



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I412512 B

(45)公告日：中華民國 102 (2013) 年 10 月 21 日

(21)申請案號：101148004

(22)申請日：中華民國 96 (2007) 年 06 月 15 日

(51)Int. Cl. : C07C237/06 (2006.01)

A61K31/165 (2006.01)

A61P25/08 (2006.01)

A61P25/16 (2006.01)

A61P25/18 (2006.01)

(30)優先權：2006/06/19

歐洲專利局

06012565.5

(71)申請人：紐隆製藥公司(義大利) NEWRON PHARMACEUTICALA S. P. A (IT)

義大利

(72)發明人：巴班蒂 愛蓮娜 BARBANTI, ELENA (IT)；卡西亞 卡拉 CACCIA, CARLA

(IT)；薩爾瓦蒂 帕特里夏 SALVATI, PATRICIA (IT)；維拉迪 法蘭西斯科

VELARDI, FRANCESCO (IT)；拉斐利 堤齊亞諾 RUFFILLI, TIZIANO (IT)；波

哥納 露吉 BOGOGNA, LUIGI (IT)

(74)代理人：賴經臣；宿希成

(56)參考文獻：

WO 2004/066987A2

WO 2005/102300A1

審查人員：方冠岳

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：0 共 0 頁

(54)名稱

高純度 2-[4-(3-及 2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺

HIGH PURITY DEGREE 2-[4-(3- AND 2-FLUOROBENZYLOXY)BENZYLAMINO]

PROPANAMIDES

(57)摘要

本發明係關於一種製備高純度之具治療活性之 2-[4-(3-及 2-(氟苄氧)苄胺基]丙醯胺及其與醫藥學上可接受酸之鹽(其尤其具有低於 0.03 重量%，較佳低於 0.01 重量%之二苄基衍生物雜質之含量)的方法。

此方法係經由使希夫(Schiff)鹼中間體 2-[4-(3-及 2-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺於不勻相催化劑之存在下於質子性有機溶劑中進行催化氫化作用。

A process for obtaining therapeutically active 2-[4-(3-and 2-(fluorobenzoyloxy)benzylamino] propanamides and their salts with pharmaceutically acceptable acids with high purity degree, in particular, with a content of dibenzyl derivatives impurities lower than 0.03%, preferably lower than 0.01% by weight.

The process is carried out by submitting the Schiff bases intermediates 2-[4-(3- and 2-fluorobenzoyloxy) benzylideneamino] propanamides to catalytic hydrogenation in the presence of a heterogeneous catalyst in a protic organic solvent.

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※註號部分請勿填寫；惟已有申請案號者請填寫)

※申請案號：101/48004

※申請日期：96.6.15

※IPC 分類：

C07C39/66 (2006.01)

A61K31/165 (2006.01)

原申請案號：096121879 (原申請日期：96年6月15日)

A61P5/08 (2006.01)

A61P5/16 (2006.01)

A61P5/18 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

高純度 2-[4-(3-及 2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺

High purity degree 2-[4-(3- and

2-fluorobenzyloxy)benzylamino]propanamides

二、中文發明摘要：

本發明係關於一種製備高純度之具治療活性之 2-[4-(3-及 2-(氟苄氧)苄胺基]丙醯胺及其與醫藥學上可接受酸之鹽(其尤其具有低於 0.03 重量%，較佳低於 0.01 重量%之二苄基衍生物雜質之含量)的方法。

此方法係經由使希夫(Schiff)鹼中間體 2-[4-(3-及 2-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺於不勻相催化劑之存在下於質子性有機溶劑中進行催化氫化作用。

三、英文發明摘要：

A process for obtaining therapeutically active 2-[4-(3-and 2-(fluorobenzyloxy)benzylamino]propanamides and their salts with pharmaceutically acceptable acids with high purity degree, in particular, with a content of dibenzyl derivatives impurities lower than 0.03%, preferably lower than 0.01% by weight.

The process is carried out by submitting the Schiff bases intermediates 2-[4-(3- and 2-fluorobenzyloxy)benzylideneamino] propanamides to catalytic hydrogenation in the presence of a heterogeneous catalyst in a protic organic solvent.

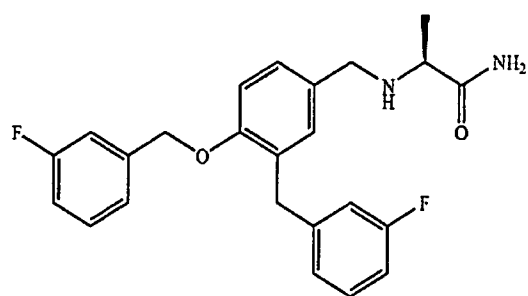
四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無

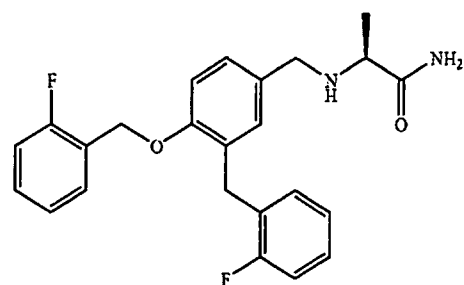
(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



(IIa)



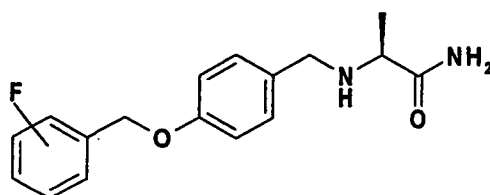
(IIb)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種以高產率及相當高之鏡像異構及化學純度製造(S)-2-[4-(3-氟苄氧)-苄胺基]丙醯胺(即沙芬醯胺(safinamide)(Ia))及(S)-2-[4-(2-氟苄氧)-苄胺基]丙醯胺(即羅芬醯胺(ralfinamide)(Ib))及其鹽的新穎方法。

此方法亦由於可大量生產而相當有用。



沙芬醯胺(Ia):3-F

羅芬醯胺(Ib):2-F

【先前技術】

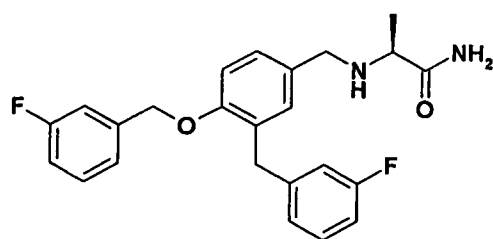
沙芬醯胺(NW-1015、FCE-26743A、PNU-151774E)係一種鈉通道阻斷劑、鈣通道調節劑、單胺基氧化酶 B(MAO-B)抑制劑、麩胺酸釋放抑制劑及多巴胺代謝調節劑。

沙芬醯胺適用於治療 CNS 病症，尤其係癲癇、帕金森氏症(Parkinson's disease)、阿茲海默氏症(Alzheimer's disease)、憂鬱症、肢體不安(restless legs)症候群及偏頭痛(WO 90/14334、WO 04/089353、WO 05/102300、WO 04/062655)。

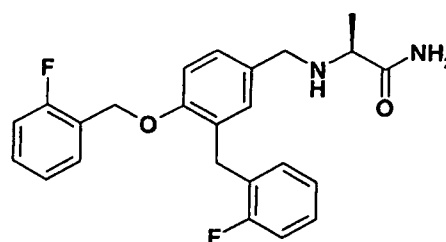
羅芬醯胺(NW-1029、FCE-26742A、PNU-0154339E)係一

種適用於治療包括慢性疼痛及神經性疼痛之疼痛症狀、偏頭痛、雙極性病徵、憂鬱症、心血管、發炎、泌尿生殖器、代謝及胃腸病症的鈉通道阻斷劑(WO 99/35125、WO 03/020273、WO 04/062655、WO 05/018627、WO 05/070405、WO05/102300、WO 06/027052)。

現經發現根據先前技藝中所述之方法大規模地製備沙芬醯胺及羅芬醯胺會包含兩種不期望的雜質，即分別為(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIa)及(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIb)及其鹽，尤其係各別的甲磺酸鹽(IIc)及(IId)。



(IIa)



(IIb)

此事實由於以上所指之兩雜質之相當高的毒性而尤其重要。

許多的候選藥物由於因不期望雜質所致之對人類代謝或毒性的未預見作用而於臨床試驗中失敗，因此，於早先的臨床前期中將此等雜質除去係相當重要且極度需要。

在臨床前階段中，可使用經充分建立之活體外檢定法群組，諸如與藥物代謝酶的交互作用、細胞毒性、代謝穩定性及輪廓譜、薄膜滲透性、內在廓清率及人類快速延遲性整流性鉀通道(ether-a-go-go)相關基因(HERG)通道阻斷等等，評

估新穎化合物的「可藥性(drugability)」。

細胞色素(Cytochrome)P450(CYP 450)系統係用於親脂性外生性物質(xenobiotics)(包括藥物、致癌物、及環境污染物)之代謝的主要酶系統。CYP 450 係一種存在於許多組織中，但在肝臟中以最高濃度存在之含血基質、與薄膜結合的多酶系統。在人類肝臟中，據估計存在 15 至 20 種不同的外生性物質代謝 CYP 450 形式。迄今為止已在哺乳動物中確認出超過 14 種 CYP 基因家族。儘管現有的高同源性(homology)，但廣泛的研究顯示各 CYP 家族及亞族於外生性物質代謝作用中扮演不同的角色。三種 CYP 家族 CYP1、CYP2 及 CYP3 佔人類肝微粒體 CYP 的約 70%，其中 CYP3 佔大約 30%。此等 CYP 主要負責大多數市售藥物的代謝。

CYP1 家族包含數個成員，包括 CYP1A1、CYP1A2 及 CYP1B1，且其參與對乙醯胺基酚(acetaminophen)、氯丙咪嗪(clomipramine)及丙咪嗪(imipramine)的代謝作用。

CYP2 家族包含數個亞族，包括 CYP2A、CYP2B、CYP2C、CYP2D 及 CYP2E。CYP2C 亞族包含至少七個成員。CYP2C9 負責異丁苯丙酸(ibuprofen)、雙氯芬酸(diclofenac)、甲糖寧(tolbutamide)及托拉塞米(torsemide)的代謝。CYP2C19 係代謝安定(diazepam)及奧美拉唑(omeprazole)的主要同功酶。CYP2D6 經證實負責代謝超過 30%的市售藥物，包括抗抑鬱藥及心血管及精神抑制藥物。

在 CYP3 家族中，已於人類肝臟中確認出三種同功異構型 (isoforms)。經確認人類 CYP3A4 係藥物代謝中之最重要的同功異構型。迄今為止，由 CYP3A4 所催化之代謝作用係接近 50% 市售藥物的主要排除途徑。

由於 CYP3A4 及 CYP2D6 兩者於藥物代謝中之重要性，其通常會參與藥物間的交互作用，且已分別經確認有數種臨床上使用之化合物為此等 CYP 450 同功異構型的有效抑制劑，諸如剋菌寧(ketoconazole)、特芬那定(terfenadine)、紅黴素、雙氯苯咪唑(miconazole)、蔡心安(propanolol)及奎尼丁(quinidine)。此對此等藥物之用途產生明顯的限制。

再一問題在於由非抗心律失常藥物作用所引起猝死的副作用，其係醫藥工業及健康管理當局所面臨的主要藥理安全顧慮。近年來有至少五種暢銷藥物(阿斯特米挫(astemizole)、舍咧朵(sertindole)、特芬那定、西塞普(cisapride)、格帕沙星(grepafloxacin))由於有猝死的報告而被自市場撤除。在所有情況中，併發長 QT 症候群(LQTS) – 一種心肌再極化的異常，其特徵在於心電圖中 QT 間期的延長 – 作為「尖端扭轉性室性心動過速(torsades de pointes)」(一種可自發地退化成心室纖維顫動且導致猝死的多型性心室心搏過速)的前置因子。先天性 LQTS 可回溯至數種導致鈉通道、及兩種不同鉀通道之缺陷的可能突變：快速作用延遲整流器(I_{Kr})及緩慢作用延遲整流器(I_{Ks})。重要地，實質上

與藥物暴露相關之心臟動作電位之延長期間的每種情況(後天性 LQTS)皆可追蹤至一種特異的機構：心臟中 I_{Kr} 電流的阻斷。此作為在 QT 間期結束時之第 3 期再極化之主要貢獻者的電流由四聚體(tetrameric)孔隙所傳導，其中個別的次單位由 HERG 所編碼。藉由阻斷被廣泛視為係藥物誘發之 QT 延長之主要原因的 HERG K^+ 通道，早期偵測具有此不良副作用之化合物已成為醫藥工業中的一重要目的。

具有藥物代謝酶(尤其係 CYP 450 酶)之強烈抑制作用及 HERG 通道阻斷性質的化合物有極高機率具有毒性，且其之發展在早期階段即必須停止。

如表 1 所示，作為甲磺酸鹽(IIc 及 IId)的雜質(IIa 及 IIb)於 μM 及次 μM 範圍的 CYP3A4、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9 及 HERG 電流中強烈地抑制，且其與使用本發明方法合成得之具高純度的沙芬醯胺甲磺酸鹽(Ic)及羅芬醯胺甲磺酸鹽(Id)相比具高度的細胞毒性。

[表 1]

化合物	HERG IC ₅₀ , μM	細胞毒性 IC ₅₀ , μM	CYP3A4 IC ₅₀ , μM	CYP2D6 IC ₅₀ , μM	CYP2C19 IC ₅₀ , μM	CYP2C9 IC ₅₀ , μM	CYP1A2 IC ₅₀ , μM
雜質 IIc	1.20	6.70	0.05	0.77	0.42	7.29	>40
沙芬醯胺 甲磺酸鹽	27.0	248.0	>40	>40	23.85	>40	>40
雜質 IId	2.66	15.00	0.05	0.92	1.89	8.01	>40
羅芬醯胺 甲磺酸鹽	18.0	>300	>40	>40	>40	>40	>40

表 2 顯示關於使用利用本發明之新穎方法合成得之高純度沙芬醯胺及羅芬醯胺甲磺酸鹽分別與在 0.3%之雜質 IIc 及 IId 存在下利用相同方法獲得之沙芬醯胺及羅芬醯胺之細胞色素 CYP3A4 之抑制作用的比較結果(IC₅₀)。

當將 0.3%之雜質 IIc 及 IId 添加至高純度沙芬醯胺及羅芬醯胺甲磺酸鹽時，在兩種情況中皆觀察到對 CYP3A4 之 IC₅₀ 的顯著降低，意謂雜質會促成酶活性的強烈抑制作用。

[表 2]

化合物	CYP3A4 IC ₅₀ , μM
沙芬醯胺甲磺酸鹽	>40
沙芬醯胺甲磺酸鹽加上 0.3% IIc 雜質	18
羅芬醯胺甲磺酸鹽	>40
羅芬醯胺甲磺酸鹽加上 0.3% IId 雜質	7.76

如表 3 所示，雜質(IIc)自 3 mg/kg ip 開始使於老鼠最大電休克(MES)試驗中之死亡數增加而無任何藥理活性(即受到保護防止抽搐)。

[表 3]

化合物	MES					
	3 mg/kg ip		10 mg/kg ip		30 mg/kg ip	
	%保護	死/活	%保護	死/活	%保護	死/活
沙芬醯胺甲磺酸鹽	50	0/10	100	0/10	100	0/10
雜質 IIc	0	5/10	0	4/10	0	4/10

表 4 報告當於最大電休克試驗(MES)中以 10 及 20 mg/kg 經口投與雜質 IId 時，若與相同劑量的羅芬醯胺甲磺酸鹽比

較，其並未保護老鼠防止其抽搐。

[表 4]

化合物	MES			
	10 mg/kg p.o.		20 mg/kg p.o.	
	%保護	死/活		死/活
羅芬醯胺甲磺酸鹽	60%	0/10	90%	0/10
雜質 IIId	0%	0/10	0%	0/10

基於所有此等資料，存在於分別利用 WO 90/14334 中所述及由 Pevarello 等人於 J. Med. Chem, 1998, 41, 579-590 中所述之方法合成得之沙芬醯胺及羅芬醯胺中之雜質 IIc 及 IIId 於活體外顯現一些不利特徵，諸如細胞毒性、CYP 450 之一些同功異構型的強烈抑制作用、HERG 通道阻斷及於癲癇之「活體內」模型中無保護活性。

CYP 的其中一重要態樣係在不同族群間的變化。藥物代謝中的變化於臨床研究中極具重要性。已在不同的人種族群間，且甚至在相同人種族群中的不同個體間展現 CYP3A4 及 CYP2D6 之酶活性的顯著變化。於個體間之 CYP 活性的差異視不同的同功酶而顯著地改變。於不同個體之 CYP 表現值的變化會導致藥物代謝的變化。更重要地，多態性 (polymorphism) 亦會導致具較低或較高酶活性的 CYP 酶變異，而導致藥物代謝之變化。CYP2D6 多態性係於藥物代謝中經過充分研究的主題。在臨床研究中，最先於抗高血壓及抗癲癇藥物之代謝中發現個體間的顯著變異。CYP2D6 代謝

藥物之排除於帶有缺陷 CYP2D6 對偶基因的個體中較為緩慢。將具有緩慢代謝作用的個體歸類為弱代謝者(PM)，同時將催化性合格的個體稱為強代謝者(EM)：於不同種族來源之人口中之 PM 表現型的發生率會有差異：有大約 5 至 10% 的白種人為 PM 表現型，但在亞洲族群中則僅有 1%。CYP2C19 係另一種具有臨床關聯性的重要多態性同功異構型。

● 將此等觀察列入考慮，不會干擾 CYP450 同功異構型(不抑制亦不誘導)的化合物在臨床實務中之藥物間交互作用的風險相當低，且可由醫師簡單且安全地處方。

特定而言，不會干擾 CYP450 系統之細胞色素的藥物尤其被指示用於治療性地治療被歸類為弱代謝者(PM)的個體或用於治療性地治療同時服用其他已知會與該細胞色素交互作用之藥物(諸如剋菌寧、特芬那定、紅黴素、雙氯苯咪唑、● 茶心安及奎尼丁)及／或已知具有 HERG 通道阻斷性質之藥物的病患。

根據一般臨床實務，沙芬醯胺及羅芬醯胺甲磺酸鹽(Ic 及 Id)通常係分為數個日劑量長時間投與有需要的病患。在待治療之疾病係為下列病症的治療應用中尤係如此：帕金森氏症、阿茲海默氏症及肢體不安症候群(使用沙芬醯胺)或慢性或神經性疼痛、心血管或發炎病症(使用羅芬醯胺)。雖然日劑量可根據病患的特定情況及需求而改變，但沙芬醯胺甲磺

酸鹽日劑量通常可在 10 毫克／天至 800 毫克／天之範圍內，而羅芬醯胺甲磺酸鹽日劑量通常可在 10 毫克／天至 1 克／天之範圍內。在此等情況下，且考慮到以上所報告之資料，高度建議使沙芬醯胺及羅芬醯胺或其鹽之醫藥劑型中之雜質(IIa)及(IIb)或其鹽(尤其係甲磺酸鹽(IIc)及(IId))之含量維持地盡可能低，在任何情況中，分別相對於沙芬醯胺及羅芬醯胺或其鹽(尤其係甲磺酸鹽)之量低於 0.03 重量%，較佳低於 0.01 重量%。

由本發明人所進行的研究及實驗研究顯示根據先前技藝方法所製備得之沙芬醯胺及羅芬醯胺及與醫藥學上可接受之酸的各別鹽包含高於 0.03 重量%之一定量的各別雜質(IIa)及(IIb)或與醫藥學上可接受之酸的各別鹽，諸如(IIc)及(IId)。因此，上述產品不適用於安全的治療應用。特定言之，含有沙芬醯胺或羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受之酸之鹽，且其中雜質(IIa)、(IIb)、及與醫藥學上可接受之酸之各別鹽相對於上述活性物質之含量不低於 0.03 重量%，較佳不低於 0.01 重量%的醫藥製劑不適合作為藥品。

在本說明書及申請專利範圍中，除非另作明確說明，否則以上所指出之界限值係要表示「活性物質」之以重量計的百分比比率，即相對於治療活性物質(Ia、Ib)之有效含量之生物活性雜質(IIa、IIb)的有效含量。

於本發明中所述之方法經由大大降低雜質而獲致具高化

學純度及較安全生物分佈的產品。其他幾乎無法偵測得之雜質係衍生自包含在分別用於合成分別用於製備化合物(Ia)及(Ib)之 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)及 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)中間體之市售 3-氟苯甲氯及 2-氟苯甲氯中之極少量的 2-及 4-氟苯甲氯及 3-及 4-氟苯甲氯。

【發明內容】

根據本發明中所述之方法，沙芬醯胺及羅芬醯胺係以高產率及高純度獲得，其中沙芬醯胺及羅芬醯胺或其鹽(尤其係與甲磺酸之鹽)中之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIa)及(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIb)及其鹽(尤其係與甲磺酸之鹽)(一般稱為「二苄基衍生物」)的含量係低於或等於 0.03 重量%，較佳為 0.01 重量%。

本發明之方法目的自 4-羥基苯甲醛開始，且包括以下三步驟：

- a) 4-羥基苯甲醛與以下通式 3-或 2- $\text{F-C}_6\text{H}_4\text{-CH}_2\text{-Y}$ 之衍生物的 O-苯甲基化，其中 Y 係脫離基(Cl、Br、I、 OSO_2CH_3 等等)；此 O-苯甲基化係在對於 O-烷基化具高度選擇性的條件下進行且產生高純度的 4-(3-氟苄氧)苯甲醛及 4-(2-氟苄氧)苯甲醛；
- b) L-丙胺醯胺、鹼或鹽與 4-(3-氟苄氧)苯甲醛及 4-(2-氟苄氧)苯甲醛的還原烷基化，其中該還原系統為氫氣及用於在結晶之後分別以相當高之鏡像異構及化學純度獲得沙芬醯

胺及羅芬醯胺的不勻相催化劑；

c)經由將分別於先前步驟中獲得之沙芬醯胺及羅芬醯胺鹽化而製備具有醫藥學上可接受之酸的沙芬醯胺及羅芬醯胺鹽。醫藥學上可接受之酸係，例如，選自硝酸、氫氯酸、氫溴酸、硫酸、過氯酸、磷酸、甲磺酸、對甲苯磺酸、醋酸、三氟乙酸、丙酸、羥乙酸、乳酸、草酸、丙二酸、蘋果酸、順丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、桂皮酸、苯乙醇酸及水楊酸。

本發明之再一目的為提供具高純度之沙芬醯胺及羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)的鹽，尤其其中式(IIa)或(IIb)之各別二苄基衍生物或其與醫藥學上可接受之酸(例如，甲磺酸)之鹽的含量係低於 0.03 重量%，較佳低於 0.01 重量%(稱為「活性物質」)，其適合使用作為藥品。

此外，本發明之另一目的為提供包含沙芬醯胺或羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽作為活性藥劑的醫藥配方，其中各別的二苄基衍生物(IIa)及(IIb)或其與醫藥學上可接受之酸(例如，甲磺酸)之鹽相對於前述活性藥劑的含量係低於 0.03 重量%，較佳低於 0.01 重量%。此等新穎的醫藥配方既未經由應用關於沙芬醯胺及羅芬醯胺之藥物毒物知識亦未經由使用此等根據可於最新型技藝中取得之方法所製備得之活性藥劑而提出或達成。

因此，該等包含具前述高純度之沙芬醯胺或羅芬醯胺或其

與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽的醫藥配方構成本發明之再一目的。

除了具有前述高純度之沙芬醯胺或羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽外，前述之醫藥配方可視需要包含一或多種額外的活性藥劑。

比方說，適用於附屬治療帕金森氏症或肢體不安症候群之新穎的醫藥配方除了具有前述高純度之沙芬醯胺或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽外，尚可包含一或多種諸如 WO 04/089353 及 WO 05/102300 中所述之附屬的帕金森氏症活性藥劑，較佳係多巴胺促效劑及／或左旋多巴及／或兒茶酚-O-甲基轉移酶(COMT)抑制劑。

作為再一實例，適用於治療疼痛症狀(包括慢性疼痛及神經性疼痛)、及偏頭痛之根據本發明的新穎醫藥配方除了具有前述高純度之羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽外，尚可包含再一活性藥劑諸如 EP 1423168 中所述之加巴潘丁(gabapentin)及普瑞巴林(pregabalin)或其醫藥學上可接受之鹽。

根據本發明之含高純度沙芬醯胺或羅芬醯胺之醫藥組成物可利用技藝中已知之習知程序製備得，例如經由將活性化合物與醫藥學上、治療上之情性有機及／或無機載體材料混合。本發明之組成物可呈液態，例如，呈溶液、懸浮液、乳液之形態；或呈固態，例如，錠劑、口含錠、膠囊、貼片。

適用於製備本發明之組成物之適當的醫藥學上、治療上之惰性有機及／或無機載體材料包括，例如，水、明膠、阿拉伯膠、乳糖、澱粉、纖維素、硬脂酸鎂、滑石、植物油、聚烷二醇、環糊精及其類似物。本發明之醫藥組成物可經滅菌，且可在活性成分之外再包含熟悉技藝人士熟知之成分，諸如，比方說，防腐劑、安定劑、濕潤或乳化劑(例如，石蠟油)、二縮甘露醇單油酸酯、調整滲透壓之鹽、緩衝劑及其類似物。

本發明之再一目的為提供一種治療 CNS 病症(尤其係癲癇、帕金森氏症、阿茲海默氏症及肢體不安症候群)之方法，其包括向有此需要的病患投與有效量之高純度沙芬醯胺或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽，其中二苄基衍生物(IIa)或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽的含量係低於 0.03 重量%，較佳低於 0.01 重量%(稱為「活性物質」)。該方法包括經由向有此需要之病患投與有效量之前述之高純度沙芬醯胺，視需要並結合一或多種如 WO 2004/089353 中所述之帕金森氏症活性藥劑(諸如，比方說，多巴胺促效劑及／或左旋多巴及／或兒茶酚-O-甲基轉移酶(COMT)抑制劑)，而治療帕金森氏症或肢體不安症候群。

此外，本發明之再一目的為提供一種治療包括慢性疼痛及神經性疼痛之疼痛症狀、偏頭痛、雙極性病症、憂鬱症、心血管、發炎、泌尿生殖器、代謝及胃腸病症之方法，其包括

向有此需要之病患投與有效量之高純度羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽，其中二苄基衍生物(IIb)或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽的含量係低於 0.03 重量%，較佳低於 0.01 重量%(稱為「活性物質」)。

前述方法包括利用高純度羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受之酸(較佳係甲磺酸)之鹽，視需要結合加巴潘丁或普瑞巴林，而治療包括慢性疼痛及神經性疼痛之疼痛症狀、及偏頭痛。

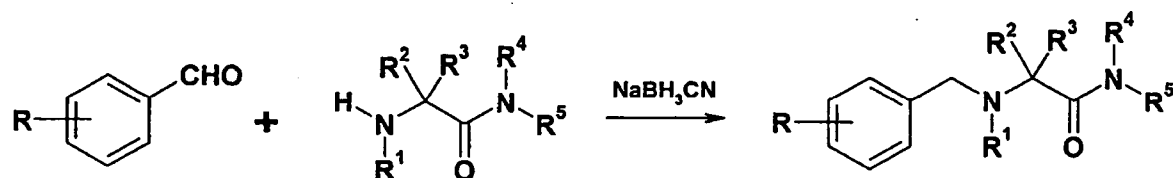
【實施方式】

<先前技藝>

在 WO 90/14334，及在 Pevarello 等人發表於 J. Med. Chem., 1998, 41, 579-590 中之論文中，描述一種用於製備苄氧-苄胺基-烷醯胺的三步驟方法：

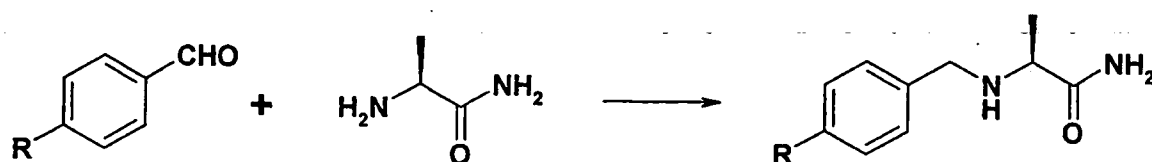
a)經由利用適當的苄甲氯將相應的 4-羥基苯甲醛 O-苄甲基化，而合成中間體 4-苄氧苯甲醛；

b)使用氰硼氫化鈉作為還原劑將 α -胺基醯胺與 4-苄氧苯甲醛還原烷基化，如下式所概略顯示



其中 R 尤其代表取代基 3-F 及 2-F；R¹ 尤其代表取代基氫；R² 尤其代表取代基氫；R³ 尤其代表取代基 CH₃；R⁴ 及 R⁵ 兩者尤其代表取代基氫。

特定而言，就沙芬醯胺及羅芬醯胺之製備而言，還原烷基化係 L-丙胺醯胺與 4-(3-氟苄氧)苯甲醛及 4-(2-氟苄氧)苯甲醛的還原烷基化，其分別如下式所示



R=3-F-苄氧=沙芬醯胺(Ia)

R=2-F-苄氧=羅芬醯胺(Ib)

在 J. Med. Chem. (Pevarello 等人), 1998, 41, 579-590 中，據報告自相應的(氟苄氧)苯甲醛起始，對於沙芬醯胺及羅芬醯胺甲磺酸鹽之製備的產率分別為 45% 及 60%。

於 WO 90/14334 中與於以上引述論文中所述之方法相同，且其提供其中之亞胺烷基化及還原係於相同反應器中進行的一鍋(one-pot)系統。適當的醛係一次全部加至 L-丙胺醯胺鹽酸鹽、氰硼氫化鈉、甲醇及粉狀分子篩之混合物中。

根據 Pevarello 等人，於 Org. Prep. Proc. Int. 1996, 28, 179-183 中(其中描述利用還原烷基化之一些 α-苄胺基醯胺衍生物的合成)，使用 α-胺基醯胺之鹽酸鹽對於替代相應的亞胺形成亞胺離子而言相當重要，由於亞胺離子較與醛羰基

更易與氰硼氫化鈉反應。

根據以上的著者，一鍋程序似乎可避免希夫(Schiff)鹼外消旋化的問題，且分子篩可加速反應(雖然產率差)。

氰硼氫化物係唯一利用的還原劑，且此選擇似乎係由於其之低反應性及其之選擇性(參見回顧「氰硼氫化鈉-一種有機官能基之高度選擇性還原劑」(Review “Sodium Cyanoborohydride- A Highly Selective Reducing Agent for Organic Functional Groups”) – C.F. Lane, Synthesis 1975, 132-146)，其使得可在質子化希夫鹼與起始醛之間作區分。

於 Pevarello 等人之論文中所述之合成提供藉由管柱層析術來分離產物，隨後再藉由利用酸處理轉變為相應的鹽。其並未提供關於沙芬醯胺及羅芬醯胺兩者及／或其鹽之鏡像異構及／或化學純度的資訊。

於先前技藝中所述之方法有許多缺點，而限制其之大規模用途；以下列出該等缺點的一些實例：

- 生成氰化物；
- 生成難以自活性成分移除的硼衍生物；
- 使用物性會改變且昂貴的粉狀分子篩；
- 低產率；
- 於還原烷基化反應混合物中之低終產物濃度(約 2-3%重量／體積)；
- 利用管柱層析術分離產物，當涉及透過化學合成大規模製

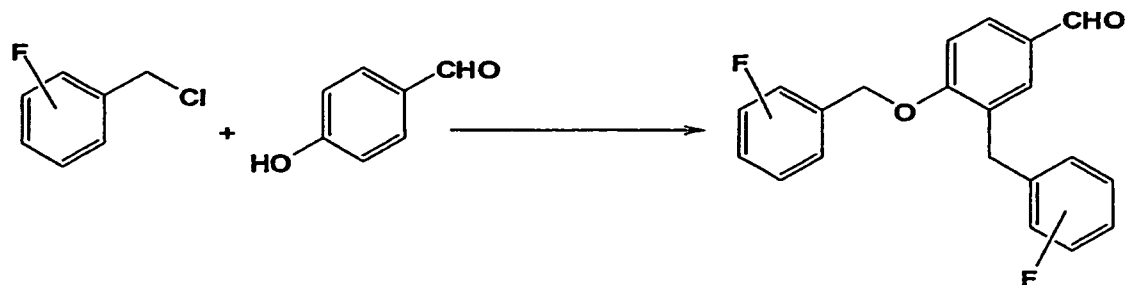
備活性藥劑時，此被認為係麻煩且昂貴的純化方法。

此外，如於本說明隨後的實施例中所示，根據先前技藝中所述之方法獲得之產物包含相對於各別活性物質(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)高於 0.03 重量%-量的雜質(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IId)。此外，經顯示很難經由使用一般知曉的純化方法諸如自溶劑結晶或層析術而自終產物沙芬醯胺及羅芬醯胺或其鹽除去該等雜質，其在任何情況中皆意味產率的降低。

<4-(氟苄氧)苯甲醛中間體之合成>

根據已知之方法，用於合成沙芬醯胺及羅芬醯胺之氟苄氧-苯甲醛中間體係經由在鹼性介質中將 4-羥基苯甲醛苯甲基化而獲得，即經由將作為兩可(ambident)親核劑之酚鹽苯甲基化產生兩種不同產物，即期望的 O-烷基化衍生物和不期望的 C-烷基化衍生物。

經有效地發現根據先前技藝所進行之 4-羥基苯甲醛與 3-氟苯甲氧的氟苯甲基化產生作為主要產物的 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)以及衍生自在 4-羥基苯甲醛之 4-位次之羥基及 3-位次之碳原子兩者之烷基化的 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛(Va)。同樣情況發生在根據以下流程之 4-羥基苯甲醛與 2-氟苯甲氧的氟苯甲基化：



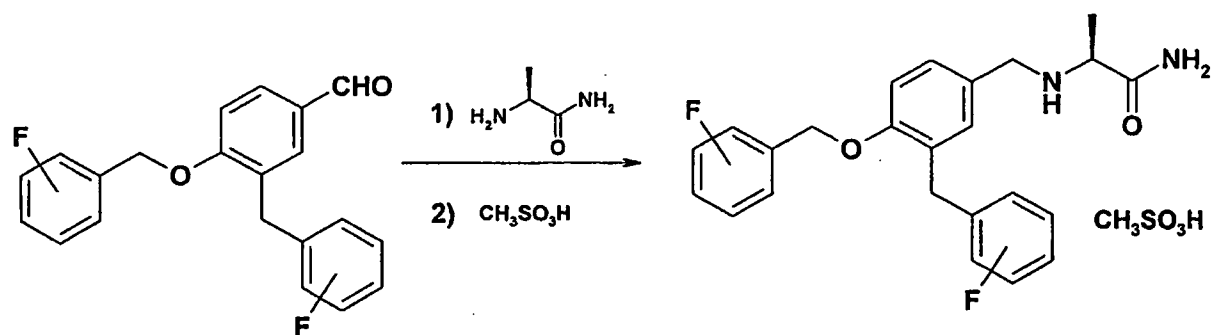
(IIIa₁): 3-F

(IIIb₁): 2-F

(Va): 3-F

(Vb): 2-F

L-丙胺醯胺與包含二-烷基化雜質之醛的還原烷基化產生亦包含各別之二-烷基化化合物、二苄基衍生物之雜質(無論係作為游離鹼(IIa)或(IIb)或鹽化化合物(較佳係與甲磺酸(IIc)或(IId)))的沙芬醯胺或羅芬醯胺終產物，如以下的流程所示：



(Va): 3-F

(Vb): 2-F

(IIc): 3-F

(IId): 2-F

可使用其他醫藥學上可接受之酸，例如，硝酸、氫氯酸、氫溴酸、硫酸、過氯酸、磷酸、甲磺酸、對甲苯磺酸、醋酸、

三氟乙酸、丙酸、羥乙酸、乳酸、草酸、丙二酸、蘋果酸、順丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、桂皮酸、苯乙醇酸及水楊酸，替代較佳的甲磺酸。

單-烷基化衍生物(沙芬醯胺或羅芬醯胺)及相應的二-烷基化雜質具有相似的化學-物理性質，且此使得難以利用傳統方法純化沙芬醯胺及羅芬醯胺。

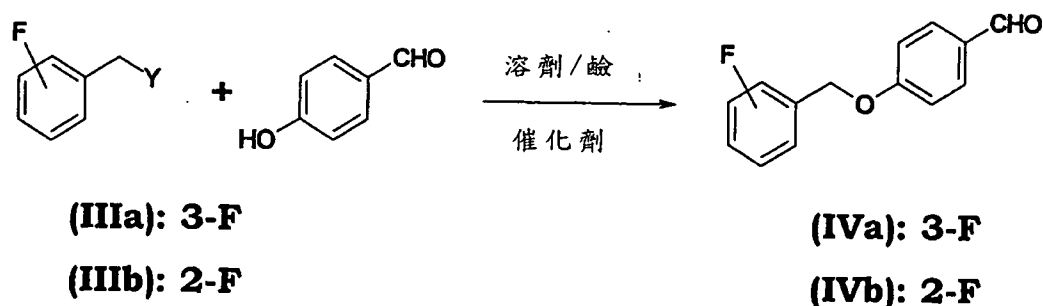
再者，已知之方法有此等額外的缺點：

- 1)使用低碳醇作為溶劑；在鹼性條件下，溶劑(例如甲醇)之本身可作為親核試劑，且與 3-或 2-氟苯甲氯產生特定量的甲基-氟苄基醚；
- 2)只有在將醇系反應溶劑自反應混合物中除去後，才可利用不與水相混溶之有機溶劑萃取終產物。

現經發現經由使用前述的先前技藝方法，為獲得其中各別雜質(IIa)或(IIb)之含量低於 0.03 重量%之式(Ia)或(Ib)之終產物，需極度純化中間體 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)或 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)，以降低式(Va)及(Vb)之各別雜質的含量。該純化較佳係經由使反應產物進行結晶，更佳係經由將可混溶的惰性有機非溶劑添加至粗製化合物(IVa)或(IVb)於惰性有機溶劑中之溶液中而進行。有機惰性溶劑較佳係選自芳族烴，及更佳係甲苯。可混溶的惰性有機非溶劑較佳係選自低碳脂族烴，更佳係正己烷。再一結晶程序可在於將前述之化合物(IVa)或(IVb)溶解至在回流下之熱溶劑(例如，環己

烷或二(C₃-C₄)烷基醚，諸如二異丙基醚)中，隨後再使溶液於室溫(較佳於 10-15°C)下冷卻，最佳係藉由添加純化合物(IVa)或(IVb)之純晶體而誘發結晶。

根據本發明之一態樣，現驚人地發現當式(IIIa)或(IIIb)之烷基化試劑(見以下的流程，其中 F 原子係在 2 或 3 位次，及 Y 係脫離基諸如，比方說 Cl、Br、I、OSO₂CH₃、OSO₂C₆H₄-pCH₃ 等等)與 4-羥基苯甲醛之間之反應係在相轉移條件下進行時，以高產率獲得相應的 4-(氟苄氧)苯甲醛，且有相當低量值的 C,O-雙-烷基化雜質。



此 4-羥基苯甲醛於相轉移條件下的新穎氟苯甲基化可於固體／液體系統中(其中試劑及相轉移催化劑溶解於液態有機相中，且固相係由無機鹼或 4-羥基苯甲醛鹽(可能係於原位自 4-羥基苯甲醛及無機鹼本身所產生)所構成)，及於液體／液體有機／水性系統中(其中無機鹼溶解於水相中)進行。

一較佳的系統為固體／液體系統，其中該無機鹼較佳係選自 Na_2CO_3 、 K_2CO_3 、 KOH 、 NaOH 。

在液體／液體系統及固體／液體系統之兩種情況中使用

於反應中的有機溶劑可為二烷基醚諸如，比方說，二-第三丁基醚、乙基-第三丁基醚，或芳族烴諸如，比方說，甲苯、乙苯、異丙苯及二甲苯。所有此等溶劑皆可經由蒸餾容易地回收。

所使用之相轉移催化劑可為第四銨或磷鹽諸如，比方說，溴化四丁銨、溴化十四基三甲銨、溴化十六基三丁基磷、氯化三辛鹽基甲基銨(Aliquat)、氯化甲基三烷基(C_8-C_{10})銨(Adogen)，其中溴化十四基三甲銨為較佳。

亦可使用低分子量之聚乙二醇作為相轉移催化劑，諸如，比方說，PEG-200(CAS 25322- 68-3)或 PEG-400 (CAS 25322-68-3)。

相轉移催化劑之使用量係介於每莫耳之 4-羥基苯甲醛 0.02-1 莫耳之間，較佳介於每莫耳之 4-羥基苯甲醛 0.1-1 莫耳之間，由於在此等條件下，C,O-雙-氟苯甲基化雜質之產生量可低於 0.03 重量%，較佳等於 0.01 重量%或以下。

式(IIIa)或(IIIb)之烷基化試劑與 4-羥基苯甲醛間之比係介於 0.6 與 1.5 之間，較佳之比係介於 0.9 與 1.1 之間。

反應溫度係在 60°C 與 160°C 之間，較佳的區間係在 80°C 與 120°C 之間。

反應時間一般係在 4 及 8 小時之間。

反應產率相當高，一般多於 90%。

反應生產力(即反應混合物中之反應產物濃度)於所述之

反應條件下相當高，一般多於或等於 25%(重量／體積)。

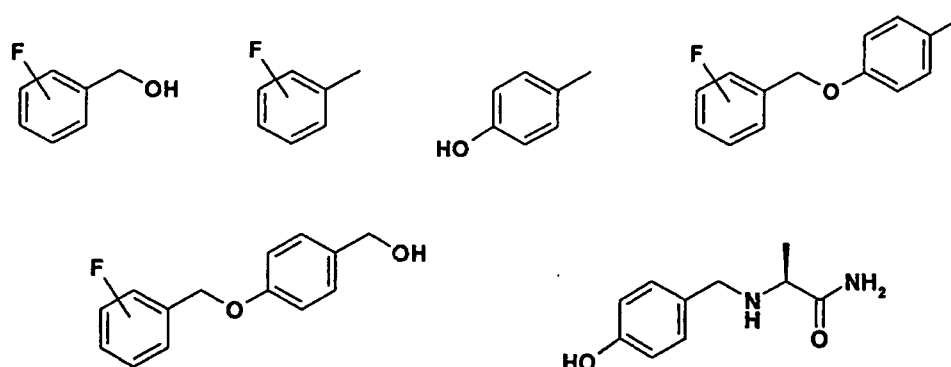
<藉由 α -胺基醯胺之還原烷基化合成沙芬醯胺及羅芬醯胺>

最新技藝將建議此領域中之專家 α -胺基醯胺與 4-(3-或 2-氟苄氧)苯甲醛使用氫及不勻相催化劑作為還原劑的還原烷基化由於在試劑及終產物與還原條件間之不相容性，而應不適用於製備沙芬醯胺及羅芬醯胺。

事實上，熟知苯甲醛相當易還原為苯甲醇或甚至還原為相應的烴，且已知應用以進行利用氫及不勻相催化劑之還原烷基化的條件一般與用於使苯甲基系碳原子與雜原子像是氮或氧間之鍵(此種鍵存在於沙芬醯胺及羅芬醯胺兩者及其前驅體中)斷裂的條件相同。

事實上，苄系基團由於易引入及隨後經由催化還原移除，而常被使用作為酚或胺之保護基(參見「有機合成中之保護基(*Protective Groups in Organic Synthesis*)」，T.W. Greene 及 P.G.M. Wuts，第 3 版，1999，John Wiley & Sons, Inc.)。

在用於獲得沙芬醯胺及羅芬醯胺的還原烷基化中，可預期將生成許多副產物，將其中一些記述如下：



沙芬醯胺及羅芬醯胺藉由 L-丙胺醯胺與 4-(3-或 2-氟苄氧) 苯甲醛使用氫及不勻相催化劑作為還原系統之還原烷基化而以相當高產率及純度獲得之事實係本合成程序之驚人且創新的態樣。

此外，根據本程序所使用之反應條件可容易地應用於大量生產。

作為本發明目的之還原烷基化係以兩步驟進行：

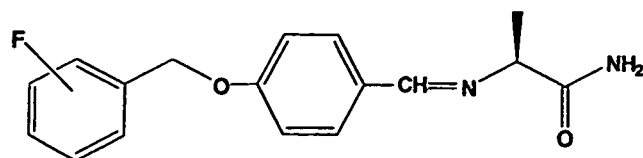
- a) 生成希夫鹼
- b) 希夫鹼之催化還原

兩步驟可於相同反應器中(一鍋反應)，分離或不分離希夫鹼而連續進行，在兩種情況中皆有高產率。

在分離希夫鹼的情況中，應用於其生成的實驗條件可以高產率及相當純之形式以沈澱物形式獲得經分離的希夫鹼。

希夫鹼製備係適當地於有機質子性溶劑中進行，該溶劑必需對試劑及產物為惰性以及對亞胺系雙鍵之還原條件為惰性，諸如比方說，(C₁-C₅)低碳烷醇，較佳為甲醇、乙醇及異丙醇。

希夫鹼之生成必需完全，且其係於後續之催化還原步驟中具有高產率的相關因素。因此，在進行亞胺系雙鍵之還原前，將希夫鹼(VIa)及(VIb)分離較佳。



(VIa):3-F

(VIb):2-F

經分離的亞胺基化合物(VIa)及(VIb)係根據本發明分別用於製備沙芬醯胺及羅芬醯胺的有用中間體。

或者，可能希望經由在可導致亞胺基化合物(VIa)及(VIb)沈澱及使含有中間體亞胺基衍生物之懸浮液進行催化還原的條件下操作，而使亞胺烷基化反應完全。

L-丙胺醯胺(鹼或鹽)與 4-(3-或 2-氟苄氧)苯甲醛間之比可為 1:1，但亦可有利地使用 10%過量的 L-丙胺醯胺。

L-丙胺醯胺可以游離鹼或以其之酸加成鹽引入。其較佳係以鹽，最佳係以鹽酸鹽，連同化學計量之量的鹼，較佳係第三胺諸如，比方說，三乙胺或二異丙基乙胺，一起引入反應混合物中。

在希夫鹼之製備中的反應溫度係在 0°C 與 60°C 之間，較佳在 20°C 與 30°C 之間。

反應時間係在 1 小時與 15 小時之間，較佳在 4 小時與 6 小時之間。

希夫鹼利用氫及不勻相催化劑之還原只有當希夫鹼之生成完全時才開始：若其在之前開始，則副反應會變得重要，有時會佔優勢，而導致產率及純度的損耗。更為重要地，此

等副反應的其中之一會經由還原所選擇之(氟苄氧)苯甲醛的羰基，而導致生成苄系醇。

較佳的不勻相催化劑係負載於諸如，比方說，碳、氧化鋁及矽石(較佳為碳及氧化鋁)之惰性擔體上的鎳、銻、鈮或鉑催化劑，且其係以包括在 4-(3-或 2-氟苄氧)苯甲醛之 2%與 20%之間(較佳在 5%與 10%之間)的量使用。

鉑及鈮催化劑為最佳。

負載於活性碳上之鉑尤其在產率(其幾乎為定量)及選擇性兩方面得到優良的結果，由於只有亞胺系雙鍵被還原，而苄系碳原子與雜原子之間的鍵則維持不變。經發現沙芬醯胺及羅芬醯胺在還原反應條件下驚人地穩定，且此係工業製造大量沙芬醯胺及羅芬醯胺中的一重要元素，由於附隨的反應時間延長將不會損壞終產物。

利用濕的 5% Pt/C (50% H₂O)，及尤其係利用 Engelhard S.r.l.(義大利羅馬)之 5% Pt/碳粉末得到最佳的結果。氫化反應一般係在介於 1 巴(bar)與 10 巴之間，較佳介於 3 巴與 6 巴之間的氫氣壓力下，及在介於 10°C 與 70°C 之間，較佳介於 25°C 與 40°C 之間的溫度下進行。

還原時間可根據溫度、壓力、濃度、擾動等等而自 1 小時變化至 20 小時，所有因素皆係熟悉技藝人士所熟知。

利用 4-6 小時之反應時間得到最佳的結果。於反應結束時，經由過濾回收催化劑，且將其再利用或再生：於減壓下

蒸餾反應溶劑，將殘留物溶解於不與水相混溶的有機溶劑中，且經由以水洗滌而移除有機鹽。

經由利用蒸餾將最終粗製沙芬醯胺或羅芬醯胺溶解於其中之有機溶劑移除，而回收沙芬醯胺或羅芬醯胺。

隨後經由結晶純化粗製的沙芬醯胺或羅芬醯胺。結晶較佳係經由將可混溶的惰性有機非溶劑添加至式(Ia)或(Ib)之各別粗製化合物於惰性有機溶劑中之溶液中而進行。有機惰性溶劑較佳係選自芳族烴諸如苯、甲苯、二甲苯及乙苯及乙酸低碳烷基酯，及更佳係乙酸乙酯。可混溶的惰性有機非溶劑較佳係選自低碳脂族烴，諸如己烷及庚烷、及環己烷，更佳係正己烷。

隨後根據已知方法將鹼轉變為期望的鹽，尤其係將其轉變為具有適用於後續調配成使用作為藥品之醫藥製劑之物理／化學性質(穩定性、粒度測量、流動性等等)的甲磺酸鹽。

<實施例 1>

[經由相轉移催化作用製備經純化的 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)]

使 2-氟苯甲氧(5 公斤，34.58 莫耳)、4-羥基苯甲醛(3.9 公斤，31.94 莫耳)、碳酸鉀(4.3 公斤，31.11 莫耳)及溴化十四基三甲銨(0.41 公斤，1.22 莫耳)於甲苯(9.5 公斤)中之混合物在攪拌及在氮氣下緩慢地達到回流溫度，且回流 6 小時。

隨後將溶液於室壓下濃縮，加入 3 公斤甲苯且餾除，並將

此程序再重複一次。

隨後使不勻相混合物冷卻至室溫，及經由過濾除去固體。然後於減壓下除去殘留溶劑，且於油狀殘留物中加入 1.2 公斤之甲苯。將混合物加熱至約 40°C，且加入數克之純 4-(2-氟苄氧)苯甲醛作為晶種。

將不勻相混合物於 35-40°C 下攪拌 15 分鐘，且隨後於此溫度下在 30 分鐘內加入正己烷(9 公斤)。於冷卻至 0-5°C 且在此溫度下再多攪拌 1 小時後，經由過濾收集固體且於減壓下乾燥而得 6.5 公斤(87.6%產率)之 4-(2-氟苄氧)苯甲醛；熔點 56.7°C (DSC，5°C / 分鐘)。

經由使用 39 克(0.319 莫耳)之 4-羥基苯甲醛作為起始物料且遵循前述程序而以 1:100 之規模重複以上反應，僅除了於除去反應溶劑且將甲苯加至油狀殘留物中後，將所得混合物加熱至約 30-35°C (而非 40°C)，及於加入少量純 4-(2-氟苄氧)苯甲醛作為晶種後，將不勻相混合物於 30°C (而非 35-40°C) 下攪拌 15 分鐘，隨後再加入正己烷。

4-(2-氟苄氧)苯甲醛之產率為 66.8 克(90%)，熔點 56.7°C (DSC，5°C / 分鐘)，具有 92.2 (面積%，見實施例 16A) 之 GC 純度及 0.01 重量%之利用 GC 測得的 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛含量(見實施例 16B)。

(*)當未另作明確說明時，於此及於以下實施例中所記述之產率係指莫耳產率。

1.1 經由結晶進一步純化 4-(2-氟苄氧)苯甲醛

於回流下在攪拌下將 1 公斤之根據實施例 1 中所述程序製備得之產物溶解於 2 公斤之二異丙基醚中。

使溶液於 10-15 分鐘內冷卻至 50-55°C，且加入數克之純 4-(2-氟苄氧)苯甲醛作為晶種。

使懸浮液於 45-60 分鐘期間內冷卻至 10-15°C，且再多攪拌 1 小時。

● 最終經由過濾收集沈澱物，以冷的二異丙基醚(0.2 公斤)洗滌，且於減壓下乾燥而得 0.93 公斤之具有 99.8 (面積%，見實施例 16A)之 GC 純度及 0.005 重量%之根據實施例 16B 利用 GC 測得之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛(Vb)含量的 4-(2-氟苄氧)苯甲醛。

1.2 經由相轉移催化作用(PTC)使用不同催化劑製備 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)

● 經由遵循實施例 1 之相同程序，但使用三種不同的相轉移催化劑，利用 2-氟苯甲氯將 4-羥基苯甲醛(0.39 克)烷基化而製備得 4-(2-氟苄氧)苯甲醛。

結果記述於下表 4。

[表 4]

實驗	相轉移催化劑 PCT	%Vb **	%產率
1.2(a)	溴化四丁基鎂		
		0.03	85.0
1.2(b)	Aliquat 336*		
		0.03	88.8
1.2(c)	PEG 400		
		0.14	96.0

* Aliquat 336：氯化三辛鹽基甲基銨

** %Vb：3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛之含量(重量%)

Vb 之含量係根據實施例 16B 利用 GC 測定。

1.3 經由相轉移催化作用(PTC)於二甲苯中製備 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)

經由根據實施例 1 之相同程序使 4-羥基苯甲醛(0.39 克)與 2-氟苯甲氯反應，但以二甲苯取代甲苯作為溶劑，而以 86.6%產率製備得 4-(2-氟苄氧)苯甲醛，且利用 GC(見實施例 16B)測得之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛的含量為 0.02 重量%。

1.4 經由相轉移催化作用使用氫氧化鉀作為鹼製備 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)

經由根據實施例 1 之相同程序使 4-羥基苯甲醛(0.39 克)

與 2-氟苯甲氯反應，但使用氫氧化鉀(0.35 莫耳)替代碳酸鉀，而以 86.7%產率製備得 4-(2-氟苄氧)苯甲醛，且利用 GC(見實施例 16B)測得之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛的含量為 0.51 重量%。

此產物可進一步根據實施例 1.1 經由結晶而純化。

1.5 經由相轉移催化作用使用 2-氟苯甲溴製備 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)

● 經由根據實施例 1 之相同程序使 4-羥基苯甲醛(15.6 克)與 2-氟苯甲溴(替代 2-氟苯甲氯)反應，而以 88.6%產率製備得 4-(2-氟苄氧)苯甲醛，且利用 GC(見實施例 16B)測得之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛的含量為 0.07 重量%。

<實施例 2>

[高純度(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(羅芬醯胺，Ib)之製備(一鍋反應)]

● 於熱壓釜中裝入根據實施例 1 製備得之 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(2.0 公斤，8.69 莫耳)，隨後再於其中加入分開製備之 L-丙胺醯胺鹽酸鹽(1.2 公斤，9.63 莫耳)及三乙胺(0.97 公斤，9.63 莫耳)於甲醇(9.5 公斤)中之溶液。

將混合物於 20-25°C 下攪拌約 1 小時，然後於加入數克(S)-2-[4-(2-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺作為晶種後，再多持續攪拌 15 分鐘。然後於 20-25°C 下於經攪拌的不勻相混合物中加入甲醇(1.6 公斤)及濕(50% H₂O)Pt/C 5% (Engelhard

cod.Escat 22, Engelhard S.r.l., Rome, Italy)(0.28 公斤)。

利用氮將空氣自熱壓釜中排除，然後於 5.0 巴下引入氮，且於氮化過程中將壓力維持於此值下。

於在 30-35°C 下 5 小時後，使反應混合物冷卻至 15°C，及於加入甲醇(4.8 公斤)且加熱至 40-45°C 後，過濾懸浮液且以甲醇(1.6 公斤)洗滌固體。

於減壓下在約 30°C 下除去溶劑，且於 20-25°C 在冷卻下於攪拌下於殘留物中加入水(5 公升)(由於水的添加係為放熱程序)。將不勻相混合物進一步冷卻至 15-20°C，在此溫度下維持 1 小時然後過濾。將收集得的固體以冷水(4 公升)洗滌且於減壓下乾燥得 2.23 公斤(85.0%產率)之羅芬醯胺，其根據實施例 17A 之方法測得之 HPLC 純度為 98.8 (面積%)，且根據實施例 17B 之方法利用 HPLC 測得之 C,O-二烷基化(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺含量為 0.01 重量%。

2.1 利用鈀催化劑製備高純度之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ib)

根據實施例 2 之相同程序將 5 克根據實施例 1 製備得之 4-(2-氟苄氧)苯甲醛及相應量之 L-丙胺醯胺鹽酸鹽及三乙胺的混合物氮化，但使用濕(50% H₂O)Pd/C 10%替代濕(50% H₂O)Pt/C 5%，而以 70%產率獲得(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ib)。

<實施例 3>

[高純度(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽(羅芬醯胺甲磺酸鹽，Id)之製備]

將如實施例 2 中所述製備得之羅芬醯胺(2.8 公斤，9.26 莫耳)溶解於異丙醇(19.5 公斤)中，且維持於 65-70°C 於攪拌下且於惰性大氣下。

於利用木炭(150 克)處理及過濾後，於溶液中加入純羅芬醯胺甲磺酸鹽作為晶種，且於攪拌下及於 50-55°C 之溫度下於 30 分鐘內加入甲磺酸(900 克，9.36 莫耳)。然後使懸浮液於 2 小時內冷卻至 15-20°C，且再多持續攪拌 1 小時。最後經由過濾收集固體，且於減壓下乾燥得 3.59 公斤(97.3%產率)之羅芬醯胺甲磺酸鹽。

所得產物之 HPLC 純度為 99.8(面積%，見實施例 17A)，且 C,O-二烷基化(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽之含量為 0.005 重量%(見實施例 17B)；利用 DSC(5°C / 分鐘)測得之熔點為 240.6°C。

利用對掌性 HPLC 管柱測得之羅芬醯胺甲磺酸鹽的鏡像異構純度高於 99.8(面積%，見實施例 18)。

<實施例 4>

[於乙醇溶液中之經純化 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)之製備]

在攪拌下於室溫下，將 1.8 公斤之 3-氟苄甲氯(1.80 公斤，12.45 莫耳)添加至 4-羥基苯甲醛(1.52 公斤，12.45 莫耳)、

碳酸鉀(1.72 公斤，12.45 莫耳)、碘化鉀(0.2 公斤，1.20 莫耳)於乙醇(13.0 公斤)中之混合物中。

將混合物逐漸加熱至回流，然後於該溫度下維持 6 小時。

然後使反應混合物冷卻至 25°C，將懸浮液過濾且以乙醇(1.0 公斤)洗滌固體；將乙醇溶液結合然後於減壓下濃縮直至得到大約 3.5 公斤之殘留物為止。

於此殘留物中加入甲苯(5.0 公斤)及水(1.7 公斤)，將溶劑混合物劇烈攪拌 30 分鐘，及於分離水相後，於減壓下將有機層蒸發至乾而得粗製 4-(3-氟苄氧)苯甲醛。

在攪拌下在 20-25°C 下於此溶解於 2 公斤甲苯中之產物中添加 4-(3-氟苄氧)苯甲醛之晶種，然後於 30 分鐘內加入正己烷(3.8 公斤)，並於攪拌下將混合物冷卻至 0°C。

於 2 小時後，將固體過濾且以正己烷(1.3 公斤)洗滌。於乾燥後，獲得 2.6 公斤(90.7%產率)之期望產物，其中氣相層析純度為 99.9(面積%，見實施例 16A)，且利用 G.C.(面積%，見實施例 16B)測得之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛含量為 0.005 重量%；利用 DSC 5°C / 分鐘測得之熔點為 43.1°C。

<實施例 5>

[利用相轉移催化作用製備 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)]

使 3-氟苯甲氯(5 公斤，34.58 莫耳)、4-羥基苯甲醛(3.9 公斤，31.94 莫耳)、碳酸鉀(4.3 公斤，31.11 莫耳)及溴化十四基三甲銨(0.41 公斤，1.22 莫耳)於甲苯(13.5 公斤)中之混合

物在攪拌及在氮大氣下緩慢地達到回流溫度，然後回流 6 小時。

將溶液於室壓下濃縮，然後加入 3 公斤甲苯且餾除。將此程序再重複一次。

隨後使不勻相混合物冷卻至室溫，及經由過濾除去固體。於減壓下除去殘留溶劑，然後將 1.2 公斤甲苯加至油狀殘留物。將混合物於 20-25°C 下攪拌，且加入數克之純 4-(3-氟苄氧)苯甲醛作為晶種，然後再於此溫度下於 30 分鐘內加入正己烷(9 公斤)。

於冷卻至 0-5°C 且在此溫度下再多攪拌 1 小時後，經由過濾收集固體且於減壓下乾燥而得 6.5 公斤(85%產率)，GC 純度 99.9(面積%，見實施例 16A)，且 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛含量為 0.008 重量%(見實施例 16B)。

5.1 經由結晶進一步純化 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)

於回流下在攪拌下將 1 公斤之根據實施例 5 製備得之 4-(3-氟苄氧)苯甲醛溶解於 2 公斤之二異丙基醚中。

使溶液於 10-15 分鐘內冷卻至 50-55°C，且加入數克之純 4-(3-氟苄氧)苯甲醛作為晶種。

使懸浮液於 45-60 分鐘期間內冷卻至 10-15°C，且再多攪拌 1 小時。

最終經由過濾收集沈澱物，以冷的二異丙基醚(0.2 公斤)洗滌，且於減壓下乾燥而得 0.95 公斤之具有 99.9 (面積%，

見實施例 16A)之 GC 純度及低於 0.005 重量%之利用 GC(見實施例 16B)測得之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛含量的 4-(3-氟苄氧)苯甲醛。

5.2 經由相轉移催化作用使用 3-氟苯甲溴製備 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)

經由根據實施例 5 之相同程序使 4-羥基苯甲醛(15.6 克)與 3-氟苯甲溴反應，但使用 3-氟苯甲溴替代 3-氟苯甲氯，而以 86.1%產率製備得 4-(3-氟苄氧)苯甲醛，其中利用 GC(見實施例 16B)測得之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛的含量為 0.07 重量%。

根據實施例 5.1 純化如此製得之 4-(3-氟苄氧)苯甲醛，而產生 97.3%產率之標題產物，其中利用 GC(見實施例 16B)測得之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛的含量為 0.07 重量%。

5.3 經由相轉移催化作用使用 3-氟苄基甲磺酸鹽製備 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)

經由根據實施例 5 之相同程序使 4-羥基苯甲醛(15.6 克)與 3-氟苄基甲磺酸鹽替代與 3-氟苯甲氯反應，而以 97.5%產率製備得 4-(3-氟苄氧)苯甲醛，其中利用 GC(見實施例 16B)測得之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛的含量為 0.45 重量%。根據實施例 5.1 之程序進一步純化此產物。

<實施例 6>

[高純度(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(沙芬醯胺，Ia)之製備(一鍋反應)]

於熱壓釜中裝入如於實施例 4 中製備得之 4-(3-氟苄氧)苄甲醛(2.0 公斤，8.69 莫耳)，隨後再於其中加入分開製備之 L-丙胺醯胺鹽酸鹽(1.2 公斤，9.63 莫耳)及三乙胺(0.97 公斤，9.63 莫耳)於甲醇(7.1 公斤)中之溶液。

將混合物於 20-25°C 下攪拌 1 小時，及於加入數克 (S)-2-[4-(3-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺作為晶種後，再多持續攪拌 15 分鐘。然後於 20-25°C 下於經攪拌的不勻相混合物中加入甲醇(1.8 公斤)及濕(50% H₂O)Pt/C 5% (Engelhard cod. Escat 22)(0.3 公斤)。

利用氮將空氣自熱壓釜中排除，然後於 5.0 巴下引入氮。

於在 30-35°C 下 5 小時後，使混合物冷卻至 15°C，加入甲醇(4.8 公斤)且將混合物加熱至 40-45°C；最後將固體濾除且以甲醇(1.6 公斤)洗滌。

於減壓下在大約 30°C 下除去溶劑，然後將乙酸乙酯(23.0 公斤)及水(18.0 公斤)之混合物加至殘留物。於攪拌 15 分鐘後，將水相分離且以乙酸乙酯(7.0 公斤)萃取。將收集得之有機相濃縮直至得到大約 6.0 公斤之殘留物為止。於此殘留物中加入正庚烷(10.8 公斤)，且將混合物於 20°C 下攪拌約 2 小時。然後經由過濾收集固體且以正庚烷洗滌。

於在減壓下乾燥固體後，獲得 2.41 公斤(91.8%產率)之標

題化合物，其之 HPLC 純度為 98.4 (面積%，見實施例 17A)，且 C,O-二苄基化(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之含量為 0.005 重量%(見實施例 17B)。

6.1 利用 Pd 催化劑製備高純度之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)

根據實施例 6 之相同程序，經由使用濕(50% H₂O)Pd/C 10%替代濕(50% H₂O)Pt/C 5%，在相應量之 L-丙胺醯胺鹽酸鹽及三乙胺之存在下將(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄甲醛(5 克)氫化，而以 72%產率製得 Ia。

6.2 經由在 1 巴下氫化而製備高純度之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)

根據實施例 6 之相同程序，但在 1 巴/H₂下而非 5 巴/H₂下，將(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄甲醛、L-丙胺醯胺鹽酸鹽及三乙胺之混合物氫化。

(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之產率為 90%，其之 HPLC 純度為 98.7 (面積%，見實施例 17A)，且利用 HPLC(見實施例 17B)測得之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之含量為 0.005 重量%。

6.3 利用 L-丙胺醯胺鹼製備高純度之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)(一鍋反應)

根據實施例 6 之相同程序，但使用 L-丙胺醯胺鹼替代其之鹽酸鹽及三乙胺，使(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄甲醛(10 克)反

應。(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之產率為 92%，其之 HPLC 純度為 99.7(面積%，見實施例 17A)，且利用 HPLC(見實施例 17B)測得之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之含量係低於 0.005 重量%。

<實施例 7>

[高純度(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽(沙芬醯胺甲磺酸鹽，Ic)之製備]

● 將如實施例 6 中所述而製備得之沙芬醯胺(2.41 公斤，7.97 莫耳)在 65°C 下溶解於乙酸乙酯(56.5 公斤)中，且利用木炭(100 克)脫色。

過濾後，將溶液攪拌且加入數克沙芬醯胺甲磺酸鹽作為晶種，15 分鐘後，在 50-55°C 溫度下於 30 分鐘內加入甲磺酸(850 克，8.84 莫耳)。使懸浮液於攪拌下在 2 小時期間內冷卻至 20-25°C，且再多攪拌 1 小時。最後經由過濾收集沈澱物，且於減壓下乾燥而得 2.83 公斤(89.1%產率)之沙芬醯胺甲磺酸鹽。

● 利用 HPLC(見實施例 17B)測得之雜質(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽(IIc)的含量為 0.005 重量%。標題化合物利用 DSC(5°C / 分鐘)測得之熔點為 216.8°C。

利用對掌性 HPLC 管柱測得之鏡像異構純度超過 99.9(面積%，見實施例 19)。

$^1\text{H-NMR}(\text{D}_2\text{O})(\text{Bruker A V300}) \delta$ (ppm, 相對於 H_2O 在 4.7 ppm 下) : 1.43 (3H, d, $J=7$ Hz, CH_3) ; 2.66 (3H, s, $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$) ; 3.87 (1H, q, $J=7$ Hz, H-2) ; 3.97 (2H, bs, CH_2NR) ; 4.89 (2H, s, CH_2OR) ; 6.88 及 7.23 (4H, AA'XX' 芳族對-二取代系統 ; 6.90÷7.22 (4H, 芳族 H)

$^{13}\text{C-NMR}(\text{D}_2\text{O})(\text{Bruker AV300}) \delta$ ppm : 15.68 (CH_3) ; 38.27 ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$) ; 48.99 (CH_2NR) ; 54.81 (CH) ; 69.00 (OCH_2) ; 114.15 (d, $J_{\text{C-F}}=21$ Hz, 芳族 CH) ; 114.76 (d, $J_{\text{C-F}}=20$ Hz, 芳族 CH) ; 115.38 (芳族 CH) ; 123.06 (d, $J_{\text{C-F}}=24$ Hz, 芳族 CH) ; 123.24 ; 130.29 (d, $J_{\text{C-F}}=6$ Hz, 芳族 CH) ; 131.54 (芳族 CH) ; 138.76 (d, $J_{\text{C-F}}=7$ Hz, 芳族 CH) ; 158.52 ; 162.89 (d, $J_{\text{C-F}}=245$ Hz, C-F) ; 171.92 (CO)

<實施例 8>

[在分離中間體希夫鹼(S)-2-[4-(3-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺(VIa)之情況下製備高純度之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(沙芬醯胺, Ia)]

a) (S)-2-[4-(3-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺(VIa)

在室溫下在攪拌及在氮大氣下, 將三乙胺(29.1 克, 0.29 莫耳)添加至如於實施例 5 中製備得之 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(60.0 克, 0.26 莫耳)及 L-丙胺醯胺鹽酸鹽(35.7 克, 0.29 莫耳)於甲醇(280 毫升)中之懸浮液中。再多維持攪拌 1 小時。

然後將溶液加入數毫克之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)亞苄胺基]丙

醯胺作為晶種，使溫度降至 5-10°C 且持續攪拌 2 小時。

經由過濾收集固體且以 0°C 甲醇洗滌。

於在減壓下乾燥後，獲得 57.3 克(73.2%產率)之標題化合物，其利用 DSC(5°C / 分鐘)測得之熔點為 112.0°C。

¹H-NMR(DMSO-d₆)(Bruker AV300) δ (ppm，相對於 TMS 在 2.55 ppm 下；DMSO 溶劑在 3.35 ppm 下)： 1.31 (3H, d, J=7 Hz, CH₃)；3.86 (1H, q, J=7 Hz, H-2)；5.18 (2H, s, CH₂OR)；7.08 及 7.79 (4H, AA'XX'對-二取代芳族系統)；7.10-7.50 (4H, m, 芳族 H)；8.27 (1H, s, CH=NR)。

¹³C-NMR (DMSO-d₆)(Bruker AV300) δ (ppm)： 20.5 (CH₃)；67.6 (CH)；68.4 (OCH₂)；114.1 e 114.4 (d, J_{C-F}=21 Hz, 芳族)CH；114.5 e 114.8 (d, J_{C-F}=21 Hz；芳族 CH；114.8 (芳族 CH)；123.5 (d, J_{C-F}=2 Hz, 芳族 CH)；129.0 及 129.9 (芳族 CH)；130.4 及 130.5 (d, J_{CF}=7 Hz, 芳族 CH)；139.6 及 139.7 (d, J_{C-F}=6 Hz, 芳族第四 C)；160.2；160.5 及 163.8 (d, J_{C-F}=245 Hz, C-F)；160.6 (CH=N)；174.8 (CO)

b) (S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)

於熱壓釜中裝入如前所述而製備得之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺(16.0 克；0.053 莫耳)及濕(50% H₂O)Pt/C 5% (1.7 公斤:Engelhard S.r.l., Rome, Italy)，且於其中加入甲醇(90 毫升)。利用氮將空氣自熱壓釜中排除，然後於 5.0 巴下引入氫。將反應於 5.0 巴及 35°C 下維持 1 小時。於冷卻至

室溫且經由過濾除去催化劑後，將溶劑於減壓下餾除直至得到大約 30 克之殘留物為止。於此殘留物中加入乙酸乙酯(150 毫升)及 H₂O(110 毫升)之混合物，且將不勻相混合物加熱至 40°C，直至獲得兩清晰的相為止。將此兩相分離，且於 40°C 下以 50 毫升之乙酸乙酯萃取水層。收集有機相且蒸發至乾。經由加入每次 90 毫升之乙酸乙酯將此程序重複兩次，而使產物成為無水。然後於攪拌下將 95 毫升之正庚烷緩慢地加入至殘留物中。接著將混合物於攪拌下在 20°C 下維持 3 小時。經由過濾收集生成之固體，以正庚烷(15 毫升)洗滌且於減壓下乾燥而得 15.2 克(94.8%產率)之沙芬醯胺，其之 HPLC 純度為 99.8(面積%，見實施例 17A)，且利用 HPLC(見實施例 17B)測得之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之含量係低於 0.005 重量%。

<實施例 9>

[在分離中間體希夫鹼(S)-2-[4-(2-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺(VIb)之情況下製備高純度之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(羅芬醯胺，Ib)]

a) (S)-2-[4-(2-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺(VIb)

經由依循實施例 8，步驟 a)之相同程序，但使用 4-(2-氟苄氧)苯甲醛替代 4-(3-氟苄氧)苯甲醛，而以 88%產率製備得(S)-2-[4-(2-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺，熔點 121°C(毛細管)。

¹H-NMR: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, 相對於 TMS):

1.46 (3H, d, $J=7.0$ Hz, CH_3); 3.91 (1H, q, $J=7.0$ Hz, CH-CO); 5.17 (2H, s, O-CH_2); 7.02 (2H, d, $J=8.9$ Hz, 對 O-CH_2 鄰位之芳族 H); 7.09 (1H, ddd, $J_{\text{H-F}}=9.78$ Hz, $J_{\text{鄰位}}=8.55$ Hz, $J_{\text{間位}}=1.23$ Hz, 對 F 鄰位之芳族 H); 7.15 (1H, dt, $J_{\text{鄰位}}=7.35$ Hz, $J_{\text{間位}}=1.23$ Hz, 對 F 對位之芳族 H); 7.27-7.40 (1H, m, 對 CH_2 對位之芳族 H); 7.48 (1H, dt, $J_{\text{鄰位}}=J_{\text{H-F}}=7.35$ Hz, $J_{\text{間位}}=1.53$ Hz, 對 CH_2 鄰位之芳族 H); 7.71 (2H, d, $J=8.9$ Hz, 對 CH=N 鄰位之芳族 H); 8.17 (1H, s, C=N)

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3 , 75.4 MHz, 298K) δ (ppm): 21.4 (CH_3); 63.8 (OCH_2); 68.4 (H_2NCOCH); 115.0 (d, $J_{\text{C-F}}=22.4$ Hz, 芳族 CH); 115.5 (d, $J_{\text{C-F}}=20.7$ Hz, 芳族 CH); 123.7 (d, $J_{\text{C-F}}=14.4$ Hz, 第四芳族 C); 124.5 (bd, 芳族 CH); 129.0 (第四芳族 C); 129.8 (bd, 芳族 CH); 130.1 (bd, 2 芳族 CH); 160.5 (d, $J_{\text{C-F}}=246.4$ Hz, 第四芳族 C); 161.1 (芳族 C-O); 161.1 (C=N); 176.9 (CONH_2)

b) (S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ib)

經由依循實施例 8，步驟 b)之相同程序，而自(S)-2-[4-(2-氟苄氧)亞苄胺基]丙醯胺以 93%產率製備得(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺。利用 HPLC(見實施例 17B)測得之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之含量為 0.02 重量%。

<實施例 10>

[(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽 (IIc)之製備]

a) 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛(Va)

於維持在氮大氣下的 4 公升圓底燒瓶中依序加入 4-羥基苯甲醛(400 克, 3.28 莫耳)、碳酸鉀(453 克, 3.28 莫耳)、甲苯(2 公升)及 3-氟苯甲氯(1400 克, 9.68 莫耳), 且使混合物於攪拌下回流 5 天。此時的 GC 分析顯示反應混合物包含 91.4:8.6(面積/面積, 見實施例 16A)之比例的 4-(3-氟苄氧)苯甲醛及 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛。

使反應混合物冷卻至室溫, 然後於攪拌下加入 2 公升水。將有機相分離, 且將溶劑於減壓(20 mmHg)於 35°C 下蒸餾, 直至不再有溶劑通過為止。然後使壓力降至 3mmHg, 且將外部溫度提升至 300°C, 並收集於 255°C 與 265°C 之間蒸餾的餾分(40.6 克)。

GC 分析顯示標題化合物之 C,O-二苄基化衍生物(Va)對單烷基化衍生物(IVa)的面積/面積比為 99.6:0.4(面積/面積, 見實施例 16A)。

¹H-NMR(CDCl₃)(Bruker AV300) δ (ppm, 相對於 TMS): 4.05 (2H, *s*, CH₂); 5.13 (2H, *s*, OCH₂); 6.85-7.40 (9H, *m*, 芳族 H); 7.73-7.79 (2H, *m*, 對 C=O 鄰位之芳族 H); 9.88 (*s*, CHO)。

¹³C-NMR(CDCl₃)(Bruker AV300) δ (ppm): 36.1 (CH₂); 69.4 (CH₂O); 111.4 (芳族 CH); 112.9 及 113.2 (*d*, J_{C-F}=20 Hz, 芳

族 CH)；113.9 及 114.2 (d , $J_{C-F}=22$ Hz, 芳族 CH)；114.9 及 115.0 (d , $J_{C-F}=21$ Hz, 芳族 CH)；115.7 及 115.9 (d , $J_{C-F}=25$ Hz, 芳族 CH)；122.6 (d , $J_{C-F}=3$ Hz, 芳族 CH)；124.4 (d , $J_{C-F}=3$ Hz, 芳族 CH)；129.6 及 129.8 (d , $J_{C-F}=8$ Hz, 芳族 CH)；(d , $J_{C-F}=7$ Hz, 第四芳族 C)；129.9 (C 第四芳族 C)；130.0 (第四芳族 C)；130.1 及 130.2 (d , $J_{C-F}=7$ Hz, CH 芳族)；131.2 (芳族 CH)；131.5 (芳族 CH)；138.3 (d , $J_{C-F}=7$ Hz, 第四芳族 C)；142.3 (d , $J_{C-F}=7$ Hz, 第四芳族 C)；161.0、161.2 及 164.4 (d , $J_{C-F}=240$, 2 C-F 重疊)；190.8 (CHO)。

b) (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIa)

在室溫下將先前經由小心地於攪拌下將三乙胺(12 克，0.119 莫耳)添加至 170 毫升之 L-丙胺醯胺鹽酸鹽(14.8 克，0.119 莫耳)之甲醇溶液中而製備得之溶液添加至存於 500 毫升燒瓶中之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛(35.6 克，0.105 莫耳)中。

將此反應混合物於室溫下攪拌 1 小時，然後將其轉移至 1.8 公升熱壓釜中，並加入 3.4 克之濕(50% H_2O) Pt/C 5%。

利用氮將空氣自熱壓釜中排除，然後於 5.0 巴下引入氫。

使反應於 35°C 溫度下進行 3-5 小時。

於冷卻至室溫且經由過濾除去催化劑後，將溶劑於減壓下餾除直至得到大約 65 克之殘留物為止。於此殘留物中加入乙酸乙酯(340 毫升)及水(250 毫升)之混合物，且將不勻相混

合物溫至 40°C，並在無攪拌下維持於此溫度下，直至獲得兩清晰的相為止。將此兩相分離，且將有機相於減壓下蒸餾，直至獲得大約 50 克之殘留物為止。

將此殘留物溶解於 220 毫升之乙酸乙酯中，且利用 40°C 之外部溫度將溶劑於減壓下餾除。將此操作重複兩次，且獲得標題化合物之固體殘留物。

c) (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽 (IIc)

於 2 公升之玻璃反應器中將 42.4 克(0.103 莫耳)之(S)-3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺鹼溶解於 950 毫升之乙酸乙酯中。

將溶液在 50-55°C 於攪拌下加熱，且於此溫度下維持 1 小時。於此溶液中在 20 分鐘內加入 14.5 克(0.15 莫耳)之甲磺酸，且使溫度於 90 分鐘內降至 20°C。於 30 分鐘後，經由過濾收集固體，於 50°C 在減壓下乾燥，然後自甲醇(甲醇：產物 1:5 重量比)結晶而得 25.1 克之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽，熔點 181°C(毛細管)。

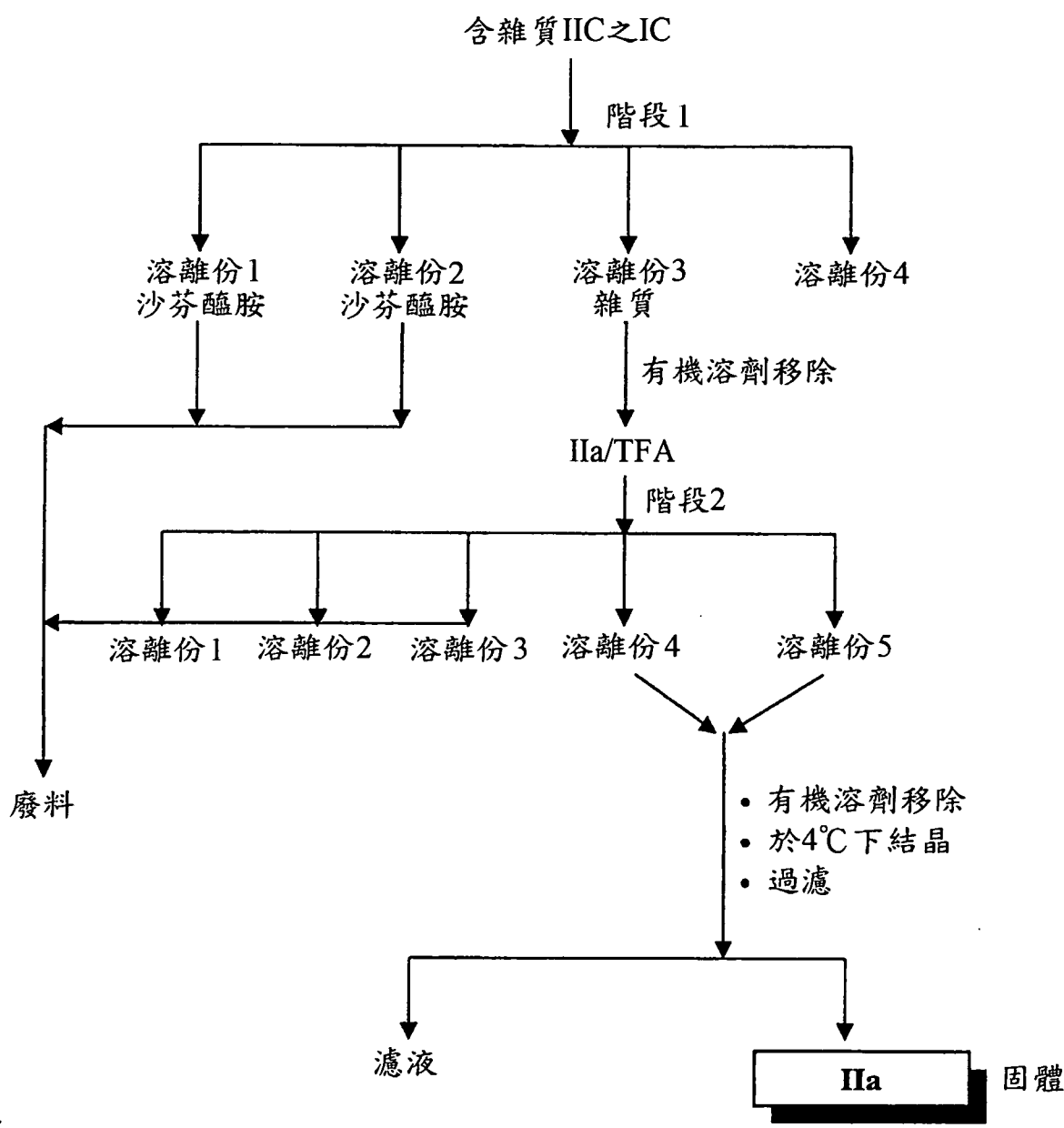
¹H-NMR(DMSO-d₆)(Bruker AV300) δ (ppm，相對於 TMS)：1.44 (3H, *d*, J=7Hz, CH₃)；2.35 (3H, *s*, CH₃SO₃)；3.81 (1H, *q*, J=7 Hz, H-2)；3.99 (2H, *bs*, CH₂ 苄基系)；4.02 (2H, AB 系統, CH₂N-)；5.17 (2H, *s*, CH₂OR)；6.98-7.63 (11H, *m*, 芳族 H)；7.62 及 7.75 (2H, *bs*, NH₂ 醯胺)；9.02 (2H, 寬, NH₂⁺)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6)(Bruker AV300) δ (ppm) : 15.9 (CH_3) ; 35.5 (CH_2) ; 39.7 ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$) ; 48.1 (CH_2NR) ; 54.4 (CH) ; 68.4 (OCH_2) ; 112.2 (芳族 CH) ; 112.7 (d, $J_{\text{C-F}}=22\text{Hz}$, 芳族 CH) ; 113.8 (d, $J_{\text{C-F}}=22\text{Hz}$, 芳族 CH) ; 114.5 (d, $J_{\text{C-F}}=22\text{ Hz}$, 芳族 CH) ; 115.2 (d, $J_{\text{C-F}}=22\text{Hz}$, 芳族 CH) ; 123.2 (芳族 CH) ; 123.8 ; 124.6 (芳族 CH) ; 128.7 及 130.0 (d, $J_{\text{H-C-F}}=6\text{Hz}$, 芳族 CH) ; 130.04 (芳族 CH) ; 130.3 (d, $J_{\text{C-F}}=6\text{Hz}$, 芳族 CH) ; 132.6 (芳族 CH) ; 139.8 (d, $J_{\text{C-F}}=7\text{Hz}$) ; 143.4 (d, $J_{\text{C-F}}=7\text{Hz}$) ; 158.1 、 160.5 及 163.7 (d, $J_{\text{C-F}}=240$, C-F) ; 160.6 及 163.8 (d, $J_{\text{C-F}}=240$, C-F) ; 170.5 (CON) 。

亦藉由製備性 HPLC 自根據 J. Med. Chem., 1998, 41, 579, 方法 A 製備得之 200 克沙芬醯胺甲磺酸鹽(Ic)(其包含 0.12 重量%之甲磺酸鹽(IIc))分離(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIa)之樣品(90 毫克)。

分離係根據以下流程分兩階段(階段 1 及階段 2)進行：

藉由受 0.12 重量% IIc 污染之沙芬醯胺甲磺酸鹽(Ic)之製備
性 HPLC 分離 IIa



[階段 1]

第一階段之範圍係分離富含 IIa/TFA(三氟乙酸)之粗製產物。

將製備性 HPLC 條件記述於下：

製備性 HPLC 條件：

儀器： Waters Delta Prep 4000 (往復泵，利用低壓混合器的梯度控制器)

Radial Compression Module Prep LC

Base (Waters)

Jasco 7125 UV 可變偵測器，o.p. 0.2 mm

Merk D2000 印表機-繪圖機

管柱： Delta Pak C18, 15 μ m, 40x100mm (Waters)

溶析液 A： 70/30, 水／乙腈+0.1% TFA

溶析液 B： 30/70, 水／乙腈+0.1% TFA

流率： 27.0 ml/min

梯度： 40 min, 等梯度 100% A，隨後於 1 分鐘內至 100% B

偵測： UV 227 nm

注射： 5g 於 50 ml 水中(經由泵入口管線 D)

[階段 2]

需要此階段以自 IIa/TFA 除去 TFA 及進一步純化 IIa。

使用以下所給之製備性 HPLC 條件層析 IIa/TFA。

將溶離份 4 及 5 結合在一起，且於 40°C 下於真空中蒸發，直至將乙腈完全移除為止。將殘留的水溶液保存於 4°C 的冰箱中。經由過濾分離不溶物，且於真空中在室溫下乾燥而得 IIa(90 毫克；HPLC 純度 100%)。

製備性 HPLC 條件：

儀器： Waters Delta Prep 4000 (往復泵，利用低壓混合器的梯度控制器)

Jasco 7125 UV 可變偵測器，o.p. 0.2 mm

Merk D2000 印表機-繪圖機

管柱： Symmetry C18, 7 μ m, 20x250mm (Waters)

溶析液 A： 70/30，水／乙腈

溶析液 B： 30/70，水／乙腈

流率： 15.0 ml/min

梯度： 20 min, 等梯度 100% A，隨後於 10 分鐘內至 100% B

偵測： UV 227 nm

注射： 50 ml 之雜質「IIa/TFA」溶液(經由泵入口管線 D)

<實施例 11>

[(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽 (IIId)之製備]

a) 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛(Vb)

經由依循實施例 10，步驟 a)之相同程序以 1:10 規模製備 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛，但使用 2-氟苯甲氯替代 3-氟苯甲氯。莫耳產率為 3%，利用 GC 分析(面積%，見實施例 16A)測得之純度為 98.1。產物具有熔點 71°C(毛細管)。

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 300 MHz, 298K) δ (ppm, 相對於 TMS): 4.06 (2H, s, CH_2); 5.23 (2H, s, OCH_2); 6.95-7.40 (9H, m, 芳族 H); 7.67 (1H, bd, $J=0.9$ Hz, 對 C=O 及 CH_2 鄰位之芳族 H); 7.76 (1H, dd, $J_1=2.1$ Hz, $J_2=8.3$ Hz, 對 C=O 及芳族 CH 鄰位之芳族 H); 9.84 (1 H, s, CHO)。

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3 , 75.4 MHz, 298K) δ (ppm): 29.2 (CH_2); 64.1 (OCH_2); 111.4 (芳族 CH); 115.4 (d, $J_{\text{C-F}}=22.0$ Hz, 芳族 CH); 115.5 (d, $J_{\text{C-F}}=21.1$ Hz, 芳族 CH); 123.3 (d, $J_{\text{C-F}}=14.2$ Hz, 第四芳族 C); 124.1 (d, $J_{\text{C-F}}=2.6$ Hz, 芳族 CH); 124.5 (d, $J_{\text{C-F}}=3.2$ Hz, 芳族 CH); 126.6 (d, $J_{\text{C-F}}=15.5$ Hz, 第四芳族 C); 128.2 (d, $J_{\text{C-F}}=8.1$ Hz, 芳族 CH); 129.6 (d, $J_{\text{C-F}}=6.2$ Hz, 芳族 CH); 129.6 (第四芳族 C); 130.0 (第四芳族 C); 130.2 (d, $J_{\text{C-F}}=8.3$ Hz, 芳族 CH); 131.1 (芳族 CH); 131.3 (d, $J_{\text{C-F}}=4.1$ Hz, 芳族 CH); 131.8 (芳族 CH); 160.5 (d, $J_{\text{C-F}}=246.8$ Hz, 第四芳族 C); 161.2 (d, $J_{\text{C-F}}=245.1$ Hz, 第四芳族 C); 161.3 (第四芳族 C); 191.1 (CHO)。

b) (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIb)

經由依循實施例 10，步驟 b)之相同程序經由使用 3-(2-氟

苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛替代 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯
 甲醛，而製備得(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙
 醯胺。產率為 83%；熔點 161°C (毛細管)。

¹H-NMR: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, 相對於 TMS):
 1.32 (3H, d, J=6.7 Hz, CH₃); 1.97 (1H, bs, NH); 3.22 (1H, q,
 J=6.7 Hz, CH-CO); 3.67 (2H, ABq, J=12.8 Hz, NCH₂ 之非鏡
 像異構向性 H); 4.03 (2H, s, CH₂); 5.12 (2H, s, OCH₂); 5.98
 (1H, bs, NH₂); 6.89 (1H, d, J_{鄰位}=8.3 Hz, 對 CH₂NH 及芳族
 CH 鄰位之芳族 H); 6.95-7.40 (10H, m, 芳族 H)。

¹³C-NMR: (CDCl₃, 75.4 MHz, 298K) δ (ppm): 19.6 (CH₃);
 29.2 (CH₂); 52.0 (NHCH₂); 57.7 (H₂NCOCH); 63.8 (OCH₂);
 111.7 (芳族 CH); 115.2 (d, J_{C-F}=21.9 Hz, 芳族 CH); 115.3 (d,
 J_{C-F}=21.3 Hz, 芳族 CH); 124.0 (d, J_{C-F}=3.5 Hz, 芳族 CH);
 124.3 (d, J_{C-F}=2.9 Hz, 芳族 CH); 124.3 (d, J_{C-F}=14.4 Hz, 第
 四芳族 C); 127.5 (芳族 CH); 127.6 (d, J_{C-F}=15.0 Hz, 第四芳
 族 C); 127.8 (d, J_{C-F}=7.5 Hz, 芳族 CH); 128.8 (第四芳族 C);
 129.0-130.0 (m, 2 芳族 CH); 130.5 (芳族 CH); 131.3 (d,
 J_{C-F}=4.6 Hz, 芳族 CH); 131.8 (第四芳族 C); 155.6 (第四芳
 族 C); 160.4 (d, J_{C-F}=245.8 Hz, 第四芳族 C); 161.2 (d,
 J_{C-F}=244.6 Hz, 第四芳族 C); 178.2 (CONH₂)。

c) (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽
 (IIId)

經由依循實施例 10，步驟 c)之相同程序，但使用 (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺作為起始物料，而製備得(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽。產率為 89%；熔點 190°C(毛細管)。

¹H-NMR：(DMSO-d₆，300 MHz，298K) δ (ppm，相對於 TMS)：1.42 (3H, d, J=6.8 Hz, CH₃CH)；2.33 (3H, s, CH₃SO₃)；3.50-4.20 (5H, m, CH-CO, CH₂, NCH₂ 之非鏡像異構向性 H)；5.19 (2H, s, OCH₂)；6.95-8.00 (11H, m, 芳族 H)；9.02 (2H, bs, NH₂⁺)。

¹³C-NMR：(DMSO-d₆，75.4 MHz，298K) δ (ppm)：16.5 (CH₃)；28.8 (CH₂)；48.6 (NHCH₂)；54.9 (H₂NCOCH)；64.3 (OCH₂)；112.8 (芳族 CH)；115.0-117.0 (2 芳族 CH)；124.2 (d, J_{C-F}=14.4 Hz, 第四芳族 C)；124.4 (第四芳族 C)；124.8 (芳族 CH)；125.0 (芳族 CH)；127.3 (d, J_{C-F}=16.1 Hz, 第四芳族 C)；128.6 (第四芳族 C)；128.8 (芳族 CH)；129.0-133.0 (m, 5 芳族 CH)；156.9 (第四芳族 C)；160.8 (d, J_{C-F}=245.2 Hz, 第四芳族 C)；160.9 (d, J_{C-F}=243.5 Hz, 第四芳族 C)；171.1 (CONH₂)。

<實施例 12>

[自受 1 重量%雜質 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛(Va)污染之 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)製備(S)-2-[4-3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(沙芬醯胺)甲磺酸鹽(Ic)]

於 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(10 克，GC 純度 98.8，面積%)中加入 1%之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛，且經由依循實施例 6 之相同程序將混合物轉變為(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺沙芬醯胺鹼。產率為 84%，雜質(IIa)之含量為 0.84 重量%(見實施例 17B)。

經由依循實施例 7 之相同程序將游離鹼(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)轉變為相應的甲磺酸鹽，而以 98%產率提供甲磺酸鹽(Ic)，其中利用 HPLC(見實施例 17B)測得之雜質(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽(IIc)之含量為 0.62 重量%。

<實施例 13>

[使受雜質(IIc)污染之沙芬醯胺甲磺酸鹽(Ic)結晶]

經由使用五種不同溶劑系統經由在回流溫度下溶解及於室溫下冷卻，而使根據實施例 12 所獲得之受利用 HPLC (見實施例 17B)測得為 0.62 重量%之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽(IIc)污染之沙芬醯胺甲磺酸鹽結晶。

結果記述於下表 5

[表 5]

試驗 編號	溶劑系統及量(mL/g)	於結晶後於 Ic 中之 IIc 之% w/w (*)	%莫耳產率
13a	2-PrOH/MeOH 2:1, 45	0.28	44.9
13b	EtOAc/MeOH 4:1, 50	0.15	29.6
13c	EtOH, 10	0.30	73.2
13d	丙酮/H ₂ O~27:1, 40.5	0.08	20.6
13e	乙腈/H ₂ O 60:1, 30.5	0.09	69.3

(*) % (w/w)係根據實施例 17B 評估。

<實施例 14>

[根據先前技藝中所述之方法製備(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(沙芬醯胺，Ia)甲磺酸鹽(Ic)]

14.1 製備 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)

14.1.a) US 6,335,354 B2 之實施例 1a 之程序

由 US 6,335,354 B2 之實施例 1a 中所述之程序製備 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)。

因此，使 3-氟苯甲氯(2.86 克，19.80 毫莫耳)、4-羥基苯甲醛(3.03 克，24.80 毫莫耳)、K₂CO₃(10.30 克，74.50 毫莫耳)、NaI (137.1 毫克，0.91 毫莫耳)、及乙醇(40 毫升)之混合物於 70 分鐘內加熱至回流，且於回流溫度下保持 4 小時又 15 分鐘。

於處理反應混合物後，以 95%產率分離出 4-(3-氟苄氧)苯甲醛之黃色油。

產物具有 97.6(面積%，見實施例 16A)之 GC 純度及利用 GC (見實施例 16B)測得為 0.14 重量%之 3-(3-氟苄基)-4-(3-

氟苄氧)苯甲醛(Va)含量。

14.1.b) J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979 之程序

經由 J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979 中所記述之程序製備 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)。

因此，於攪拌下及於氮大氣下將 3-氟苄甲氧(14.5 克，100 毫莫耳)添加至 4-羥基苯甲醛(12.2 克，100 毫莫耳)及 NaOH(4.0 克，100 毫莫耳)於乙醇(100 毫升)中之溶液中。

使混合物於 25 分鐘內逐漸加熱至回流，且於回流溫度下攪拌 6 小時又 20 分鐘。將反應混合物過濾，然後於減壓下濃縮而得 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(23.43 克)之黃色固體殘留物。將二氯甲烷(250 毫升)加至殘留物，將不溶物過濾，且將所得溶液於減壓下濃縮而以 80.4%產率提供 4-(3-氟苄氧)苯甲醛之黃色固體。產物具有 91.6(面積%，見實施例 16A)之 GC 純度及利用 GC (見實施例 16B)測得為 0.13 重量%之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛(Va)含量。

14.2 製備(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)及其之甲磺酸鹽(Ic)

14.2.a) J. Med. Chem., 1998, 41, 579, 方法 A 之程序

經由使如實施例 14.1.a.中所述而製備得之 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(10 毫莫耳)與 L-丙胺醯胺鹽酸鹽(1.37 克，11 毫莫耳)反應，隨後再利用 NaBH₃CN(0.50 克，8 毫莫耳)還原，而製備得(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)。於處理反應混合

物且利用急速層析純化後，以 68.7%產率分離得(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之白色固體。產物具有 96.2(面積%，見實施例 17A)之 HPLC 純度及 0.15 重量%(見實施例 17B)之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIa)含量。

將(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(1.50 克，4.96 毫莫耳)及乙酸乙酯(40.2 毫升)之混合物加熱至 50°C，直至得到澄清溶液為止。於攪拌下在 15 分鐘內將甲磺酸(0.53 克，5.51 毫莫耳)添加至溶液，且使所得之不勻相混合物在攪拌下於 90 分鐘內冷卻至 20°C。於在 20°C 下 30 分鐘後，經由過濾收集固體，以乙酸乙酯(6 毫升)洗滌且於 50°C 於減壓下乾燥 15 小時，而以 96.1%產率提供(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽(Ic)之白色固體。產物具有 98.6(面積%，見實施例 17A)之 HPLC 純度及利用 HPLC (見實施例 17B)測得為 0.10 重量%之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽(IIc)含量。

14.2.b) J. Med. Chem., 1998, 41, 579, 方法 A 之程序

根據實施例 14.2.a 自如實施例 14.1.b.中所述而製備得之 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(10 毫莫耳)及 L-丙胺醯胺鹽酸鹽(1.37 克，11 毫莫耳)，隨後再利用 NaBH₃CN(0.50 克，8 毫莫耳)還原，而製備得(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)。

以 66.5%產率製得(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)

之白色固體。產物具有 88.5(面積%，見實施例 17A)之 HPLC 純度及利用 HPLC (見實施例 17B)測得為 0.064 重量%之 (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIa)含量。經由根據實施例 14.2.a 利用甲磺酸處理，而以 88.9%產率將 (S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ia)轉變為相應的甲磺酸鹽(IIc)。產物具有 97.7(面積%，見實施例 17A)之 HPLC 純度及利用 HPLC (見實施例 17B)測得為 0.05 重量%之 (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽(IIc)含量。

<實施例 15>

[根據先前技藝中所述之方法製備(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(羅芬醯胺，Ib)甲磺酸鹽(Id)]

15.1 製備 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)

15.1.a) US 6,335,354 B2 之實施例 1a 之程序

根據實施例 14.1.a)自 2-氟苯甲氯(14.3 克，98 毫莫耳)、4-羥基苯甲醛(15.1 克，123 毫莫耳)、 K_2CO_3 (51 克，369 毫莫耳)、NaI (500 毫克，3.3 毫莫耳)、乙醇(75 毫升)製備 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)。

使混合物保持回流 12 小時。於處理反應混合物後，以 75% 產率獲得 4-(2-氟苄氧)苯甲醛之黃色油。產物具有 92.1(面積%，見實施例 16A)之 GC 純度及利用 G.C. (見實施例 16B)測得為 0.25 重量%之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛含

量。

15.1.b) J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979 之程序

根據實施例 14.1.b 自 2-氟苯甲氯(18.0 克, 123 毫莫耳)、4-羥基苯甲醛(15.3 克, 125 毫莫耳)、NaOH (5.0 克, 12 毫莫耳)及乙醇(125 毫升)製備 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)。

使混合物於 25 分鐘內加熱至回流, 且於回流溫度攪拌下維持 12 小時。

● 於根據實施例 14.1.b 處理反應混合物後, 以 90.0%產率獲得 4-(2-氟苄氧)苯甲醛之黃色固體。產物具有 90.4(面積%, 見實施例 16A)之 GC 純度及利用 G.C. (見實施例 16B)測得為 0.14 重量%之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛(Vb)含量。

15.2 製備(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ib)及其之甲磺酸鹽(Id)

15.2.a) J. Med. Chem, 1998, 41, 579, 方法 A 之程序

● 依循實施例 14.2.a 之程序經由使用 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(10 毫莫耳, 如於實施例 15.1a 中製備得)替代 4-(3-氟苄氧)苯甲醛, 而製備得(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ib)。

以 67.3%產率獲得(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之白色固體。產物具有 86.7(面積%, 見實施例 17A)之 HPLC 純度及利用 HPLC (見實施例 17B)測得為 0.22 重量%之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIb)含量。

將(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(1.50 克, 4.96 毫莫耳)

及丙-2-醇(10.5 毫升)之混合物加熱至 50°C，且維持於此溫度下直至得到澄清溶液為止。於攪拌下在 15 分鐘內加入甲磺酸(0.48 克，5.01 毫莫耳)。

然後使不勻相混合物於攪拌下在 2 小時內冷卻至 20°C。於在 20°C 下 1 小時後，經由過濾收集固體，於減壓下乾燥而以 89.1%產率提供(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽之白色固體。產物具有 96.9(面積%，見實施例 17A)之 HPLC 純度及利用 HPLC (見實施例 17B)測得為 0.14 重量%之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽(IIId)含量。

15.2.b) J. Med. Chem. 1998, 41, 579, 方法 A 之程序

根據實施例 14.2.b 經由使用 4-(2-氟苄氧)苯甲醛(10 毫莫耳，根據實施例 15.1.b 製備得)替代 4-(3-氟苄氧)苯甲醛，而製備得(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ib)。

以 58.8%產率獲得(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之白色固體。產物具有 83.8(面積%，見實施例 17A)之 HPLC 純度及利用 HPLC (見實施例 17B)測得為 0.15 重量%之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIb)含量。

以 89.4%產率將(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(Ib)轉變為相應的甲磺酸鹽(Id)之白色固體。產物具有 95.2 (面積%，見實施例 17A)之 HPLC 純度及利用 HPLC (見實施例 17B)測得為 0.11 重量%之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺

基]丙醯胺甲磺酸鹽含量。

<實施例 16A>

4-(3-氟苄氧)苯甲醛及 4-(2-氟苄氧)苯甲醛純度之 GC 測定

[試驗製劑]

將約 100 毫克之樣品溶解於 10 毫升之二氯甲烷中。

[層析條件]

利用下述條件進行層析程序：

- 60 米長及 0.32 毫米內徑之熔融矽石毛細管柱。RTX 35(35% 二苯基-65%二甲基聚矽氧烷)膜厚=0.25 微米；
- 以在 150 kPa 壓力下之氮作為遞送氣體；
- 25 毫升／分鐘之分流；
- 注射器溫度 290°C；
- 偵測器(FID)溫度 290°C；

利用以下的溫度程式：

時間(分鐘)	溫度(°C)	速率(°C/分鐘)	註
0-5	150	-	恆溫
5-11	150→240	15	線性梯度
11-19	240	-	恆溫
19-20.7	240→290	30	線性梯度
20.7-40	290	-	恆溫

[程序]

注入 1 微升之試驗製劑。記錄層析圖且經由面積百分比計算法計算產物純度。

[雜質鑑別]

4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)：

[滯留時間：]

4-(3-氟苄氧)苯甲醛之滯留時間為約 17。

4-羥基苯甲醛之相對滯留時間為約 0.52。

4-(2-氟苄氧)苯甲醛之相對滯留時間為約 0.98。

4-(4-氟苄氧)苯甲醛之相對滯留時間為約 1.01。

4-苄氧苯甲醛之相對滯留時間為約 1.02。

3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛之相對滯留時間為約 1.78。

4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)：

[滯留時間：]

4-(2-氟苄氧)苯甲醛之滯留時間為約 17。

4-羥基苯甲醛之相對滯留時間為約 0.53。

4-(3-氟苄氧)苯甲醛之相對滯留時間為約 1.02。

4-(4-氟苄氧)苯甲醛之相對滯留時間為約 1.03。

4-苄氧苯甲醛之相對滯留時間為約 1.04。

3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛之相對滯留時間為約 1.81。

<實施例 16B>

[4-(2-氟苄氧)苯甲醛(IVb)中之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛(Vb)及 4-(3-氟苄氧)苯甲醛(IVa)中之 3-(3-氟苄基)-4-(3-

氟苄氧)苯甲醛(Va)之含量的 GC 測定]

對於 4-(2-氟苄氧)苯甲醛經列入考慮的已知相關物質為 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛及對於 4-(3-氟苄氧)苯甲醛為 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛。測定係根據以下條件進行：

[內標準溶液]

製備於二氯甲烷中之濃度為 1.5 毫克／毫升的 3,4,5-三甲氧苯甲醛溶液(IS)。

[供於 4-(2-氟苄氧)苯甲醛中之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛測定用之參考溶液：]

於 20 毫升量瓶中準確地稱重約 20 毫克之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛參考標準及 20 毫克之 4-(2-氟苄氧)苯甲醛參考標準，利用稀釋劑溶解且稀釋至體積；將 500 微升之此溶液轉移至 5 毫升量瓶中，加入 500 微升之 IS 溶液且利用稀釋劑稀釋至體積，而得含有約 100 微克／毫升(相當於約 0.10%)之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛及 4-(2-氟苄氧)苯甲醛的溶液。

[供於 4-(3-氟苄氧)苯甲醛中之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛測定用之參考溶液：]

於 20 毫升量瓶中準確地稱重約 20 毫克之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛參考標準及 20 毫克之 4-(3-氟苄氧)苯甲醛參考標準，利用稀釋劑溶解且稀釋至體積；將 500

微升之此溶液轉移至 5 毫升量瓶中，加入 500 微升之 IS 溶液且利用稀釋劑稀釋至體積，而得含有約 100 微克／毫升（相當於約 0.10%）之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛及 4-(3-氟苄氧)苯甲醛的溶液。

[試驗溶液：]

於 5 毫升量瓶中準確地稱重約 500 毫克之試驗產物，加入 500 微升之 IS 溶液，利用稀釋劑溶解及稀釋至體積，而得具有約 100 毫克／毫升之已知濃度的溶液。

[層析條件：]

利用下述條件進行層析程序：

- 管柱：60 米長，0.32 毫米內徑之熔融矽石毛細管柱 RTX 35(35%二苯基-65%二甲基聚矽氧烷)，膜厚 0.25 微米；
- 在 150 kPa 壓力下之載體(氮)；
- 分流 25 毫升／分鐘；
- 注射器溫度 290℃；
- 偵測器(FID)溫度 290℃；
- 溫度程式：於 150℃ 下恆溫 0-5 分鐘，於 15℃／分鐘之速率下自 150℃ 線性升溫至 240℃ 5-11 分鐘，於 240℃ 下恆溫 11-19 分鐘，於 30℃／分鐘之速率下自 240℃ 線性升溫至 290℃ 19-21 分鐘，於 290℃ 下恆溫 21-40 分鐘；
- 稀釋劑：二氯甲烷
- 注射體積 1 微升。

[程序：]

注射空白(稀釋劑)、參考溶液、試驗溶液，且記錄層析圖。

於參考層析圖中確認：

4-(2-氟苄氧)苯甲醛之滯留時間係約 18 分鐘；

3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛之相對滯留時間係約 1.7

或

4-(3-氟苄氧)苯甲醛之滯留時間係約 18 分鐘；

● 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛之相對滯留時間係約 1.7

3,4,5-三甲氧苯甲醛(IS)之相對滯留時間係約 0.7

計算經由內標準計算驗證之 4-(2-氟苄氧)苯甲醛中之 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛或經驗證之 4-(3-氟苄氧)苯甲醛中之 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛的含量百分比。

● 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苯甲醛及 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苯甲醛之定量極限(LOQ)值為 0.005 重量%。兩經考慮雜質之偵測極限(LOD)值為 0.0025 重量%。

<實施例 17A>

[(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(沙芬醯胺，Ia)、其甲磺酸鹽(Ic)、(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(羅芬醯胺，Ib)及其甲磺酸鹽(Id)之純度的 HPLC 測定]

以下的層析程序適用於產物的游離鹼形式(Ia, Ib)及甲磺酸鹽(Ic, Id)兩者。

[稀釋劑]

流動相。

[試驗溶液]

於 25 毫升量瓶中準確地稱重約 25 毫克之產物，利用稀釋劑溶解及稀釋至體積，而得具有約 1.0 毫克／毫升之已知濃度的溶液。

[層析條件]

利用下述條件進行層析程序：

- 管柱：Waters Symmetry C8, 150x4.6 mm, 5 μ ；
- 偵測：UV 220 nm；
- 管柱溫度：30°C
- 流動相：40%溶劑 A+ 10%溶劑 B+ 50%溶劑 C，含有 1.0 克／公升之辛磺酸鈉；

溶劑 A：緩衝劑溶液 = KH_2PO_4 0.05M；

溶劑 B：乙腈；

溶劑 C：甲醇；

- 等梯度溶析，進行時間：60 分鐘；
- 流率：1.0 毫升／分鐘；
- 注射體積：10 微升。

[程序]

注射試驗溶液，記錄層析圖且經由面積百分比計算法計算產物純度。

[(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(沙芬醯胺)及相關雜質鑑別]

[滯留時間：]

(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之滯留時間係約 5.5 分鐘。

(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙酸之相對滯留時間係約 0.73。

(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之相對滯留時間係約 4.08。

(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(羅芬醯胺)及相關雜質鑑別

[滯留時間：]

(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之滯留時間係約 5.5 分鐘。

(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙酸之相對滯留時間係約 0.73。

(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之相對滯留時間係約 4.08。

<實施例 17B>

[(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼，Ib 及甲磺酸鹽，Id)中之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼，IIb 及甲磺酸鹽，IIc)及(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼，Ia 及甲磺酸鹽，Ic)中之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼，IIa 及甲磺酸鹽，IIc)

的 HPLC 測定]

根據以下條件進行(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼及甲磺酸鹽)樣品中之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼及甲磺酸鹽)及(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼及甲磺酸鹽)樣品中之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼及甲磺酸鹽)的測定：

[供(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺中之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺測定用之參考溶液：]

於 50 毫升量瓶中準確地稱重約 30 毫克之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽參考標準及 20 毫克之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺參考標準，利用稀釋劑溶解且稀釋至體積；利用稀釋劑將 1.0 毫升之此溶液稀釋至 20 毫升(第一稀釋)；利用稀釋劑將 1.0 毫升之最後溶液稀釋至 20 毫升(第二稀釋)而得含有約 1.20 微克／毫升之 2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(約 0.12%)及約 1.00 微克／毫升(約 0.10%)之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽的溶液。

[供(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽中之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽測定用之參考溶液：]

於 50 毫升量瓶中準確地稱重約 30 毫克之(S)-2-[3-(2-氟苄

基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽參考標準及 20 毫克之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽參考標準，利用稀釋劑溶解且稀釋至體積；利用稀釋劑將 1.0 毫升之此溶液稀釋至 20 毫升(第一稀釋)；利用稀釋劑將 1.0 毫升之最後溶液稀釋至 20 毫升(第二稀釋)而得含有約 1.20 微克／毫升之 2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(約 0.15% 之甲磺酸鹽)及約 1.00 微克／毫升(約 0.10%)之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽的溶液。

[供(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺中之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺用之參考溶液：]

於 50 毫升量瓶中準確地稱重約 24 毫克之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺參考標準及 20 毫克之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺參考標準，利用稀釋劑溶解且稀釋至體積；利用稀釋劑將 1.0 毫升之此溶液稀釋至 20 毫升(第一稀釋)；利用稀釋劑將 1.0 毫升之最後溶液稀釋至 20 毫升(第二稀釋)而得含有約 1.20 微克／毫升之 2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(約 0.12%)及約 1.00 微克／毫升(約 0.10%)之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽的溶液。

[供(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽中之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽用之參考溶液：]

於 50 毫升量瓶中準確地稱重約 24 毫克之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺參考標準及 20 毫克之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽參考標準，利用稀釋劑溶解且稀釋至體積；利用稀釋劑將 1.0 毫升之此溶液稀釋至 20 毫升(第一稀釋)；利用稀釋劑將 1.0 毫升之最後溶液稀釋至 20 毫升(第二稀釋)而得含有約 1.20 微克／毫升之 2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(約 0.15%之甲磺酸鹽)及約 1.00 微克／毫升(約 0.10%)之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽的溶液。

[試驗溶液：]

於 25 毫升量瓶中準確地稱重約 25 毫克之試驗產物，利用稀釋劑溶解及稀釋至體積，而得具有約 1.0 毫克／毫升之已知濃度的溶液。

[層析條件：]

利用下述條件進行層析程序：

- 管柱：Waters Symmetry C8 150x4.6 mm, 5 μ ，或相等管柱
- 管柱溫度：30°C
- 流動相：40%溶劑 A：10%溶劑 B：50%溶劑 C 之混合物，含有 1 克／公升之辛磺酸鈉

溶劑 A：緩衝劑溶液 0.05M KH₂PO₄；

溶劑 B：乙腈；

溶劑 C：甲醇；

- 等梯度溶析；
- 進行時間：60 分鐘；
- 流率：1.0 毫升／分鐘；
- 偵測：UV 220 nm；
- 注射體積：100 微升；
- 稀釋劑：流動相

[程序：]

● 注射空白(稀釋劑)、參考溶液、試驗溶液，且記錄層析圖。

於參考層析圖中確認以下的系統適用性參數：

(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之滯留時間係約 5.2 分鐘；

(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺峰之 USP 拖尾係在 0.8 與 1.5 間之範圍內；

(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之相對滯留時間係約 5.1。

或

(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之滯留時間係約 5.5 分鐘；

(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺峰之 USP 拖尾係在 0.8 與 1.5 間之範圍內；

(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之相對滯留時間係約 4.1。

調整流動相以得到系統適用性。

經由外標準計算法計算經驗證之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼及甲磺酸鹽)樣品中之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼及甲磺酸鹽)及經驗證之(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼及甲磺酸鹽)樣品中之(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(游離鹼及甲磺酸鹽)的含量百分比。

相應之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺及(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺中之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺及(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺的定量極限(LOQ)值為 0.004 重量%。相應之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽及(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽中之(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽及(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽的定量極限(LOQ)值為 0.005 重量%。所有經考慮雜質之偵測極限值為 0.001 重量%。
<實施例 18>

[(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(羅芬醯胺)甲磺酸鹽(Id)鏡像異構純度之 HPLC 測定]

利用 HPLC 評估樣品的鏡像異構純度。測定係根據以下程序進行：

[標準溶液 1：]

將約 5.3 毫克之(R)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽參考標準溶解於 25 毫升之流動相中。

[標準溶液 2：]

將約 8.0 毫克之(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽參考標準及 0.2 毫升之標準溶液 1 溶解於 50 毫升之流動相中。

相對於(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽之濃度計算得之(R)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽的濃度係約 0.5%。

[試驗溶液 1 及 2：]

重複地將約 8.0 毫克之試驗產物溶解於 50 毫升之流動相中。

[層析條件：]

- 管柱：Chiralpak WH 250mm x 4.6mm, I.D. 5 μ m；
- 管柱溫度：45°C；
- 流動相：0.25 mM CuSO₄(準確地將約 40 毫克之 CuSO₄ 稱重於 1000 毫升水中)／MeOH 60/40；
- 等梯度溶析；
- 流率：1.0 毫升／分鐘；
- 偵測：UV 230 nm；
- 注射體積：10 微升；
- 進行時間：15 分鐘。

[程序：]

分析空白(流動相)一次，標準溶液 2 兩次，試驗溶液 1 及 2 一次，並確認：

- 對於標準注射，(R)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽面積百分比之 RSD%係低於 2.0%；
- 對於標準及樣品溶液兩者，對於各次注射，主峰面積百分比係包括在平均值 $\pm 0.1\%$ 之間。

以兩次測定之平均計算(R)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺甲磺酸鹽含量(面積百分比)。

[滯留時間：]

(S)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之滯留時間係約 5.7 分鐘。

(R)-2-[4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之相對滯留時間係約 1.7。

<實施例 19>

[(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(沙芬醯胺)甲磺酸鹽(Ic)鏡像異構純度之 HPLC 測定]

利用 HPLC 評估樣品的鏡像異構純度。測定係根據以下條件進行：

[試驗溶液：]

將約 10 毫克之試驗樣品溶解於 10 毫升之流動相中。

[層析條件：]

- 管柱：Chiralpak WH 250mm x 4.6mm, I.D. 10 μ m；

- 管柱溫度：50℃；
- 流動相：0.25 mM CuSO₄
- 等梯度溶析；
- 流率：1.0 毫升／分鐘；
- 偵測：UV 200 nm；
- 注射體積：10 微升；
- 進行時間：30 分鐘。

● [程序：]

注入試驗溶液，且以面積百分比計算鏡像異構物峰響應。
(S)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之滯留時間係約 9.2 分鐘。

(R)-2-[4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺之相對滯留時間係約 1.9。

<實施例 20>

[細胞色素 P450 檢定法]

● 使用在 CYP 代謝時成為螢光的特異基質測量參與藥物代謝之五種最重要細胞色素 P450 同功異構型(CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及 CYP3A4)的抑制作用(Gentest Kit 檢定法)。

於含有培養／NADPH 再生緩衝液的 96 孔盤中測試化合物。加入特定的人類重組同功酶及基質，且於 37℃ 下對 CYP1A2/CEC 培養 15 分鐘，對 CYP2E1/MFC 培養 40 分鐘，對 CYP2C9/MFC 培養 45 分鐘及對其他的 CYP450 培養 30

分鐘。

特定基質如下：3- 氰基 -7- 乙氧香豆素 (CYP2C19 及 CYP1A2)，

7-甲氧-4-三氟甲基香豆素(CYP2C9)，

3[2(N,N-二乙基-N-甲胺基)乙基]-7-甲氧-4-甲基香豆素 (CYP2D6)

苜基苯基香豆素(CYP3A4)

於 Victor 讀盤機(Perkin Elmer)上在適當的發射／激發波長下讀取盤，且測定 IC₅₀(抑制 50%之酶活性的濃度)。結果記述於表 1 及 2。

<實施例 21>

[於人類神經母細胞瘤細胞株 SH-SY-5Y 中之細胞毒性檢定]

在時間零時，將細胞以 1.10^4 ／平方公分接種於 96 孔盤中之 DMEM 成長培養基+10%熱滅活 FBS+ 2mM 1-穀胺醯胺+100U/毫升-100 微克／毫升青黴素／鏈黴素。

於在成長的生長中(subconfluent)期 72 小時後，將培養基移除，且將細胞於 37°C 下在具有或沒有試驗化合物(20 微升，至少 5 個濃度重複三次)之 180 微升神經基質(neurobasal)培養基+ 2 mM 1-穀胺醯胺(Life Techonologies)中培養 24 小時。

在培養結束時，將 20 微升之 Alamar Blue 染料 (AlamarBlue™檢定套組，Promega)直接加至細胞培養基。

4 小時後，經由使用 Tecan Spectrafluor 讀盤機在 530 nm 激發及 595 nm 發射下測量螢光，而評估細胞毒性。

在處理之前及結束時，利用配合至影像分析儀(Image Pro Plus, 5.1)之 Olympus IX70 倒立式光學(inverted light)顯微鏡顯微監測培養物，以評估細胞形態。

結果以導致 50%致死率的濃度表示於表 1。

<實施例 22>

● [經轉染 CHO 細胞株中之 HERG 電流]

於穩定地表現重組 HERG 通道的 CHO 細胞中測試 HERG 電流之抑制。

為評估試驗化合物對 HERG 電流之效應，將細胞夾於-80 mV 下，去極化至 0 mV 5 秒以使 HERG 電流活化及於 5 秒期間內再極化至-50 mV 以使 HERG 尾電流去活化。在 0.06 Hz 之頻率下重複此程序。於暴露至試驗化合物之前及之後測量再極化時之電流振幅(HERG 尾電流)。

● 以在於外部槽灌流期間結束時測得之 HERG 尾電流振幅與在試驗化合物灌流期間結束時(當達到穩態效應時)測得之 HERG 尾電流之振幅之間之差除以對照 HERG 尾電流而計算電流的抑制。

經由將張力塊(tonic blocks)對藥物濃度作圖，而獲得藥物濃度 - 抑制曲線。根據邏輯方程式： $y=A2+(A1-A2)/[1+(x/IC_{50})^P]$ ，使劑量響應曲線擬合至張力塊

數據。A1 及 A2 係對應於 0 及 100% 電流抑制之 0 與 1 的固定值，x 係藥物濃度， IC_{50} 係導致 50% 電流抑制的藥物濃度及 p 係對應的斜率因子。結果記述於表 1。

<實施例 23>

[老鼠中的最大電休克試驗(MES)]

最大電休克試驗(MES)常被用於篩選齧齒類動物模型的抗癲癇藥物。

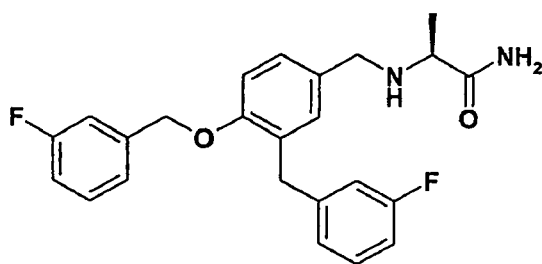
動物及裝置：使用重 25 克之公的 CD1 鼠。採行 White 等人(White H. S., Woodhead J. H., Franklin M. R., Swinyard E. A., 及 Wolf H. H. 抗癲癇藥物(Antiepileptic Drugs) (1995) 第 4 版：99-110, Raven Press, Ltd., New York)所述之程序。使用 Ugo Basile 電痙攣產生器(ECT UNIT 7801 型)於傳遞足以於至少 97% 之對照動物中產生後肢張力伸肌反應的電刺激。刺激係透過老鼠體內的電極夾經耳內傳遞(0.7 秒之 40 mA 電震，具 0.4 ms 脈衝期間之 80 Hz 的脈衝列)。檢測於 MES 誘導前 15-60 分鐘經腹膜內或口服投與化合物的急性效應，且與媒劑對照組作比較。每組研究的老鼠為十隻。將發作之後肢張力伸肌成分的完全抑制作為抗痙攣活性的證據。

以 3-30 毫克／公斤之劑量經口或經腹膜內投與本發明之化合物。

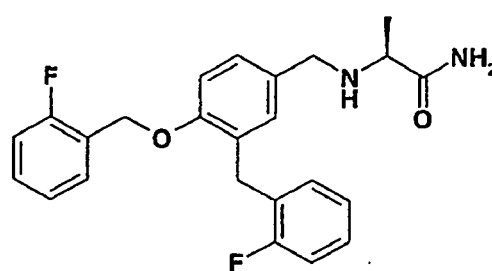
結果以保護%表示於表 3 及 4 中。

七、申請專利範圍：

1.一種高純度沙芬醯胺(a)或羅芬醯胺(b)或其與醫藥學上可接受酸之鹽之用途，其中，具有各別雜質(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIa)及(S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧)苄胺基]丙醯胺(IIb)



(IIa)



(IIb)

或其與醫藥學上可接受酸之鹽的含量低於 0.03 重量%，以作為製造在不會干擾 CYP450 系統之細胞色素，尤其係 CYP3A4、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9，且不會顯現 HERG 通道阻斷性質之情況下分別用於治療(a)癲癇、帕金森氏症(Parkinson's disease)、阿茲海默氏症(Alzheimer's disease)、憂鬱症、肢體不安(restless legs)症候群及偏頭痛或(b)包括慢性疼痛及神經性疼痛之疼痛症狀、偏頭痛、躁鬱症、憂鬱症、心血管、發炎、泌尿生殖器、代謝及胃腸病症之藥品。

2.如申請專利範圍第1項之高純度沙芬醯胺或羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受酸之鹽之用途，其中，式(IIa)及(IIb)之各別雜質或其與醫藥學上可接受酸之鹽的含量係低於 0.01 重量%。

3.如申請專利範圍第1項之高純度沙芬醯胺或羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受酸之鹽之用途，其中，該醫藥學上可接受酸係為甲磺酸。

4.如申請專利範圍第3項之高純度沙芬醯胺或羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受酸之鹽之用途，其中，該醫藥學上可接受酸係為甲磺酸，且作為與甲磺酸之鹽之式(IIa)及(IIb)之各別雜質的含量係低於0.01重量%。

5.一種高純度沙芬醯胺或羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受酸之鹽之用途，其係用於製造在經歸類為弱代謝者(PM)之病患中治療申請專利範圍第1項之病症或用於治療性地治療伴隨服用已知會與CYP450系統之細胞色素交互作用及／或已知具有HERG通道阻斷性質之其他藥物之病患之藥品。

6.如申請專利範圍第5項之用途，其中，該醫藥學上可接受酸係為甲磺酸。

7.如申請專利範圍第6項之用途，其中，該醫藥學上可接受酸係為甲磺酸，且作為與甲磺酸之鹽之式(IIa)及(IIb)之各別雜質的含量係低於0.01重量%。

8.一種申請專利範圍第1項之高純度羅芬醯胺或其醫藥學上可接受酸加成鹽之用途，其係作為製造治療躁鬱症之藥品。

9.如申請專利範圍第8項之用途，其中，該鹽為與甲磺酸

之鹽。

10.一種包含高純度沙芬醯胺(a)或羅芬醯胺(b)或其與醫藥學上可接受酸之鹽之醫藥配方，其中，如申請專利範圍第1項之式(IIa)及(IIb)之各別雜質或其與醫藥學上可接受酸之鹽的含量係低於0.03重量%，其在不曾干擾CYP450系統之細胞色素，尤其係CYP3A4、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9，且不會顯現HERG通道阻斷性質之情況下分別用於治療(a)癲癇、帕金森氏症、阿茲海默氏症、憂鬱症、肢體不安症候群及偏頭痛或(b)包括慢性疼痛及神經性疼痛之疼痛症狀、偏頭痛、躁鬱症、憂鬱症、心血管、發炎、泌尿生殖器、代謝及胃腸病症。

11.如申請專利範圍第10項之醫藥配方，其中，如申請專利範圍第1項之式(IIa)及(IIb)之各別雜質或其與醫藥學上可接受酸之鹽的含量係低於0.01重量%。

12.如申請專利範圍第10項之醫藥配方，其中，該醫藥學上可接受酸係為甲磺酸。

13.如申請專利範圍第10項之醫藥配方，其係用於在經歸類為弱代謝者(PM)之病患中治療申請專利範圍第10項之病症或用於治療性地治療伴隨服用已知會與CYP450系統之細胞色素交互作用及／或已知具有HERG通道阻斷性質之其他藥物之病患。

14.如申請專利範圍第12項之醫藥配方，其中，該醫藥學

上可接受酸係為甲磺酸，且作為與甲磺酸之鹽之式(IIa)及(IIb)之各別雜質的含量係低於 0.01 重量%。

15.如申請專利範圍第 10 項之醫藥配方，其除高純度沙芬醯胺或羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受酸之鹽外尚包含一或多種額外的活性藥劑，其中，式(IIa)及(IIb)之各別雜質或其鹽的含量係低於 0.03 重量%。

16.如申請專利範圍第 15 項之醫藥配方，其中，式(IIa)及(IIb)之各別雜質或其鹽的含量係低於 0.01 重量%。

17.如申請專利範圍第 15 項之醫藥配方，其中，該醫藥學上可接受酸係為甲磺酸，且作為與甲磺酸之鹽之式(IIa)及(IIb)之各別雜質的含量係低於 0.01 重量%。

18.如申請專利範圍第 15 至 17 項中任一項之包含高純度沙芬醯胺或其與醫藥學上可接受酸之鹽之醫藥配方，其中，該額外活性藥劑係為多巴胺促效劑及／或左旋多巴及／或兒茶酚-O-甲基轉移酶(COMT)抑制劑。

19.如申請專利範圍第 15 至 17 項中任一項之包含高純度羅芬醯胺或其與醫藥學上可接受酸之鹽之醫藥配方，其中，該額外活性藥劑係為加巴潘丁(gabapentin)或普瑞巴林(pregabalin)或其醫藥學上可接受酸加成鹽。