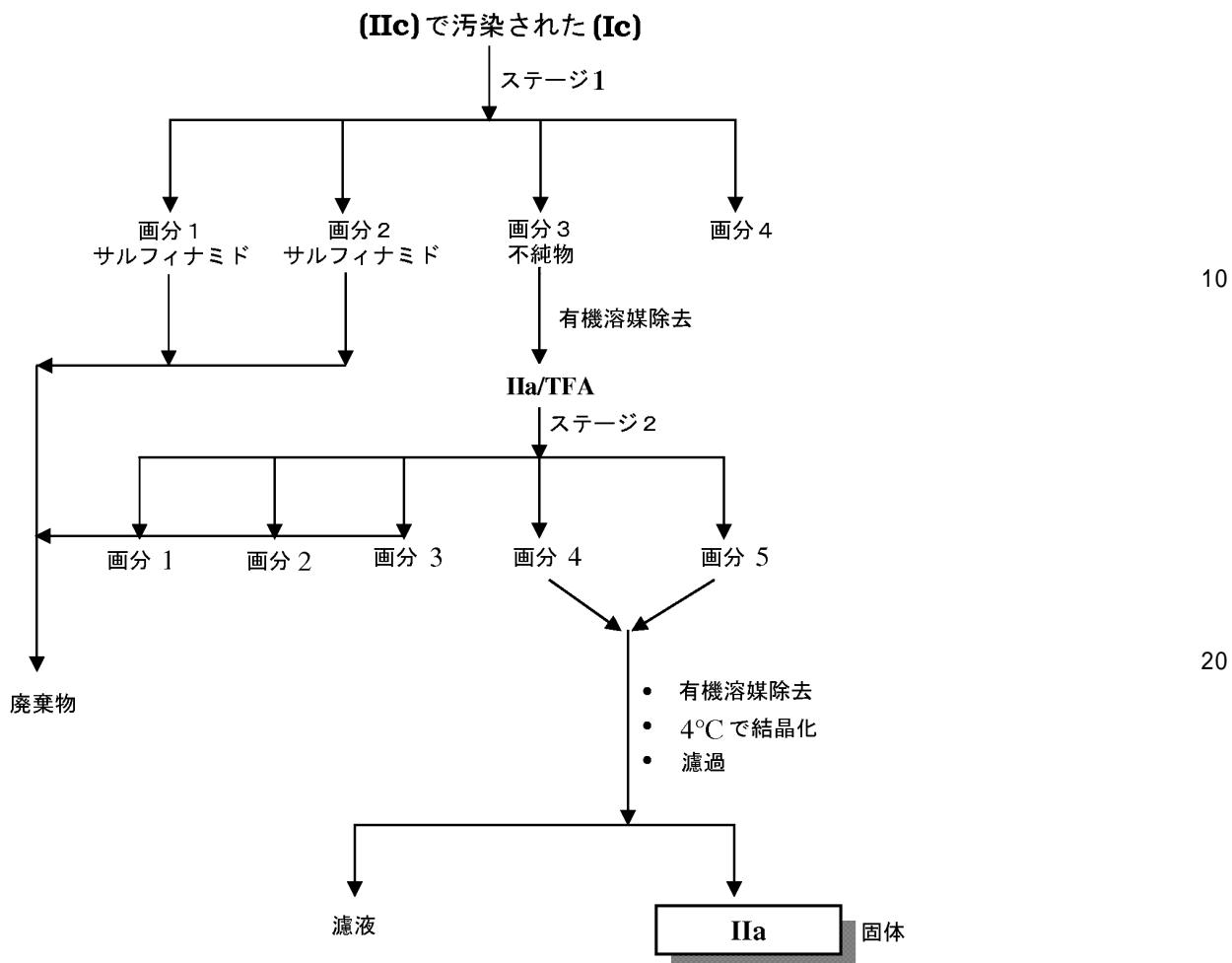
J. Med. Chem., 1998, 41, 579, Method A に従って調製した サフィナミドメタンスルホン酸塩 (Ic) は、不純物 (S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド (IIa) をメタンスルホン酸塩 (IIc) として 0.12 重量% 含有する。この サフィナミドメタンスルホン酸塩 (Ic) 200 g から、上記 (S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド (IIa) のサンプル (90 mg) を分取 HPLC によって単離することも行う。

【0420】

分離は下記スキームに従って 2 段階 (ステージ 1 およびステージ 2) で実施する。

【0421】

【化13】



【0422】

ステージ1

第1段階の目的は IIa / TFA (トリフルオロ酢酸) 含量の多い粗生成物を単離することである。

【0423】

分取 HPLC 条件は以下の通りである。

【0424】

分取 HPLC 条件 :

機器 : Waters Delta Prep 4000 (往復ポンプ、低圧ミキサー付き  
グラジエントコントローラー)

Radial Compression Module Prep LC Base (Waters)

Jasco 7125 可変波長UV検出器, o.p.0.2 mm

Merk D2000 プリンター - プロッター

カラム : Delta Pak C18, 15 μm, 40 x 100 mm (Waters)。

溶離液 A : 70 / 30, 水 / アセトニトリル + 0.1% TFA

溶離液 B : 30 / 70, 水 / アセトニトリル + 0.1% TFA

流速 : 27.0 ml / 分

勾配 : 40 分間, 100% A 一定 1 分間で 100% B

検出 : UV 227 nm

注入 : 水 50 ml 中 5 g (ポンプ入口側配管 D による)

50

## 【0425】

## ステージ2

この段階はTFAをIIa/TFAから除去し、IIaを更に精製するために必要である。

## 【0426】

以下の分取HPLC条件を使用してIIa/TFAをクロマトグラフィー精製する。

## 【0427】

画分4及び5を合わせ、アセトニトリルが完全に除去されるまで40で減圧蒸発させる。残留水溶液を4の冷蔵庫に保存する。不溶分を濾過により単離し、室温で減圧乾燥し、IIa(90mg; HPLC純度100%)を得る。

10

## 【0428】

分取HPLC条件：

機器：Waters Delta Prep 4000（往復ポンプ、低圧ミキサー付きグラジエントコントローラー）

Jasco 7125可変波長UV検出器, o.p.0.2mm

Merk D2000プリンター-プロッター

カラム：Symmetry C 18, 7μm, 20×250mm (Waters)

溶離液A：70/30, 水/アセトニトリル

溶離液B：30/70, 水/アセトニトリル

流速：15.0ml/min

20

勾配：20分間, 100%A一定 1分間で100%B

検出：UV 227nm

注入：不純物「IIa/TFA」溶液50ml（ポンプ入口側配管Dによる）

## 【0429】

（実施例19）

（R）-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩（II'c）の調製

上記化合物の遊離塩基を、実施例18bと同一の手順に従って、ただしL-アラニンアミド塩酸塩の代わりにD-アラニンアミド塩酸塩を用いて調製する。

## 【0430】

30

実施例18c)の手順に従って、（R）-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドをメタンスルホン酸塩に変換する。

## 【0431】

こうして、（II'c）を3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド（VIa）から収率50%で得る。

## 【0432】

<sup>1</sup>H-NMRデータ、<sup>13</sup>C-NMRデータに基づき、（II'c）の構造をこのようにして得られるメタンスルホン酸塩に割り当てる。<sup>1</sup>H-NMRスペクトル、<sup>13</sup>C-NMRスペクトル、およびm.p.196（キャピラリー）は、S-エナンチオマー（IIc）のものと完全に一致する（実施例18cを参照）。

40

## 【0433】

（実施例19A）

（R,S）-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩（IIc、II'c）の調製

実施例18a)で調製した2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドとラセミ体のアラニンアミド塩酸塩から、実施例18b)にある手順に従って、標記化合物を収率75%で調製する。

## 【0434】

こうして得られた（R,S）-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フル

50

オロベンジルオキシ) - ベンジルアミノ] プロパンアミドを、実施例 18c) にある手順によりメタンスルホン酸塩に変換する。収率 88%。

【0435】

キラルカラムでのHPLC分析(実施例 27D を参照)は、生成物のラセミ性と完全に一致する。

【0436】

(実施例 20)

不純物 3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド(VIa)を1重量%含有する4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド(IVa)からの(S) - 2 - [4 - 3 - フルオロベンジルオキシ] ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic)の調製

4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド(10g; GC純度 98.8、面積%)に、3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド1%を加え、実施例 12a)と同一の手順に従って、混合物を(S) - 2 - [4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ] プロパンアミドに変換する。収率は90%で、不純物(IIa)含量は0.88重量%(実施例 25B を参照)。

【0437】

実施例 12b)と同一の手順に従って、遊離塩基である(S) - 2 - [4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ] プロパンアミド(Ia)を対応するメタンスルホン酸塩に変換してメタンスルホン酸塩(Ic)を得る: 収率 96%、HPLCで測定(実施例 25B を参照)した不純物(S) - 2 - [3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) - ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩(IIc)含量 0.72重量%。

【0438】

(実施例 21)

不純物(IIc)をドープした(S) - 2 - [4 - 3 - フルオロベンジルオキシ] ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic)の結晶化

異なる5種類の溶媒系を用い、還流温度で溶解させて室温に冷却することにより、実施例 20 で調製したサフィナミドメタンスルホン酸塩のサンプルを結晶化させる。

【0439】

結果を以下の表 6 にまとめる。

【0440】

【表 6】

試験番号	溶媒系および量(mL/g)	結晶化後の(Ic)中の(IIc)%w/w(*)	%モル収率
21a	2-PrOH/MeOH 2:1, 45	0.35	42.3
21b	EtOAc/MeOH 4:1, 50	0.20	26.6
21c	EtOH, 10	0.37	71.2
21d	アセト-/H <sub>2</sub> O 約 27:1, 40.5	0.10	18.2
21e	アセトニトリル/H <sub>2</sub> O 60:1, 30.5	1.1	65.0

(\*)% (w/w) は実施例 25B に従って評価する。

【0441】

(実施例 22)

従来技術に記載された方法による(S) - 2 - [4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ] プロパンアミド(Ia)メタンスルホン酸塩(Ic)の調製

22.1 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド(IVa)の調製

22.1.a) US 6, 335, 354 B2 の実施例 1a の手順

US 6, 335, 354 B2 の実施例 1a に記載の手順により 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド(IVa)を製造する。

10

20

30

40

50

## 【0442】

即ち、3-フルオロベンジルクロリド(2.86g, 19.80mmol)と4-ヒドロキシベンズアルデヒド(3.03g, 24.80mmol)とK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(10.30g, 74.50mmol)とNaI(137.1mg, 0.91mmol)とエタノール(40mL)の混合物を70分間で還流温度まで加熱し、還流温度に4時間15分間維持する。

## 【0443】

反応混合物のワークアップ後、4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを黄色油状物として95%収率で単離する。

## 【0444】

生成物はGC純度97.6(面積%, 実施例25A参照)であり、GC(実施例25B参照)により測定した3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIa)含量0.14重量%である。

## 【0445】

22.1.b) J. Agric. Food Chem., 27, 4, 1979の手順  
J. Agric. Food Chem., 27, 4, 1979に報告されている手順により4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVa)を製造する。

## 【0446】

即ち、3-フルオロベンジルクロリド(14.5g, 100mmol)を4-ヒドロキシベンズアルデヒド(12.2g, 100mmol)とNaOH(4.0g, 100mmol)のエタノール(100mL)溶液に窒素雰囲気下で攪拌下に加える。

## 【0447】

混合物を25分間で還流温度まで徐々に加熱し、還流温度で6時間20分間攪拌する。反応混合物を濾過する後、減圧濃縮し、4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(23.43g)を黄色固体残渣として得る。ジクロロメタン(250mL)を残渣に加え、不溶分を濾過し、得られる溶液を減圧濃縮し、4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを黄色固体として80.4%収率で得る。生成物はGC純度91.6(面積%, 実施例24A参照)であり、GC(実施例25B参照)により測定した3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIa)含量0.13重量%である。

## 【0448】

22.2.(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ia)およびこのメタンスルホン酸塩(Ic)の調製

22.2.a) J. Med. Chem., 1998, 41, 579, method Aの手順

実施例22.1a.に記載したように製造する4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(10mmol)とL-アラニンアミド塩酸塩(1.37g, 11mmol)を反応させる後にNaBH<sub>3</sub>CN(0.50g, 8mmol)で還元することにより(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ia)を製造する。反応混合物のワークアップとフラッシュクロマトグラフィーによる精製後、(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドが白色固体として68.7%収率で単離される。生成物はHPLC純度96.2(面積%, 実施例25A参照)であり、(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIa)含量0.15重量%(実施例25B参照)である。

## 【0449】

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(1.50g, 4.96mmol)と酢酸エチル(40.2mL)の混合物を、透明な溶液になるまで50℃に加熱する。攪拌しながら、溶液に、メタンスルホン酸(0.53g, 5.51mmol)を15分で加え、得られる不均一混合物を、攪拌しながら90分で2

10

30

40

50

0 に冷却する。20 で30分後、固体を濾過して集め、酢酸エチル(6mL)で洗い、減圧下50 で15時間乾燥させて(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(Ic)を白色固体として得る(収率96.1%)。生成物は、HPLC純度が98.6(面積%、実施例25Aを参照)であり、HPLCで測定(実施例25Bを参照)した(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(IIc)含量が0.10重量%である。

【0450】

22.2.b) J. Med. Chem., 1998, 41, 579, method A の手順

実施例22.2.a.に記載したように製造する4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(10mmol)とL-アラニンアミド塩酸塩(1.37g, 11mmol)を反応させる後にNaBH<sub>3</sub>CN(0.50g, 8mmol)で還元することにより、実施例22.1.bに従って(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ia)を製造する。

【0451】

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ia)は白色固体として66.5%収率で得られる。生成物はHPLC純度88.5(面積%, 実施例25A参照)であり、HPLC(実施例25B参照)により測定した(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(IIa)含量0.064重量%である。実施例22.2.aに従ってメタンスルホン酸で処理することにより、(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ia)を対応するメタンスルホン酸塩(Ic)に88.9%収率で変換する。生成物はHPLC純度97.7(面積%, 実施例25A参照)であり、HPLC(実施例25B参照)により測定した(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(IIc)含量0.05重量%である。

【0452】

(実施例23)

従来技術に記載される方法法による(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(ラルフィナミド、Ib)メタンスルホン酸塩(Id)およびR-エナンチオマー(I'd)の調製

23.1.4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の調製

23.1.a) US 6,335,354 B2 の実施例1aの手順

実施例22.1.a.)に従い、2-フルオロベンジルクロリド(14.3g, 98mmol)と4-ヒドロキシベンズアルデヒド(15.1g, 123mmol)とK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(51g, 369mmol)とNaI(500mg, 3.3mmol)とエタノール75mLから4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)を製造する。

【0453】

混合物を12時間還流温度に維持する。反応混合物のワークアップ後、(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドが黄色油状物として75%収率で得られる。生成物はGC純度94.21(面積%, 実施例24A参照)であり、G.C.(実施例24B参照)により測定した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド含量0.39重量%である。

【0454】

23.1.b) J. Agric. Food Chem., 27, 4, 1979 の手順

実施例22.1.bに従い、2-フルオロベンジルクロリド(18.0g, 123mmol)と4-ヒドロキシベンズアルデヒド(15.3g, 125mmol)とNaOH(5.0g, 12mmol)とエタノール(125mL)から4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)を製造する。

10

20

30

40

50

## 【0455】

混合物を25分間で還流温度まで加熱し、攪拌下で還流温度に12時間維持する。

## 【0456】

反応混合物を実施例22.1.bに従ってワークアップ後、4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドが黄色固体として90.0%収率で得られる。生成物はHPLC純度90.4(面積%，実施例24A参照)であり、G.C.(実施例24B参照)により測定した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(VIb)含量0.14重量%である。

## 【0457】

23.2.(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ib)およびこのメタンスルホン酸塩(Id)の調製 10

23.2.a) J. Med. Chem., 1998, 41, 579, method A の手順

4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドの代わりに4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(10mmol, 実施例23.1aに記載したように製造)を使用した以外は実施例22.2.aの手順に従い、(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ib)を製造する。

## 【0458】

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドは白色固体として67.3%収率で得られる。生成物はHPLC純度86.7(面積%，実施例25A参照)であり、HPLC(実施例25B参照)により測定した(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(IId)含量0.22重量%である。 20

## 【0459】

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(1.50g, 4.96mmol)とプロパン-2-オール(10.5mL)の混合物を50まで加熱し、透明な溶液が得られるまでこの温度に維持する。攪拌下にメタンスルホン酸(0.48g, 5.01mmol)を15分間加える。

## 【0460】

次に不均一混合物を攪拌下に2時間で20まで冷却する。20で1時間後に固形分を濾取し、減圧乾燥し、(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩を白色固体として89.1%収率で得る。生成物はHPLC純度96.9(面積%，実施例25A参照)であり、HPLC(実施例25B参照)により測定した(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(IId)含量0.14重量%である。 30

## 【0461】

23.2.b) J. Med. Chem., 1998, 41, 579, method A の手順

4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドの代わりに4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(10mmol, 実施例23.1.bに従って製造)を使用することにより、実施例22.2.bに従って(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ib)を製造する。 40

## 【0462】

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドは白色固体として58.8%収率で得られる。生成物はHPLC純度83.8(面積%，実施例25A参照)であり、HPLC(実施例25B参照)により測定した(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(IId)含量0.15重量%である。

## 【0463】

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ib)を対応するメタンスルホン酸塩(Id)に白色固体として89.4%収率で変換する。生成物はHPLC純度95.2(面積%，実施例25A参照)であり、HPLC(実施例25B参照)により測定した(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量0.11重量%である。

【0464】

23.3 特許出願WO2006/027052の手順による(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'b)およびこのメタンスルホン酸塩(I'd)の調製

a) 250mLガラス反応器に、窒素下攪拌しながら室温で、無水メタノール(109mL、水0.01%含有)(混合物pH=7.30)、D-アラニンアミド(alanineamide)塩酸塩(3g；24mmol)(Nova Biochem A36136821)(混合物pH=3.98)、トリエチルアミン(2.43g；24mmol)、4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(5.06g、22mmol、実施例(23.1a)に記載の通りに調製、GC純度94.21(面積%、実施例24Aを参照)およびG.Cで測定(実施例24Bを参照)した3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド含量0.39%)(混合物pH=8.60)、および3モレキュラーシーブ(2.19g)を入れていく。混合物を40まで加熱し、この温度で4時間攪拌する。それから反応温度を10に下げて(混合物pH8.24)、水素化ホウ素ナトリウム(0.42g、11mmol)を15分で少しづつ加える。反応混合物を攪拌しながら室温まで昇温させ、室温でさらに6時間攪拌する。反応混合物をろ過し、減圧下乾固するまでエバポレートする。残渣を60の水(80mL)およびトルエン(70mL)に取り、有機相を分離して水(80mL)を加える。二相混合物を攪拌しながら60に温める。有機相を分離して水(80mL)を加える。二相混合物を攪拌しながら60に温める。60で、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させる。水相を1つにまとめる(溶液A、約240mL)。トルエン混合物を濾過し、溶液を徐々に10に冷却する。窒素下10で3時間、混合物の攪拌を続ける。混合物をろ過し、固体を冷(10)トルエン(10mL)で洗い、減圧下室温で乾燥させて(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'b)2.13g(7.1mmol；収率32%)を白色結晶として得る。

【0465】

生成物は、HPLC純度が98.00(面積%、実施例25Aを参照)であり、HPLCで測定(実施例25Bを参照)した(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'I'b)含量が0.15重量%である。

【0466】

キラルHPLCカラムで測定したエナンチオマー比R:S=99.6:0.4(面積%、実施例26Bを参照)。

【0467】

トルエン母液とトルエン洗液を1つにまとめて、ロータリーエバポレーターで溶液を減圧濃縮し、黄色残渣(1.97g)を得る。

【0468】

残渣をメタノール(30mL)に溶解し、溶液中に存在する既知の化学種について、HPLCにより、外部標準に対して定量的に測定する(実施例25Aを参照)：

(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'b)(0.81g；2.7mmol)；

4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(0.16g；0.7mmol)；

4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアルコール(0.53g；2.2mmol)；

50

1) ;

その他定量できない不純物である。

【0469】

(I' b) HPLC 純度は 28.65% (面積%、実施例 25A を参照) である。

【0470】

ロータリーエバポレーターで水溶液 A を減圧濃縮し残渣を得る。残渣をメタノール (30 mL) に懸濁させ、ろ過し、溶媒を減圧下エバポレートして残渣 (4.5 g) を得る。この残渣をメタノール (30 mL) に溶解し、溶液中に存在する既知の化学種について、HPLC により、外部標準に対して定量的に測定する (実施例 25A を参照) :

(R) - 2 - [4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ] プロパンアミド 10  
(I' b) (0.69 g; 2.3 mmol);

4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド (0.07 g; 0.3 mmol);

4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアルコール (0.06 g; 0.2 mmol);

その他定量できない不純物である。

【0471】

(I' b) HPLC 純度は 53.87% (面積%、実施例 25A を参照) である。

【0472】

上記の通り、生成した (I' b) の合計量は 3.63 g; 12.1 mmol; 収率 55% である。物質収支は、投入した 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒドの約 90% になる。

【0473】

b) (R) - 2 - [4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ] プロパンアミド (1.28 g; 4 mmol) (純度 98.00%、工程 a) に従って調製、(R) - 2 - [3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) - ベンジルアミノ] プロパンアミド (II' b) 含量 0.15 重量% を酢酸エチル (21 mL) に溶解し、室温で攪拌しながらこの溶液に、メタンスルホン酸 (0.27 mL) の酢酸エチル (5 mL) 溶液を滴下する。1 時間後、白色結晶を濾過して単離し、酢酸エチル (3 mL) で洗い、減圧下乾燥させて、標記化合物 1.40 g (収率 86%) を得る。

【0474】

この生成物は、HPLC 純度が 99.25 (面積%、実施例 25A を参照) であり、HPLC で測定 (実施例 25B を参照) した (R) - 2 - [3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンジルアミノ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩 (II' d) 含量が 0.07 重量% である。

【0475】

上記の調製を下記の通りさらに大きな規模で繰り返した:

a 1) 50 L ガラス反応器に、窒素下室温で攪拌しながら、乾燥メタノール 21.43 L (水 0.01% 含有)、D - アラニンアミド塩酸塩 (589.9 g; 4.72 mol)、トリエチルアミン (477.8 g; 4.72 mol)、4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド (1000 g; 4.33 mol、実施例 23.1 a) に記載の通りに調製、GC 純度 93.20 (面積%、実施例 24A を参照) および GC で測定 (実施例 24B を参照) した 3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ) ベンズアルデヒド含量 0.43%、および 3 モレキュラーシーブ (430.62 g) を入れていく。混合物を 40 に加熱し、この温度で 4 時間攪拌する。それから反応温度を 10 に下げる、水素化ホウ素ナトリウム (82.58 g; 2.16 mol) を 30 分で少しづつ加える。反応混合物を攪拌しながら室温まで昇温させ、20 ± 2 でさらに 6 時間攪拌する。反応混合物をろ過し、減圧下乾固するまでエバポレートする。残渣を 60 の水 (16 L) およびトルエン (14 L) に取り、有機相を分離して水 (16 L) を加える。2 相混合物を攪拌しながら 60 ± 2 に温める。有機相を分離して水 (16 L) 50

)を加える。2相混合物を攪拌しながら60±2に温める。減圧下約60で、有機相を共沸蒸留により乾燥させる。水相を1つにまとめる(溶液A、約50L)。トルエン溶液を徐々に10に冷却する。混合物を窒素下10±2で4時間攪拌する。混合物を濾過し、ケーキを冷(10)トルエン(2L)で洗い、減圧下室温で乾燥させて、(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'b)393.3g(1.31mol; 収率30.3%)を白色固体として得る。

#### 【0476】

この生成物は、HPLC純度が97.70(面積%、実施例25Aを参照)であり、HPLCで測定(実施例25Bを参照)した(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'I'b)含量が0.16重量%である。

#### 【0477】

キラルHPLCカラムで測定したエナンチオマー比R:S=99.5:0.5(面積%、実施例26Bを参照)。

#### 【0478】

b1)工程a1)に従って調製した(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド393.3g(1.31mol、GC純度97.70(面積%、実施例24Aを参照)およびCGで測定(実施例24Bを参照)した(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'I'b)含量0.16重量%)を酢酸エチル(6.5L)に溶解し、攪拌しながら室温で、この溶液にメタンスルホン酸(83mL)の酢酸エチル(1.5L)溶液を加える。1時間後、白色結晶を濾過して単離し、酢酸エチル(3mL)で洗い、減圧下乾燥させて標記化合物420.1g(収率84%)を得る。

#### 【0479】

この生成物は、HPLC純度が99.15(面積%、実施例25Aを参照)であり、HPLCで測定(実施例25Bを参照)した(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)-ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩(I'I'd)含量が0.08重量%である。

#### 【0480】

上記のデータは、WO2006/027052に開示される方法で最終生成物として回収されない化合物(I'b)の量(上記の工程a)の下を参照)を考慮に入れたとしても、この収率は化合物(I'b)の工業規模での製造には満足いくものではないことを示す。

#### 【0481】

##### (実施例24A)

4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVa)および4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド(IVb)の純度のGC測定。

#### 【0482】

##### 試験調製物

サンプル約100mgを塩化メチレン10mLに溶かす。

#### 【0483】

##### クロマトグラフィー条件

クロマトグラフィー手順は下記条件を使用することにより実施する。

- 長さ60m及び内径0.32mmの溶融シリカキャピラリーカラムRTX35(35%ジフェニル-65%ジメチルポリシロキサン)、膜厚=0.25μm;
- キャリヤーガスとして圧力150kPaのヘリウムガス;
- スプリット流速25mL/分;
- インジェクター温度290;
- 検出器(FID)温度290;

以下の温度プログラムを使用する。

10

20

30

40

50

【0484】

【表7】

時間(分)	温度(°C)	速度(°C/分)	摘要
0~5	150	-	恒温
5~11	150→240	15	直線勾配
11~19	240	-	恒温
19~20.7	240→290	30	直線勾配
20.7~40	290	-	恒温

10

【0485】

手順

試験調製物  $1\text{ }\mu\text{l}$  を注入する。クロマトグラムを記録し、面積百分率計算により生成物純度を計算する。

【0486】

不純物同定

4 - (3 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (IVa) :

保持時間 :

4 - (3 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド保持時間は約 1.7 である。

4 - ヒドロキシベンズアルデヒド相対保持時間は約 0.52 である。 20

4 - (2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド相対保持時間は約 0.98 である

。

4 - (4 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド相対保持時間は約 1.01 である

。

4 - ベンジルオキシベンズアルデヒド相対保持時間は約 1.02 である。

3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド相対保持時間は約 1.78 である。

4 - (2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (IVb) :

保持時間 :

4 - (2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド保持時間は約 1.7 である。 30

4 - ヒドロキシベンズアルデヒド相対保持時間は約 0.53 である。

4 - (3 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド相対保持時間は約 1.02 である

。

4 - (4 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド相対保持時間は約 1.03 である

。

4 - ベンジルオキシベンズアルデヒド相対保持時間は約 1.04 である。

3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド相対保持時間は約 1.81 である。

【0487】

(実施例24B)

4 - (2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (IVb) 中の 3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (VIb) 含量および 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (IVa) 中の 3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド (VIa) 含量の GC 測定

4 - (2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドについて検討した公知近縁物質は 3 - (2 - フルオロベンジル) - 4 - (2 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドとし、4 - (3 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドについては 3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - (3 - フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドを検討する。以下の条件に従って測定を行う。

40

50

## 【0488】

## 内部標準溶液

塩化メチレン中濃度1.5mg/mlの3,4,5-トリメトキシベンズアルデヒド溶液を調製する(1S)。

## 【0489】

4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドにおける3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド測定用参照溶液：

3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド参照標準約20mgと4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド参照標準20mgを20mL容量フラスコで正確に計量し、希釀剤で定容に溶解及び希釀し、この溶液500μLを5mL容量フラスコに移し、1S溶液500μLを加え、希釀剤で定容に希釀し、3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド及び4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド約100μg/mL(約0.10%に対応)を含有する溶液を得る。

## 【0490】

4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドにおける3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド測定用参照溶液：

3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド参照標準約20mgと4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド参照標準20mgを20mL容量フラスコで正確に計量し、希釀剤で定容に溶解及び希釀し、この溶液500μLを5mL容量フラスコに移し、1S溶液500μLを加え、希釀剤で定容に希釀し、3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド及び4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド約100μg/mL(約0.10%に対応)を含有する溶液を得る。

## 【0491】

## 試験溶液：

試験生成物約500mgを5mL容量フラスコで正確に計量し、1S溶液500μLを加え、希釀剤で定容に溶解及び希釀し、約100mg/mLの既知濃度の溶液を得る。

## 【0492】

## クロマトグラフィー条件

30

クロマトグラフィー手順は以下の条件で実施する：

カラム：溶融シリカキャピラリーカラムRTX35(35%ジフェニル-65%ジメチルポリシロキサン)、長さ60m、内径0.32mm、膜厚0.25μm；

圧力150kPaのキャリヤー(ヘリウム)；

スプリット流速25mL/分；

インジェクター温度290；

検出器(FID)温度290；

温度プログラム：0~5分は150恒温、5~11分は速度15/分で150から240まで直線上昇、11~19分は240恒温、19~21分は速度30/分で240から290まで直線上昇、21~40分は290恒温；

希釀剤：塩化メチレン；

注入容量1μL。

40

## 【0493】

## 手順：

プランク(希釀剤)、参照溶液、試験溶液を注入し、クロマトグラムを記録する。

4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド保持時間が約18分であり；

3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド相対保持時間が約1.7であるか、又は

4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド保持時間が約18分であり；

3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド

50

相対保持時間が約 1.7 であることを参考クロマトグラムで確認する。

3, 4, 5-トリメトキシベンズアルデヒド (IS) 相対保持時間は約 0.7 である。

試験した 4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドにおける 3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒド又は試験した 4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドにおける 3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドの含量百分率を内部標準計算により計算する。

#### 【0494】

(3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドと 3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンズアルデヒドの定量限界 (LOQ) 値は 0.005 重量% である。検討する両者不純物の検出限界 (LOD) 値は 0.0025 重量% である。

10

#### 【0495】

##### (実施例 25 A)

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド (サフィナミド) (Ia) とそのメタンスルホン酸塩 (Ic)、(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド (Ib) とそのメタンスルホン酸塩 (Id) の純度の HPLC 測定

以下のクロマトグラフィー手順は生成物の遊離塩基形態 (Ia, Ib) 及びメタンスルホン酸塩 (Ic, Id) の両者に適している。

20

#### 【0496】

##### 希釈剤

##### 移動相

##### 試験溶液

生成物約 2.5 mg を 2.5 ml 容量フラスコで正確に計量し、希釈剤で定容に溶解及び希釈し、約 1.0 mg / ml の既知濃度の溶液を得る。

#### 【0497】

##### クロマトグラフィー条件

クロマトグラフィー手順は下記条件を使用することにより実施する。

- カラム : Waters Symmetry C8, 150 x 4.6 mm, 5 µm;

30

- 検出 : UV 220 nm;

- カラム温度 : 30 °C;

- 移動相 : 4.0% 溶媒 A + 1.0% 溶媒 B + 5.0% 溶媒 C に 1.0 g / l オクタンスルホン酸ナトリウムを添加;

溶媒 A : 緩衝液 = 0.05 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;

溶媒 B : アセトニトリル;

溶媒 C : メタノール;

- アイソクラティック溶出, 試験時間 : 60 分;

- 流速 : 1.0 ml / 分;

- 注入容量 : 10 µl。

40

#### 【0498】

##### 手順

試験溶液を注入し、クロマトグラムを記録し、生成物純度を面積百分率計算により計算する。

#### 【0499】

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド (サフィナミド) 及び近縁不純物同定

##### 保持時間 :

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド保持時間は約 5.5 分である。

50

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロピオン酸相対保持時間は約0.73である。

(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド相対保持時間は約4.08である。

### 【0500】

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(ラルフィナミド)及び近縁不純物同定

保持時間：

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド保持時間は約5.5分である。

10

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロピオン酸相対保持時間は約0.73である。

(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド相対保持時間は約4.08である。

### 【0501】

R-エナンチオマー(I'a)、(I'b)、(I'c)、(I'd)およびそれぞれのラセミ混合物中のC,O-ジベンジル化不純物(II'a)、(II'b)、(II'c)、(II'd)およびそれぞれのラセミ混合物の測定のため、同一の手順および参照値を用いる。

### 【0502】

(実施例25B)

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基Ib及びメタンスルホン酸塩Id)における(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基IIb及びメタンスルホン酸塩IId)と(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基Ia及びメタンスルホン酸塩Ic)における(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基IIa及びメタンスルホン酸塩IIc)のHPLC測定

以下の条件に従い、(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基及びメタンスルホン酸塩)サンプルにおける(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基及びメタンスルホン酸塩)と(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基及びメタンスルホン酸塩)サンプルにおける(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基及びメタンスルホン酸塩)の測定を実施する。

30

### 【0503】

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドにおける(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド測定用参照溶液：

40

(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩参照標準約30mgと(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド参照標準20mgを50mL容量フラスコで正確に計量し、希釈剤で定容に溶解及び希釈し、この溶液1.0mLを希釈剤で20mLまで希釈し(第1回希釈)し、この希釈液1.0mLを希釈剤で20mLまで希釈し(第2回希釈)、2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(約0.12%)約1.20μg/mLと(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩約1.00μg/mL(約0.10%)を含有する溶液

50

を得る。

【0504】

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩における(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩測定用参考溶液：

(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩参考標準約30mgと(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩参考標準20mgを50mL容量フラスコで正確に計量し、希釈剤で定容に溶解及び希釈し、この溶液1.0mLを希釈剤で20mLまで希釈し(第1回希釈)し、この希釈液1.0mLを希釈剤で20mLまで希釈し(第2回希釈)、2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(メタンスルホン酸塩として約0.15%)約1.20μg/mLと(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩約1.00μg/mL(約0.10%)を含有する溶液を得る。

【0505】

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドにおける(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド測定用参考溶液：

(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド参考標準約24mgと(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド参考標準20mgを50mL容量フラスコで正確に計量し、希釈剤で定容に溶解及び希釈し、この溶液1.0mLを希釈剤で20mLまで希釈し(第1回希釈)し、この希釈液1.0mLを希釈剤で20mLまで希釈し(第2回希釈)、2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(約0.12%)約1.20μg/mLと(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩約1.00μg/mL(約0.10%)を含有する溶液を得る。

【0506】

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩における(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩測定用参考溶液：

(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド参考標準約24mgと(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩参考標準20mgを50mL容量フラスコで正確に計量し、希釈剤で定容に溶解及び希釈し、この溶液1.0mLを希釈剤で20mLまで希釈し(第1回希釈)し、この希釈液1.0mLを希釈剤で20mLまで希釈し(第2回希釈)、2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(メタンスルホン酸塩として約0.15%)約1.20μg/mLと(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩約1.00μg/mL(約0.10%)を含有する溶液を得る。

【0507】

試験溶液：

試験生成物約25mgを25mL容量フラスコで正確に計量し、希釈剤で定容に溶解及び希釈し、約1.0mg/mLの既知濃度の溶液を得る。

【0508】

クロマトグラフィー条件：

10

20

30

40

50

クロマトグラフィー手順は下記条件を使用することにより実施する。

- カラム: Waters Symmetry C8 150 x 4.6 mm, 5 μm、又は同等装置；

- カラム温度: 30 °C;

- 移動相: 40% 溶媒 A: 10% 溶媒 B: 50% 溶媒 C の混合物に 1 g / l オクタンスルホン酸ナトリウムを添加；

溶媒 A: 緩衝液 0.05 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;

溶媒 B: アセトニトリル;

溶媒 C: メタノール;

- アイソクラティック溶出;

- 試験時間: 60 分;

- 流速: 1.0 mL / 分;

- 検出: UV 220 nm;

- 注入容量: 100 μl;

- 希釈剤: 移動相。

#### 【0509】

手順:

プランク(希釈剤)、参照溶液、試験溶液を注入し、クロマトグラムを記録する。

参照クロマトグラムで以下のシステム適合性パラメーターを確認する:

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド保持時間が約 5.2 分であり;

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドピークの USP テーリングが 0.8 ~ 1.5 であり;

(S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド相対保持時間が約 5.1 であるか、又は

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド保持時間が約 5.5 分であり;

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドピークの USP テーリングが 0.8 ~ 1.5 であり;

(S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド相対保持時間が約 4.1 である。

#### 【0510】

システム適合性が得られるように移動相を調節する。

#### 【0511】

試験した (S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基及びメタンスルホン酸塩)サンプルにおける (S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基及びメタンスルホン酸塩)と試験した (S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基及びメタンスルホン酸塩)サンプルにおける (S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基及びメタンスルホン酸塩)の含量百分率を外部標準計算により計算する。

#### 【0512】

対応する (S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド及び (S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドにおける (S)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド及び (S)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの定量限界 (LOQ) 値は 0.004 重量% である。対応する (S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩及び (S)

10

20

30

40

50

- 2 - [ 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩における ( S ) - 2 - [ 3 - ( 2 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩及び ( S ) - 2 - [ 3 - ( 3 - フルオロベンジル ) - 4 - ( 3 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩の定量限界 ( L O Q ) 値は 0 . 0 0 5 重量 % である。検討する全不純物の検出限界値は 0 . 0 0 1 重量 % である。

#### 【 0 5 1 3 】

( 実施例 2 6 A )

( S ) - 2 - [ 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミド

( I b ) およびこのメタンスルホン酸塩 ( I d ) のエナンチオマー純度の H P L C 測定

サンプルのエナンチオマー純度を H P L C により評価する。測定は以下の条件に従って実施する :

標準溶液 1 :

( R ) - 2 - [ 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩参照標準約 5 . 3 m g を移動相 2 5 m L に溶解。

#### 【 0 5 1 4 】

標準溶液 2 :

( S ) - 2 - [ 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩参照標準約 8 . 0 m g と 0 . 2 m L の標準溶液 1 を移動相 5 0 m L に溶解。

#### 【 0 5 1 5 】

( S ) - 2 - [ 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩の濃度に対する ( R ) - 2 - [ 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩の濃度は、計算上約 0 . 5 % である。

#### 【 0 5 1 6 】

試験溶液 1 および 2 :

試験生成物約 8 . 0 m g を移動相 5 0 m L に溶解したものを 2 本調製する。

#### 【 0 5 1 7 】

クロマトグラフィー条件 :

カラム : C h i r a l p a k W H 2 5 0 m m × 4 . 6 m m 、 内径 5  $\mu$  m ;

カラム温度 : 4 5 ;

移動相 : 0 . 2 5 m M の C u S O <sub>4</sub> ( C u S O <sub>4</sub> 約 4 0 m g を正確に計量し、水 1 0 0 0 m L に溶かす ) / M e O H 6 0 / 4 0 ;

均一濃度溶出 ;

流速 : 1 . 0 m L / 分 ;

検出 : U V 2 3 0 n m ;

注入体積 : 1 0  $\mu$  L ;

実行時間 : 1 5 分。

#### 【 0 5 1 8 】

手順 :

プランク ( 移動相 ) を 1 回、標準溶液 2 を 2 回、試験溶液 1 および 2 を 1 回分析して、以下を確認する。

#### 【 0 5 1 9 】

標準溶液の注入については、( R ) - 2 - [ 4 - ( 2 - フルオロベンジルオキシ ) ベンジルアミノ ] プロパンアミドメタンスルホン酸塩の面積百分率について参照標準測定百分率 ( R S D % ) が 2 . 0 % 未満であること ;

標準溶液とサンプル溶液の両者については、注入ごとに主ピーク面積百分率が平均値  $\pm$  0 . 1 % に含まれること。

#### 【 0 5 2 0 】

10

20

30

40

50

(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量(面積%)を2回の測定の平均として計算する。

【0521】

保持時間：

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの保持時間は約5.7分である。

【0522】

(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの相対保持時間は約1.7である。

【0523】

対応するラセミ(R,S)化合物(Ib、I'b)および(Id、I'd)のS異性体比を測定するのにもこの方法を用いる。

【0524】

(実施例26B)

(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'b)およびこのメタンスルホン酸塩(I'd)のエナンチオマー純度のHPLC測定

サンプルのエナンチオマー純度をHPLCにより評価する。測定は以下の条件に従って実施する：

標準溶液1：

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩参照標準約5.3mgを移動相25mLに溶解。

【0525】

標準溶液2：

(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩約8.0mgと0.2mLの標準溶液1を移動相50mLに溶解。

【0526】

(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩の濃度に対する(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩の濃度は、計算上約0.5%である。

【0527】

試験溶液1および2：

試験生成物約8.0mgを移動相50mLに溶解したものを2本調製する。

【0528】

クロマトグラフィー条件：

カラム：Chiral pak WH 250mm×4.6mm、内径5μm；

カラム温度：45；

移動相：0.25mMのCuSO<sub>4</sub>(CuSO<sub>4</sub>約40mgを正確に計量し、水100mLに溶かす)/MeOH 60/40；

均一濃度溶出；

流速：1.0mL/分；

検出：UV 230nm；

注入体積：10μL；

実行時間：15分。

【0529】

手順：

プランク(移動相)を1回、標準溶液2を2回、試験溶液1および2を1回分析して、以下を確認する。

【0530】

10

20

30

40

50

標準溶液の注入については、(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩の面積パーセントについてRSD%が2.0%未満であること；

標準溶液とサンプル溶液の両者については、注入ごとに主ピーク面積百分率が平均値±0.1%に含まれること。

【0531】

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドメタンスルホン酸塩含量(面積%)を2回の測定の平均として計算する。

【0532】

保持時間：

(R)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの保持時間は約9.69分である。

【0533】

(S)-2-[4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの相対保持時間は約0.58である。

【0534】

対応するラセミ(R,S)化合物(Ib、I'b)および(Id、I'd)のR異性体比を測定するのにもこの方法を用いる。

【0535】

(実施例24A)

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(Ia)およびこのメタンスルホン酸塩(1c)のエナンチオマー純度のHPLC測定

サンプルのエナンチオマー純度をHPLCにより評価する。測定は以下の条件に従って実施する。

【0536】

試験溶液：

試験サンプル約10mgを移動相10mLに溶解。

【0537】

クロマトグラフィー条件：

カラム：Chirald pak WH 250mm×4.6mm、内径10μm；

カラム温度：50；

移動相：0.25mMのCuSO<sub>4</sub>；

均一濃度溶出；

流速：1.0mL/分；

検出：UV 200nm；

注入体積：10μL；

実行時間：30分。

【0538】

手順：

試験溶液を注入し、エナンチオマーピーク応答を面積パーセントとして計算する。

【0539】

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの保持時間は約9.2分である。

【0540】

(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの相対保持時間は約1.9である。

【0541】

対応するラセミ(R,S)化合物(Ia、I'a)および(Ic、I'c)のS異性体比を測定するのにもこの方法を用いる。

【0542】

10

20

30

40

50

## (実施例 27B)

(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(I'a)およびこのメタンスルホン酸塩(I'c)のエナンチオマー純度のHPLC測定

サンプルのエナンチオマー純度をHPLCにより評価する。測定は以下の条件に従って実施する。

## 【0543】

## 試験溶液：

試験サンプル約10mgを移動相10mLに溶解。

## 【0544】

## クロマトグラフィー条件：

カラム：Chiral pak WH 250mm × 4.6mm、内径10μm；

カラム温度：50；

移動相：0.25mMのCuSO<sub>4</sub>；

均一濃度溶出；

流速：1.0mL/分；

検出：UV 200nm；

注入体積：10μl；

実行時間：30分。

10

## 【0545】

## 手順：

試験溶液を注入し、エナンチオマーピーク応答を面積パーセントとして計算する。

20

## 【0546】

(R)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの保持時間は約17.48分である。

## 【0547】

(S)-2-[4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミドの相対保持時間は約0.56である。

## 【0548】

対応するラセミ(R,S)化合物(Ia、I'a)および(Ic、I'c)のR異性体比を測定するにもこの方法を用いる。

30

## 【0549】

## (実施例 27C)

(S)および(R)-2-[3-(2-フルオロベンジル)-4-(2-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基IIb、およびメタンスルホン酸塩IIId)のエナンチオマー純度のHPLC測定

## 試験溶液

20mLメスフラスコ中、正確に計量した試験物質約20.0mgを移動相に溶解し希釈して20mLにする。

## 【0550】

40

## クロマトグラフィー条件

クロマトグラフィー手順は以下を用いて実施する：

カラム：

CHIRALPAK AD-H 25cm × 4.6mm

移動相：

80%溶媒A：n-ヘキサン

20%溶媒B：n-エタノール

0.3%ジエチルアミン(DEA)

流速：

0.8mL/分

50

検出：

UV 240 nm

注入体積：

10 μL

実行時間：

20分

手順

試料溶液を注入してクロマトグラムを記録する。

## 【0551】

エナンチオマーの割合を面積%として計算する

10

エナンチオマーS : RT = 7.298

エナンチオマーR : RT = 7.617

RT比 = 1.04

対応するラセミ化合物(IId、II'd)および(IIb、II'b)のS/R異性体比を測定するのにもこの方法を用いる。

## 【0552】

(実施例27D)

(S)および(R)-2-[3-(3-フルオロベンジル)-4-(3-フルオロベンジルオキシ)ベンジルアミノ]プロパンアミド(遊離塩基IIa、およびメタンスルホン酸塩IIc)のエナンチオマー純度のHPLC測定

20

試験溶液

20mLメスフラスコ中、正確に計量した試験物質約20.0mgを移動相に溶解し希釈して20mLにする。

## 【0553】

クロマトグラフィー条件

クロマトグラフィー手順は以下を用いて実施する：

カラム：

CHIRALPAK AD-H 25cm × 4.6mm

移動相：

80%溶媒A : n-ヘキサン

30

20%溶媒B : n-エタノール

0.3%ジエチルアミン(DEA)

流速：

0.8mL/分

検出：

UV 240 nm

注入体積：

10 μL

実行時間：

20分

40

手順

試料溶液を注入してクロマトグラムを記録する。

## 【0554】

エナンチオマーの割合を面積%として計算する

エナンチオマーS : RT = 8.211

エナンチオマーR : RT = 8.714

RT比 = 1.061

対応するラセミ化合物(IIa、II'a)および(IIc、II'c)のS/R異性体比を測定するのにもこの方法を用いる。

## 【0555】

50

## (実施例 28)

## チトクローム P 450 アッセイ

CYP 代謝後に蛍光発光する特異的基質を使用して薬剤代謝に関する最も重要な 5 種類のチトクローム P 450 アイソフォーム (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4) の阻害を測定した (Gentest Kit アッセイ)。

## 【0556】

インキュベーション / NADPH 再生用緩衝液を加える 96 ウェルプレートで化合物を試験した。特異的ヒト組換えアイソザイム及び基質を加え、37 で CYP1A2 / CEC は 15 分間、CYP2E1 / MFC は 40 分間、CYP2C9 / MFC は 45 分間、その他の CYP450 は 30 分間インキュベートした。 10

## 【0557】

特異的基質としては、

3 - シアノ - 7 - エトキシクマリン (CYP2C19 及び CYP1A2)、  
7 - メトキシ - 4 - トリフルオロメチルクマリン (CYP2C9)、  
3 - [2 - (N, N - デイチル - N - メチルアミノ)エチル] - 7 - メトキシ - 4 - メチルクマリン (CYP2D6)、  
ベンジルフェニルクマリン (CYP3A4) を使用する。

## 【0558】

適切な発光 / 励起波長に設定した Victor プレートリーダー (Perkin Elmer) でプレートを読み取り、IC<sub>50</sub> (酵素活性を 50 % 阻害する濃度) を測定した。結果を表 1 及び 2 に報告する。 20

## 【0559】

## (実施例 29)

## ヒト神経芽細胞腫細胞株 SH - SY - 5Y における細胞毒性アッセイ

ゼロ時点において、96 ウェルプレートで DMEM 増殖培地 + 10 % 熱不活化 FBS + 2 mM 1 - グルタミン + 100 U / mL - 100 µg / mL ペニシリン / ストレプトマイシンに細胞 1.10<sup>4</sup> 個 / cm<sup>2</sup> を播種した。

## 【0560】

サブコンフルエント増殖期で 72 時間後に培地を除去し、神経細胞培養用基礎培地 180 µl + 2 mM 1 - グルタミン (Life Technologies) 中で試験化合物 (20 µl, 少なくとも 5 種類の濃度で 3 回ずつ) の存在下又は不在下に細胞を 24 時間 37 でインキュベートした。 30

## 【0561】

インキュベーション後に Alamar Blue 色素 (AlamarBlue (TM) Assay Kit, Promega) 20 µl を細胞培養液に直接加える。

## 【0562】

4 時間後に、Tecan Spectrafloor プレートリーダーを使用して 530 nm 励起及び 595 nm 発光波長の蛍光を測定することにより細胞毒性を評価する。 53

## 【0563】

処理前後に、Image Analyzer (Image Pro Plus, 5.1) に連動させた Olympus IX70 倒立型光学顕微鏡により培養液を顕微鏡モニターリングし、細胞形態を評価する。 40

## 【0564】

死亡率の 50 % を誘発する濃度として結果を表 1 に報告する。

## 【0565】

## (実施例 30)

## トランスフェクトした CHO 細胞株における HERG 電流

組換え HERG チャネルを安定に発現する CHO 細胞で HERG 電流の阻害を試験した。  
。

## 【0566】

H E R G 電流に及ぼす試験化合物の効果を評価するために、細胞を - 80 mV でクランプし、0 mV まで 5 秒間脱分極して H E R G 電流を活性化させ、- 50 mV まで 5 秒間再分極して H E R G テール電流を不活性化させる。この手順を周波数 0.06 Hz で反復した。試験化合物暴露前後に再分極による電流振幅 (H E R G テール電流) を測定した。

## 【0567】

外液灌流時間後に測定した H E R G テール電流振幅と試験化合物灌流時間後 (定常状態効果に達したとき) に測定した H E R G テール電流の振幅差を対照 H E R G テール電流で割った値として電流阻害を計算した。

## 【0568】

薬剤濃度に対する緊張遮断をプロットすることにより薬剤濃度 - 阻害曲線を得る。ロジスティック式 :  $y = A_2 + (A_1 - A_2) / [1 + (x / IC_{50})^p]$  に従って用量応答曲線を緊張遮断データにフィットさせる。A<sub>1</sub> 及び A<sub>2</sub> は 0 及び 100 % 電流阻害に対する固定値 0 及び 1 であり、x は薬剤濃度であり、IC<sub>50</sub> は 50 % 電流阻害を生じる薬剤濃度であり、p は対応する勾配係数である。結果を表 1 に報告する。

## 【0569】

## (実施例 31)

## マウスにおける最大電気ショック試験 (M E S)

最大電気ショック試験 (M E S) は齧歯類モデルにおける抗癲癇薬のスクリーニングで広く使用されている。

## 【0570】

動物及び装置 : 体重 25 g の雄性 CD1 マウスを使用する。White ら (White H. S., Woodhead J. H., Franklin M. R., Swinyard E. A., and Wolf H. H. Antiepileptic Drugs (1995) 4th ed. : 99-110, Raven Press, Ltd., New York) により記載されている手順に従った。Ugo Basile 電気痙攣発生器 (Model E C T U N I T 7801) を使用し、対照動物の少なくとも 97 % で後肢緊張伸展応答を発生するために十分な電気刺激を与えた。刺激はクリップ電極を通してマウスの耳内に与えた (パルス時間 0.4 ms の 80 Hz パルス列で 0.7 秒間 40 mA ショック)。M E S 誘導の 15 ~ 60 分前に腹腔内又は経口投与した化合物の急性効果を試験し、ビヒクル対照群と比較した。各群 10 匹ずつ試験した。発作の後肢緊張伸展成分の完全な抑制を抗痙攣活性の指標とみなした。

## 【0571】

本発明の化合物は用量 3 ~ 30 mg / kg で経口又は腹腔内投与した。

## 【0572】

結果を表 3 及び 4 に保護の % として表す。

10

20

30

---

フロントページの続き

- (72)発明者 サルバティ, パトリチア  
イタリア国、イ-20020・アレーゼ(ミラノ)、ピア・バレーラ、16・チ
- (72)発明者 カネボツティ, レナト  
イタリア国、イ-24040・キニヨーロ・デイーゾラ(ベルガモ)、ピア・ベデスキ、22、フ  
ランマ・エツセ・ピー・アー気付
- (72)発明者 ポンツイーニ, フランチエスコ  
イタリア国、イ-24040・キニヨーロ・デイーゾラ、ピア・ベデスキ、22、フランマ・エツ  
セ・ピー・アー気付

審査官 水島 英一郎

- (56)参考文献 國際公開第2006/027052 (WO, A1)  
特表2003-529589 (JP, A)  
J. Med. Chem., 1998年, Vol. 41, 579-590

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 07 C 231/12  
C 07 C 237/06  
C A p l u s ( S T N )  
R E G I S T R Y ( S T N )