



(12) **PATENT**

(11) **342018**

(13) **B1**

NORGE

(19) NO

(51) Int Cl.

C07C 231/12 (2006.01)

C07C 231/18 (2006.01)

Patentstyret

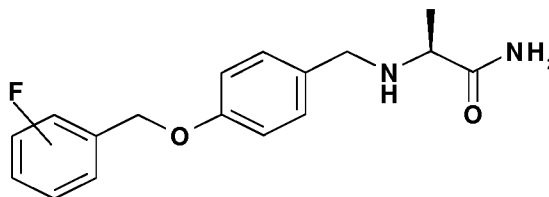
(21)	Søknadsnr	20090231	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2007.06.08 PCT/EP2007/005105
(22)	Inng.dag	2009.01.14	(85)	Videreføringsdag	2009.01.14
(24)	Løpedag	2007.06.08	(30)	Prioritet	2006.06.19, EP, 06012565
(41)	Alm.tilgj	2009.01.16			
(45)	Meddelt	2018.03.12			
(73)	Innehaver	New ron Pharmaceuticals SpA, Via L Ariosto, 21, IT-20091 BRESCO (MI), Italia			
(72)	Oppfinner	Patricia Salvati, Via Valera, 16/C, IT-20020 ARESE (MI), Italia Elena Barbanti, Via Dei Platani, 6, IT-20093 COLOGNO MONZESE (MI), Italia Carla Caccia, Via Rogorazza 29D, IT-21010 CARDANO AL CAMPO, Italia Tiziano Ruffilli, Corso Avilano 87C, IT-13061 VIGLIANO BIELLESE, Italia Luigi Bogogna, Via C Battisti 10C, IT-28010 VAPRIO D'AGOGNA, Italia Francesco Velardi, Str. Priv. Mascagni 21, IT-28062 CAMERI, Italia			
(74)	Fullmektig	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	Fremgangsmåte for fremstilling av 2-[4-(3- og 2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamider			
(56)	Anførte publikasjoner	WO 2005102300 A, E MEALY ET AL, "Neurologic Drugs", DRUGS OF THE FUTURE, (2002), vol. 27, no. 9, pages 879 - 915			
(57)	Sammendrag				

En fremgangsmåte for å oppnå terapeutisk aktive 2-[4-(3- og 2 (fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamider og deres salter med farmasøytisk akseptable syrer med høy renhetsgrad, særlig med et innhold av dibenzyl derivat urenheter lavere enn 0,03 %, foretrukket lavere enn 0,01 % i forhold til vekt. Fremgangsmåten utføres ved å underkaste Schiff base intermediatene 2-[4-(3- og 2-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamider for katalytisk hydrogenering under nærvær av en heterogen katalysator i et protisk organisk løsemiddel.

Foreliggende oppfinnelse angår en ny fremgangsmåte for fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid, det vil si safinamid (**Ia**) og (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid, det vil si ralfinamid (**Ib**) og deres salter, i høye utbytter og svært høy enantiomerisk og kjemisk renhet.

5

Denne fremgangsmåten er også svært anvendelig for fremstilling i store mengder.



safinamid (Ia): 3-F

ralfinamid (Ib): 2-F

10

Safinamid (NW-1015, FCE-26743A, PNU-151774E) er en natrium kanal blokkerer, en kalsium kanal modulator, en monoamino oksidase B (MAO-B) inhibitor, en glutamat frigivende inhibitor og en dopamin metabolisme modulator.

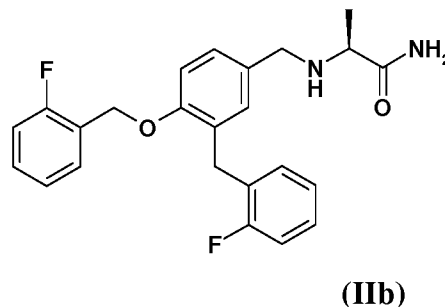
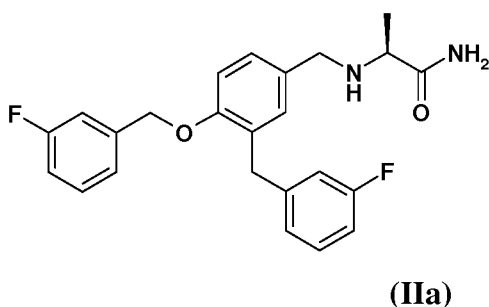
15

Safinamid er anvendelig ved behandling av CNS forstyrrelser, særlig epilepsi, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, depresjon, rastløs ben syndrom og migrene (WO 90/14334, WO 04/089353, WO 05/102300, WO 04/062655).

20 Ralfinamid (NW-1029, FCE-26742A, PNU-0154339E) er en natrium kanal blokkerer anvendelig ved behandling av smertetilstander, som inkluderer kronisk smerte og neuropatisk smerte, migrene, bipolare forstyrrelser, depresjoner, kardiovaskulære, inflammatoriske, urogenitale, metabolitiske og gastrointestinale forstyrrelser (WO 99/35125, WO 03/020273, WO 04/062655, WO 05/018627, WO 05/070405, 25 WO05/102300, WO 06/027052).

Det har nå blitt funnet at storskala fremstillingene av safinamid og ralfinamid ifølge fremgangsmåtene beskrevet i litteraturen inneholder to uønskede urenheter, det vil si respektivt (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid 30 (**IIa**) og (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (**IIb**), og deres salter, særlig de respektive metansulfonatene (**IIc**) og (**IId**)

2



5 Dette faktum er av særlig relevans på grunn av den svært høye toksisiteten til de to urenheterne navngitt ovenfor.

Mange av legemiddelkandidatene tilfredsstiller ikke kliniske forsøk på grunn av de ikke forutsette effektene på human metabolisme, eller toksisitet, på grunn av uønskede urenheter og derfor er eliminering av slike urenheter i tidlig preklinisk fase viktig og
10 sterkt ønskelig.

Ved preklinisk nivå kan "legemiddelevnen" til nye forbindelser bestemmes ved anvendelse av et godt etablert batteri av *in vitro* undersøkelser, slik som interaksjon med legemiddel-metaboliserende enzymer, cytotoxiskitet, metabolisk stabilitet og
15 profilering, membran permeabilitet, iboende klarering og human "eter-a-go-go" relatert gen (HERG) kanal blokade etc.

Cytokrom P450 (CYP 450) systemet er det perifere enzymsystemet for metabolisme av lipofile xenobiotiske midler, som inkluderer legemidler, karsinogener og miljø
20 forurensninger. CYP 450 er et heme-inneholdende, membran bundet, multienzym system som er til stede i mange vev, men er til stede ved høyest nivå i leveren. I den humane leveren er det estimert at det er 15 til 20 forskjellig xenobiotiske-metaboliserende CYP 450 former. Så langt har mer enn fjorten CYP gen familier blitt identifisert hos pattedyr. Til tross for den eksisterende høye homologien har omfattende
25 studier avdekket at hver CYP familie og underfamilie har bestemte roller i xenobiotisk metabolisme. Tre CYP familier, CYP1, CYP2 og CYP3 utgjør cirka 70% av humane hepatiske mikrosomer CYP'er med CYP3 utgjørende cirka 30%. Disse CYP'er er hovedansvarlig for metabolismen for de fleste markedsførte legemidler.

30 CYP1 familien inneholder flere medlemmer som inkluderer CYP1A1, CYP1A2 og CYP1B1 og de er involvert i metabolismen av acetaminofen, clomipramin og imipramin.

- CYP2 familien inneholder flere underfamilier som inkluderer CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D og CYP2E. CYP2C underfamilien inneholder minst syv medlemmer. CYP2C9 er ansvarlig for metabolismen av ibuprofen, diclofenac, tolbutamid og
 5 torsemid. CYP2C19 er hoved isoenzymet som metaboliserer diazepam og omeprazol. CYP2D6 har vist seg å være ansvarlig for å metabolisere over 30% av legemidlene på markedet, som inkluderer antidepressive midler og kardiovaskulære og anti-psykotiske midler.
- 10 I CYP3 familien har tre isoformer blitt identifisert i human lever. Human CYP3A4 har blitt anerkjent for å være den viktigste isoformen i legemiddel metabolisme. Per i da er metabolisme katalysert ved CYP3A4 hoved elimineringsruten for nær 50% av markedsførte legemidler.
- 15 På grunn av deres viktighet når det gjelder legemiddel metabolisme er CYP3A4 og CYP2D6 ofte involvert i legemiddel-legemiddel interaksjoner og flere klinisk anvendte forbindelser har blitt identifisert som potente inhibitorer av disse CYP 450 isoformene slik som ketoconazol, terfenadin, erytromycin, miconazol propanolol og kinidin, respektivt. Dette gir en klar begrensning når det gjelder anvendelsen av disse
 20 legemidlene.

Et ytterligere problem som består i plutselig død som en bivirkning ved virkningen til ikke antiarytmiske legemidler, er en viktig farmakologisk sikkerhetsbekymring som den farmasøytiske industrien og helseregulerende myndigheter møter. I senere år har
 25 minst fem blokkforsterkende legemidler (astemizol, sertindol, terfenadin, cisaprid, grepafloksacin) blitt tatt bort fra markedet på grunn av rapporter vedrørende plutselig død. I alle tilfeller var lang QT Syndrom (LQTS), en abnormalitet vedrørende hjertemuskel repolarisering, som er kjennetegnet ved forlengelse av QT intervallet i elektrodiagrammet, implisert som en forhåndsdisponerende faktor for "torsades de
 30 pointes", en polymorf ventrikulær tachykardi som spontant degenererer til ventrikulær fibrillering og forårsaker plutselig død. Kongenital LQTS har blitt sporet tilbake til flere mulige mutasjoner som resulterer i defekter i natrium kanaler, og to forskjellige kalium kanaler: den raskt aktiverende forsinkede rektifisereren (I_{Kr}) og den langsomt aktiverende forsinkede rektifisereren (I_{Ks}). Viktig her er at i virkeligheten hvert tilfelle
 35 av en forlenget varighet av hjertevirkningspotensialet relatert til legemiddel eksponering (oppnådd LQTS) kan sporet til en spesifikk mekanisme: blokkering av I_{Kr} strøm i hjertet. Denne strømmen, en hovedbidragsyter til fase 3 repolarisering ved slutten av

QT intervallet, utføres ved tetrameriske porer, med de individuelle underenhetene kodet av HERG. Med blokkering av HERG K⁺ kanaler i stor grad ansett som den dominerende årsaken til legemiddel-indusert QT forlengelse, har tidlig deteksjon av forbindelser med denne uønskede bivirkningen blitt et viktig formål innen farmasøytisk industri.

Forbindelser med sterk inhibering av legemiddel-metaboliserende enzymer, særlig CYP 450 enzymer, og HERG kanal blokkerende egenskaper, vil med stor sannsynlighet være toksiske og deres utvikling har blitt stoppet i et tidlig stadium.

10

Slik det er vist i **Tabell 1** inhiberer urenheterne (**Ila og Iib**), som metansulfonat saltet (**Iic og Iid**), sterkt i de mikro- og under mikro-mol område CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 og HERG strømmene og er svært cytotoxiske, sammenlignet med safinamid metansulfonat (**Ic**) og ralfinamid metansulfonat (**Id**) med høye renhetsgrader, syntetisert ved anvendelse av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen.

15

Tabell 1

Forbindelse	HERG IC ₅₀ , µM	Cytotoksisitet IC ₅₀ , µM	CYP3A4 IC ₅₀ , µM	CYP2D6 IC ₅₀ , µM	CYP2C19 IC ₅₀ , µM	CYP2C9 IC ₅₀ , µM	CYP1A2 IC ₅₀ , µM
Urenhet Iic	1,20	6,70	0,05	0,77	0,42	7,29	> 40
Safinamid metansulfonat	27,0	248,0	> 40	> 40	23,85	> 40	> 40
Urenhet Iid	2,66	15,00	0,05	0,92	1,89	8,01	> 40
Ralfinamid metansulfonat	18,0	> 300	> 40	> 40	> 40	> 40	> 40

Tabell 2 viser sammenlignende resultater (IC₅₀) vedrørende inhiberingen av cytokrom CYP3A4 ved anvendelse av høy renhet safinamid og ralfinamid metansulfonat,

20

5

syntetisert ved anvendelse av den nye fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, med safinamid og ralfinamid oppnådd med samme fremgangsmåte i nærvær av 0,3% av urenhetene **IIC** og **IId**, respektivt.

- 5 Når 0,3% av urenhetene **IIC** og **IId** tilsettes til svært ren safinamid og ralfinamid metansulfonat, blir en signifikant reduksjon i IC_{50} på CYP3A4 observert i begge tilfeller som betyr at urenhetene bidrar til en sterk inhibering av enzym aktivitet.

Tabell 2

Forbindelse	CYP3A4 $IC_{50}, \mu M$
Safinamid metansulfonat	>40
Safinamid metansulfonat pluss 0,3% IIC urenhet	18
Ralfinamid metansulfonat	>40
Ralfinamid metansulfonat pluss 0,3% IId urenhet	7,76

10

Slik det er vist i **Tabell 3** øker urenheten (**IIC**), som starter fra 3 mg/kg ip, dødeligheten i muse maksimal elektrosjokk (MES) testen uten noen farmakologisk aktivitet, det vil si beskyttelse fra konvulsjoner.

15

Tabell 3

Forbindelse	MES					
	3 mg/kg ip		10 mg/kg ip		30 mg/kg ip	
	% beskyttelse	døde/levende	% beskyttelse	døde/levende	% beskyttelse	døde/levende
Safinamid metansulfonat	50	0/10	100	0/10	100	0/10
Urenhet IIC	0	5/10	0	4/10	0	4/10

Tabell 4 rapporterer at urenheten **IId**, når den gis p.o. ved 10 og 20 mg/kg, i maksimal elektrosjokk testen (MES) beskytter ikke mus fra konvulsjoner sammenlignet med de
5 samme dosene av ralfinamid metansulfonat.

Tabell 4

Forbindelse	MES			
	10 mg/kg p.o.		20 mg/kg p.o.	
	Beskyttelse%	Døde/levende		Døde/levende
Ralfinamid metansulfonat	60%	0/10	90%	0/10
Urenhet IId	0%	0/10	0%	0/10

Basert på alle disse dataene viser urenhetene **IIC og IId**, til stede i henholdsvis
10 safinamid og ralfinamid, syntetisert med fremgangsmåten beskrevet i WO 90/14334 og av Pevarello et al i J. Med. Chem, **1998**, 41, 579-590 *in vitro* noen uønskede trekk, slik som cellulær toksisitet, sterk inhibering av noen isoformer av CYP 450, HERG kanal blokkering og ingen beskyttende aktivitet i en “*in vivo*” modell for epilepsi.

15 Et av de viktigste aspektene ved CYP er variasjonen blant forskjellige populasjonsgrupper. Variasjoner i legemiddel metabolisme er svært viktig i kliniske studier. Betydelig variasjon i den enzymatiske aktiviteten til CYP3A4 og CYP2D6 har blitt demonstrert mellom forskjellige etniske grupper og selv blant forskjellige individer i samme etniske gruppe. Forskjellen i CYP aktiviteten blant individer varierer
20 signifikant, avhengig av de forskjellige isoenzymene. Forandringer i CYP ekspresjonsnivået til forskjellige individer kan forårsake variasjoner i legemiddel metabolisme. Mer viktig kan polymorfisme også resultere i CYP enzym varianter med

lavere eller høyere enzymatisk aktivitet som fører til variasjoner i legemiddel
metabolisme. CYP2D6 polymorfisme er et godt studert emne innen legemiddel
metabolisme. I kliniske studier ble uttalte variasjoner mellom individer først funnet i
metabolismen av antihypertensive og antiepileptiske legemidler. Eliminering av
5 CYP2D6 metaboliserte legemidler er langsom hos de individer som bærer defekte
CYP2D6 alleler. Individer med langsom metabolisme klassifiseres som dårlige
metaboliserere (PM), mens katalytisk kompetente individer kalles ekstensive
metaboliserere (EM): tilfellet av PM fenotypen i populasjonen til forskjellige rase
regioner varierer: cirka 5 til 10% av kaukasiere er PM fenotypen, men kun 1% i asiatisk
10 populasjon. CYP2C19 er en annen viktig polymorf isoform som har kliniske
implikasjoner.

Tatt hensyn til disse observasjonene har en forbindelse som ikke interfererer med
CYP450 isoformene (verken inhibering eller induksjon) en svært lav risiko for
15 legemiddel-legemiddel interaksjoner i klinisk praksis og kan enkelt og sikkert
foreskrives av legen.

Særlig legemidler som ikke interfererer med cytokromene til CYP450 systemet er
særlig indikert for den terapeutiske behandlingen av individer som er klassifisert som
20 dårlige metaboliserere (PM) eller for den terapeutiske behandlingen av pasienter som
samtidig tar andre legemidler som er kjente for å reagere innbyrdes med nevnte
cytokromer, slike som ketoconazol, terfenadin, erytromycin, miconazol, propanolol og
kinidin og/eller er kjente for å ha HERG kanal blokkerende egenskaper.

I henhold til vanlig klinisk praksis blir safinamid og ralfinamid metansulfonater (**Ic** og
Id) vanligvis administrert til pasienten som trenger det i en lang tidsperiode,
underoppdelt i flere daglige doser. Dette er særlig tilfelle med terapeutiske applikasjoner
hvor sykdommen som behandles er: Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom og rastløs
ben syndrom (for anvendelse av safinamid) eller kronisk eller neuropatisk smerte,
30 kardiiovaskulære eller inflammatoriske forstyrrelser (for anvendelse av ralfinamid). Selv
om den daglige dosen kan variere i henhold til de spesifikke betingelsene og behovene
til pasientene kan den safinamid metansulfonat daglige dosen vanligvis variere fra 10
mg/dag til 800 mg/dag, mens ralfinamid metansulfonat daglige dose kan vanligvis
varierte fra 10 mg/dag til 1 g/dag. Under disse betingelsene, og med hensyn til data
35 rapportert ovenfor, er det svært anbefalelsesverdig å holde nivået av urenheter (**Ila**) og
(**Ilb**) eller saltene derav, særlig metansulfonat saltene (**Ilc**) og (**Ild**) i de farmasøytiske
doseringsformene av safinamid og ralfinamid eller saltene derav så lave som mulig, i et

hvilket som helst tilfelle lavere enn 0,03%, foretrukket lavere enn 0,01% basert på vekt med hensyn til mengden av, respektivt, safinamid og ralfinamid eller saltene derav, særlig metansulfonat saltene.

- 5 Undersøkelser og eksperimentelle studier utført av oppfinnerne har vist at safinamid og ralfinamid og deres respektive salter med farmasøytisk akseptable syrer fremstilt i henhold til fremgangsmåter i litteraturen inneholder en mengde av de respektive urenheterne (**IIa**) og (**IIb**) eller de respektive saltene med farmasøytisk akseptable syrer, slike som (**IIc**) og (**IId**), som er høyere enn 0,03 vekt%. Derfor er de ovenfor nevnte
- 10 produktene uegnet for sikre terapeutiske anvendelser. Særlig er farmasøytiske preparater som inneholder safinamid eller ralfinamid eller saltet derav med farmasøytisk akseptable syrer, hvori innholdet av urenheter (**IIa**), (**IIb**) og de respektive saltene med farmasøytisk akseptable syrer er ikke lavere enn 0,03%, foretrukket enn 0,01% basert på vekt med hensyn til de ovenfor nevnte aktive substansene, ikke egnet som
- 15 medikamenter.

- I denne beskrivelsen og kravene er verdiene til de ovenfor indikerte grensene, med mindre annet er spesifisert, tiltenkt til å uttrykke prosentandelen basert på vekt av de “aktive substansene”, det vil si det effektive innholdet av biologisk aktiv urenheter (**IIa**,
- 20 **IIb**) med hensyn til det effektive innholdet av den terapeutisk aktive substansen (**Ia**, **Ib**).

Fremgangsmåten beskrevet ifølge oppfinnelsen ved sterkt å redusere urenheterne fører til produkter med høy kjemisk renhet og sikrere biologisk profil.

- 25 Andre urenheter, nesten ikke detekterbare, er avledet fra de svært små mengdene av 2- og 4-fluorbenzyl klorid og 3- og 4-fluorbenzyl klorid som er innbefattet i det kommersielt tilgjengelige 3-fluorbenzyl kloridet og 2-fluorbenzyl kloridet respektivt, anvendt for syntese av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVa**) og 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVb**) intermediater for fremstilling av, respektivt,
- 30 forbindelsene (**Ia**) og (**Ib**).

- Ifølge fremgangsmåten beskrevet i foreliggende oppfinnelse blir safinamid og ralfinamid oppnådd med høye utbytter og høy renhet hvor innholdet av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]-propanamid (**IIa**) og (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]-propanamid (**IIb**), og deres salt,
- 35 særlig med metansulfonsyre (generisk navngitt “dibenzyl derivater”) i safinamid og

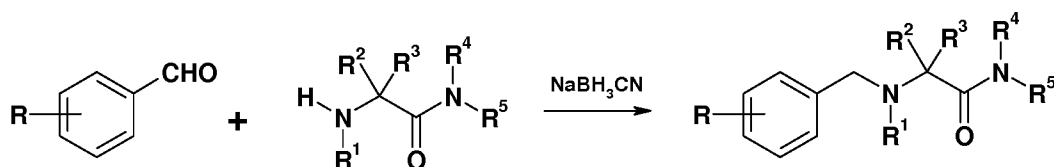
ralfinamid eller saltet derav, særlig med metansulfonsyre, er lavere enn eller lik 0,03%, foretrukket 0,01% (basert på vekt).

Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen starter fra 4-hydroksy-benzaldehyd og innbefatter følgende tre trinn:

- a) O-benzylering av 4-hydroksybenzaldehyd med derivater med følgende generelle formel 3- eller 2-F-C₆H₄-CH₂-Y, hvor Y er en utgående gruppe (Cl, Br, I, OSO₂CH₃ etc.); denne O-benzyllringen utføres under betingelser som er svært selektive for O-alkylering og gir 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd og 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd med høy renhet;
- b) reduktiv alkylering av L-alaninamid, base eller salt, med 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd og 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd, hvor det reduserende systemet er hydrogen-gass og en heterogen katalysator, for å oppnå, etter krystallisering, safinamid og ralfinamid respektivt i svært høy enantiomerisk og kjemisk renhet;
- c) fremstilling av safinamid og ralfinamid salter med en farmasøytisk akseptabel syre ved saltdannelse av safinamid og ralfinamid respektivt, oppnådd i foregående trinn. Farmasøytisk akseptable syrer er for eksempel valgt fra salpetersyre, saltsyre, hydrobromsyre, svovelsyre, perklorisyre, fosforsyre, metansulfonsyre, p-toluensulfonsyre, eddiksyre, trifluorediksyre, propionsyre, glykolsyre, melkesyre, oksalsyre, malonsyre, eplesyre, maleinsyre, vinsyre, sitronsyre, benzosyre, kanelisyre, mandelsyre og salicylsyre.

I WO 90/14334, og i publikasjonen til Pevarello et al. i J. Med. Chem., **1998**, *41*, 579-590, er en tretrinns fremgangsmåte for fremstilling av benzyloksy-benzylamino-alkanamider beskrevet:

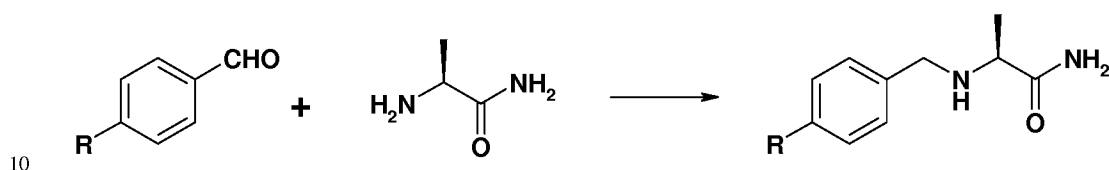
- a) syntese av intermedietet 4-benzyloksybenzaldehyder med O-benzylering av de korresponderende 4-hydroksybenzaldehydene med de passende benzyl kloridene,
- b) reduktiv alkylering av α -amino-amider med 4-benzyloksy-benzaldehyder ved anvendelse av natrium cyanoborhydrid som et reduksjonsmiddel slik det skjematisk er vist nedenfor



hvor R representerer, blant andre substituent, 3-F og 2-F; R¹ representerer, blant andre substituent, hydrogen; R² representerer, blant andre substituent, hydrogen; R³ representerer, blant andre substituent, CH₃; både R⁴ og R⁵ representerer, blant andre substituent, hydrogen.

5

Særlig, når det gjelder safinamid og ralfinamid fremstilling er den reductive alkyleringen den reductive alkyleringen av L-alaninamid med 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd og 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd respektivt slik det er vist her nedenfor



R = 3-F-benzyloksy = safinamid (Ia)

R = 2-F-benzyloksy = ralfinamid (Ib)

- 15 I J. Med. Chem. (Pevarello et al.), **1998**, 41, 579-590 er utbyttet på 45% og 60% for fremstilling av safinamid og ralfinamid metansulfonat respektivt, rapportert, med utgangspunkt i de korresponderende (fluorbenzyloksy)benzaldehydene.

- 20 Fremgangsmåten beskrevet i WO 90/14334 og i den ovenfor siterte publikasjonen er de samme og tilveiebringer et en-kolbe system hvor iminoalkyleringen og reduksjonen gjøres i samme reaktor. Det passende aldehydet tilsettes i en porsjon til en blanding av L-alaninamid hydroklorid, natrium cyanoborhydrid, metanol og pulveriserte molekylsikter.

- 25 I henhold til Pevarello et al., i Org. Prep. Proc. Int. **1996**, 28, 179-183 (hvor syntesen av noen α -benzylaminoamid derivater ved reduktiv alkylering er beskrevet) er anvendelse av et α -aminoamid som hydroklorid viktig for dannelse av iminium ion i stedet for det korresponderende iminet, i det iminium ionet reagerer enklere med natrium cyanoborhydrid enn med aldehyd karbonyl gruppen.

30

Ifølge forfatterne ovenfor synes en-kolbe fremgangsmåten å unngå Schiff-base rasemiseringsproblemer og molekylsikten setter opp hastigheten på reaksjonen (selv om utbyttene er dårlige).

Cyanoborhydridet er det eneste reduksjonsmiddelet som anvendes, og det synes som at dette valget er på grunn av dets lave reaktivitet og dets selektivitet (se Review “Sodium Cyanoborohydride- A Highly Selective Reducing Agent for Organisk Functional Groups” - C.F. Lane, Synthesis **1975**, 132-146), som gjør det mulig å skille mellom
 5 den protonerte Schiff basen og utgangs aldehydet.

Syntesen beskrevet i publikasjonen av Pevarello et al. tilveiebringer isolering av produktene ved kolonne kromatografi, fulgt av omdanning til de korresponderende saltene ved behandling med syrer. Ingen informasjon er tilveiebrakt om den
 10 enantiomeriske og/eller kjemiske renheten til både safinamid og ralfinamid og/eller deres salter.

Fremgangsmåten beskrevet i litteraturen har mange ulemper, som begrenser dens anvendelse i stor skala; nedenfor er eksempler på nevnte ulemper listet:

- 15 - dannelse av cyanider;
- dannelse av bor derivater, vanskelige å fjerne fra de aktive hovedbestanddelene;
- anvendelse av pulveriserte molekylsikter som er fysisk forandelige og kostbare;
- lave utbytter;
- lav sluttprodukt konsentrasjon i den reduktive alkyleringsreaksjonsblandingen
 20 (cirka 2-3% vekt/volum);
- isolering av produktene ved kolonne kromatografi, som ansees å være en problematisk og kostbar rensefremgangsmåte når stor skala fremstillinger av aktive midler gjennom kjemisk syntese er involvert.

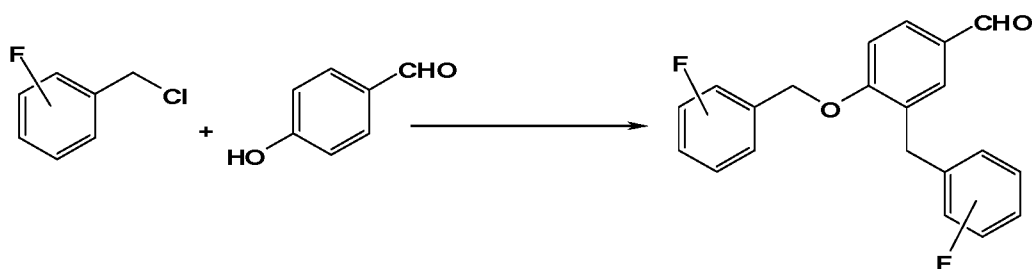
25 Videre, slik det er vist i eksemplene som følger denne beskrivelsen, inneholder produktene oppnådd i henhold til fremgangsmåtene beskrevet i litteraturen en mengde urenheter (**IIa**), (**IIb**), (**IIc**) eller (**IId**) som er høyere enn 0,03 vekt% med hensyn til den respektive aktive substansen (**Ia**), (**Ib**), (**Ic**) eller (**Id**). I tillegg har det vist seg at det er vanskelig å eliminere nevnte urenheter fra sluttprodukt safinamidet og ralfinamidet eller
 30 deres salter, ved anvendelse av vanlige kjente rens fremgangsmåter slik som krystallisering fra løsninger eller kromatografi, som i et hvilket som helst tilfelle gir en reduksjon i utbytter.

SYNTESE AV 4-(FLUORBENZYLOKSY)-BENZALDEHYD INTERMEDIATENE

I henhold til de kjente fremgangsmåtene blir fluorbenzyloksy-benzaldehyd

5 intermediatene for syntesen av safinamid og ralfinamid oppnådd ved benzylering av 4-hydroksybenzaldehyd i et basisk medium, som er ved benzylering av fenol salter som, værende naturlige nukleofiler, som gir to forskjellige produkter, det vil si de ønskede O-alkylerte derivatene og de ikke ønskede C-alkylerte derivatene.

10 Det har effektivt blitt funnet at fluorbenzyleringen av 4-hydroksybenzaldehyd med 3-fluorbenzylklorid, utført i henhold til litteraturen, gir 4-(3-fluorbenzyloksy)-benzaldehydet (**IVa**) som hovedprodukt sammen med 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**Va**) som stammer fra alkyleringen av både hydroksygruppen i posisjon 4 og karbonatomet i posisjon 3 til 4-hydroksybenzaldehydet. Det
15 samme skjer ved fluorbenzyleringen av 4-hydroksybenzaldehyd med 2-fluorbenzylklorid i henhold til følgende skjema:

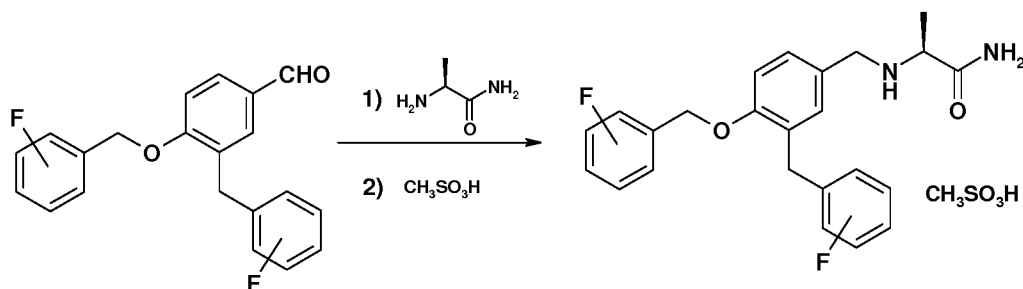


20

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

Den reductive alkyleringen av L-alaninamid med et aldehyd som inneholder den di-alkylerte urenheten gir et safinamid eller ralfinamid sluttprodukt som også er urent med
25 den respektive di-alkylerte forbindelsen, di-benzyl derivatet, om den er som en fri base (**IIa**) eller (**IIb**) eller som saltdannede produkter, foretrukket med metansulfonsyre (**IIc**) eller (**IId**), som vist i følgende skjema:

13

**(Va): 3-F****(IIc): 3-F****(Vb): 2-F****(IId): 2-F**

5

Andre farmasøytisk akseptable syrer, for eksempel salpetersyre, saltsyre, hydrobromsyre, svovelsyre, perklorsyre, fosforsyre, metansulfonsyre, p-toluensulfonsyre, eddiksyre, trifluoreddiksyre, propionsyre, glykolsyre, melkesyre, oksalsyre, malonsyre, eplesyre, maleinsyre, vinsyre, sitronsyre, benzosyre, kanelisyre, mandelsyre og salicylsyre kan anvendes i stedet for den foretrukne metansulfonsyren.

10

Det mono-alkylerte derivatet (safinamid eller ralfinamid) og de korresponderende di-alkylerte urenheter har tilsvarende kjemisk-fysiske egenskaper og dette gjør det vanskelig å rense safinamid og ralfinamid med tradisjonelle metoder.

15

Videre har kjente fremgangsmåter disse ytterligere ulempene:

- 1) anvendelsen av en lavere alkohol som et løsemiddel; under basiske betingelser, kan løsemiddelet, for eksempel metanol, virke som et nukleofilt reagens og gir, med 3- eller 2-fluorbenzylklorid en viss mengde av metyl-fluorbenzyl-eter;
- 2) ekstraksjonen av sluttproduktet med et vann-blandbart organisk løsemiddel er kun mulig etter at det alkoholiske reaksjonsløsemiddelet har blitt eliminert fra reaksjonsblandingen.

20

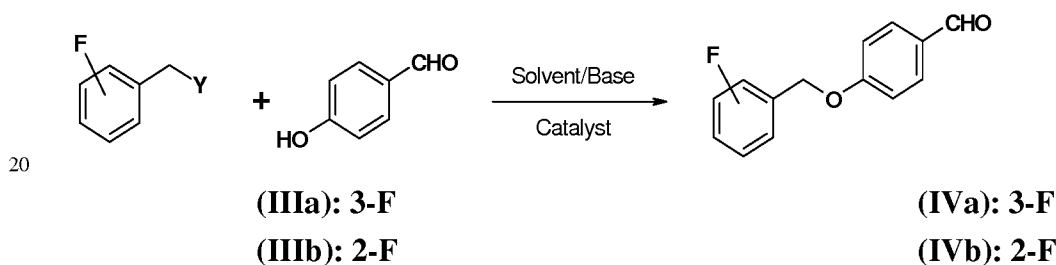
Det har nå blitt funnet at ved anvendelse av ovenfor beskrevne litteraturfremgangsmåter, for å oppnå et sluttprodukt med formel **(Ia)** eller **(Ib)** hvori innholdet av den respektive urenheten **(IIa)** eller **(IIb)** er lavere enn 0,03% (basert på vekt) er det nødvendig drastisk å rense intermediet 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd **(IVa)** eller 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd **(IVb)** for å redusere innholdet av de respektive urenheterne med formel **(Va)** og **(Vb)**.

30

Nevnte rensing blir foretrukket utført ved å underkaste reaksjonsproduktene for krystallisering, mer foretrukket ved tilsetning til en løsning av den urene forbindelsen

(IVa) eller (IVb) i et inert organisk løsemiddel et blandbart inert organisk ikke-løsemiddel. Det organisk inerte løsemiddelet er foretrukket valgt fra de aromatiske hydrokarbonene og, mer foretrukket, toluen. Det blandbare inerte organiske ikke-løsemiddelet er foretrukket valgt fra lavere alifatiske hydrokarboner, mer foretrukket n-
 5 heksan. En ytterligere krystalliseringsfremgangsmåte kan bestå i å løse opp de ovenfor nevnte forbindelsene (IVa) eller (IVb) i et varmt løsemiddel, for eksempel sykloheksan eller en di(C₃-C₄)alkyleter, slik som diisopropyleter til reflux, og deretter avkjøle løsningen ved romtemperatur, foretrukket ved 10-15°C, mest foretrukket, med induksjon av krystallisering ved tilsetning av rene krystaller av den rene forbindelsen
 10 (IVa) eller (IVb).

Ifølge et aspekt ifølge oppfinnelsen har det nå overraskende blitt funnet at når reaksjonen mellom et alkyleringsmiddel med formel (IIIa) eller (IIIb) (se skjema nedenfor hvor F atomet er i posisjon 2 eller 3 og Y er en utgående gruppe slik som for
 15 eksempel Cl, Br, I, OSO₂CH₃, OSO₂C₆H₄-pCH₃, etc.) og 4-hydroksybenzaldehyd, utføres under faseoverføringsbetingelser blir de korresponderende 4-(fluorbenzyloksy)benzaldehydene oppnådd i høye utbytter og med svært lavt nivå av C,O-bis-alkylerte urenheter.



Denne nye fluorbenzyllringen av 4-hydroksybenzaldehyd under
 25 faseoverføringsbetingelser kan gjøres både i et faststoff/væskesystem, hvori reagensene og faseoverføringskatalysatorene er løst opp i den flytende organiske fasen og faststoff fasen utgjøres av den uorganiske basen eller 4-hydroksybenzaldehyd saltet (eventuelt generert *in situ* fra 4-hydroksy-benzaldehyd og den uorganiske basen i seg selv), og i et væske/væske organisk/vandig system hvor den uorganiske basen er løst opp i
 30 vannfasen.

Et foretrukket system er faststoff/væskesystemet hvori den uorganiske basen foretrukket er valgt fra Na₂CO₃, K₂CO₃, KOH, NaOH.

De organiske løsemidlene anvendt i reaksjonen, både i tilfellet væske/væske systemet og faststoff/væskesystemet kan være dialkyl etere slik som for eksempel di-*tert*-butyl eter, etyl-*tert*-butyl eter eller aromatiske hydrokarboner slik som for eksempel toluen, etylbenzen, isopropylbenzen og xylener. Alle disse løsemidlene kan enkelt utvinnes ved
5 destillasjon.

Faseoverføringskatalysatorene som anvendes kan være kvaternære ammonium eller fosfonium salter slik som for eksempel tetrabutyl ammonium bromid, tetradecyltrimetyl ammonium bromid, heksadecyltributyl fosfonium bromid, tricaprilylmetyl ammonium
10 klorid (aliquat), metyltrialkyl (C₈-C₁₀)ammonium klorid (adogen), tetradecyltrimetyl ammonium bromidet er foretrukket.

I tillegg kan polyetylenglykoler med lav molekylvekt anvendes som faseoverføringskatalysatorer slike som for eksempel PEG-200 (CAS 25322-68-3) eller
15 PEG-400 (CAS 25322-68-3).

Mengden faseoverføringskatalysator som anvendes er mellom 0,02-1 mol per mol 4-hydroksybenzaldehyd, foretrukket mellom 0,1-1 mol per mol 4-hydroksybenzaldehyd hvor, under disse betingelsene, mengden av de C,O-bis-fluorbenzylerte urenheterne kan
20 som resultat være mindre enn 0,03%, foretrukket lik med 0,01% eller mindre basert på vekt.

Forholdet mellom alkyleringsmidlene med formel (IIIa) eller (IIIb) og 4-hydroksybenzaldehyd er mellom 0,6 og 1,5, hvor mellom 0,9 og 1,1 er foretrukket.
25

Reaksjonstemperaturen er mellom 60°C og 160°C, hvor det foretrukne intervallet er mellom 80°C og 120°C.

Reaksjonstiden er generelt mellom 4 og 8 timer.
30

Reaksjonsutbyttene er svært høye, som regel mer enn 90%.

Reaksjonsproduktiviteten, det vil si konsentrasjonen av reaksjonsproduktene i reaksjonsblandingen er svært høy under de beskrevne reaksjonsbetingelsene, normalt
35 mer eller lik med 25% (vekt/volum).

SYNTESE AV SAFINAMID OG RALFINAMID VED REDUKTIV ALKYLERING AV α -AMINOAMIDER

Teknikkens stand vil foreslå for fagmannen at den reductive alkyleringen av α -amino-
amider med 4-(3- eller 2- fluorbenzyloksy)benzaldehyder ved anvendelse av hydrogen
og en heterogen katalysator som et reduksjonsmiddel ikke er egnet for fremstilling av
safinamid og ralfinamid på grunn av inkompatibiliteten blant reagensene og
sluttproduktene og reduksjonsbetingelsene.

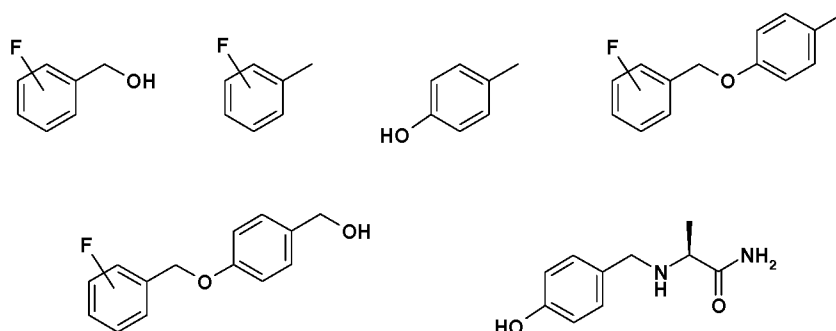
- I virkeligheten er det godt kjent hvor enkelt benzaldehyder reduseres til benzyl
alkoholer eller til og med til de korresponderende hydrokarbonene, så vel som at det er
kjent at betingelsene som anvendes for utføring av en reaktiv alkylering med hydrogen
og en heterogen katalysator normalt er de samme betingelsene som anvendes for å bryte
bindingene mellom et benzyrisk karbonatom og heteroatomer som nitrogen eller
oksygen, typen bindinger som er til stede både i safinamid og ralfinamid og i deres
forløpere.

I virkeligheten blir den benzylliske gruppen normalt anvendt som en beskyttende gruppe
for fenoler eller aminer (se "*Protective Groups in Organisk Synthesis*", T.W.

- Greene og P.G.M. Wuts, 3. utg., **1999**, John Wiley & Sons, Inc.) på grunn av enkelheten
ved deres introduksjon og etterfølgende fjerning ved katalytisk reduksjon.

I den reductive alkyleringen for å oppnå safinamid og ralfinamid kan man forvente
dannelse av mange biprodukter, hvor noen av disse er angitt nedenfor:

25



Det faktum at safinamid og ralfinamid har blitt oppnådd i svært høye utbytter og renhet
ved reaktiv alkylering av L-alaninamid, med 4-(3- eller 2-

- fluorbenzyloksy)benzaldehyd, er anvendelsen av hydrogen og en heterogen katalysator

som et reduksjonssystem overraskende og et oppfinnerisk aspekt ved denne syntesefremgangsmåten.

Videre er reaksjonsbetingelsene som anvendes i henhold til denne fremgangsmåten enkelt oppnåelige for fremstilling i bulkform.

Den reduktive alkyleringen, gjenstand for foreliggende oppfinnelse, utføres i to trinn:

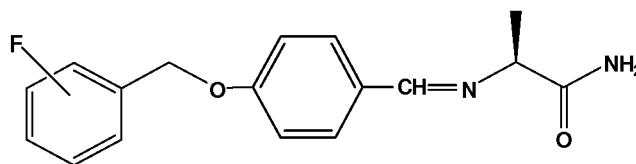
- a) dannelsen av Schiff base
- b) katalytisk reduksjon av Schiff basen.

De to trinnene kan utføres etter hverandre i samme reaktor (en-kolbe reaksjon) enten med eller uten isolering av Schiff basen, i begge tilfeller med høye utbytter.

I tilfellet isolering av Schiff basen muliggjør de eksperimentelle betingelsene som anvendes for dens dannelsen å oppnå den isolerte Schiff basen i form av et presipitat i høye utbytter og svært ren form.

Schiff base fremstillingen blir egnet fremstilt i et organisk protisk løsemiddel, som må være inert ovenfor reagensene og produktene og også inert ovenfor reaksjonsbetingelsene til den iminiske dobbeltbindingen, slik som for eksempel en (C₁-C₅) lavere alkanol, foretrukket metanol, etanol og *isopropanol*.

Dannelsen av Schiff base må være fullstendig og dette er en relevant faktor for å ha høye utbytter i det etterfølgende katalytiske reduksjonstrinnet. Det er derfor foretrukket å isolere Schiff basene **(VIa)** og **(VIb)** før utføring av reduksjonen av den iminiske dobbeltbindingen.



(VIa):3-F

(VIb):2-F

De isolerte imino forbindelsene **(VIa)** og **(VIb)** er anvendelige intermediater for fremstilling av safinamid og ralfinamid, respektivt, i henhold til foreliggende oppfinnelse.

Alternativt kan man favorisere iminoalkyleringsreaksjonen fullstendig, ved å operere under slike betingelser som forårsaker presipitasjonen av imino forbindelsene (VIa) og (VIb) og underkaste suspensjonen som inneholder intermediat imino derivatet den katalytiske reduksjonen.

5

Forholdet mellom L-alaninamid (base eller salt) og 4-(3- eller 2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd kan være 1:1, men også et 10% overskudd av L-alaninamid kan fordelaktig anvendes.

- 10 L-alaninamidet kan introduseres enten som en fri base eller som et syreaddisjonssalt derav. Foretrukket blir det introdusert til reaksjonsblandingen som et salt, mest foretrukket som hydroklorid salt, sammen med den støkiometriske mengden av en base, foretrukket et tertiært amin slik som for eksempel trietylamin eller diisopropyletylamin.
- 15 Reaksjonstemperaturen ved fremstilling av Schiff basen er mellom 0°C og 60°C, foretrukket mellom 20°C og 30°C.

Reaksjonstidene er mellom 1 time og 15 timer, foretrukket mellom 4 timer og 6 timer.

- 20 Reduksjonen av Schiff basen med hydrogen og en heterogen katalysator startes kun når Schiff's base dannelsen er fullstendig: hvis den starter før blir sekundære reaksjoner viktige, til tider dominerende, med tap i utbytter og renhet. En av disse sekundære reaksjonene, den mer viktige, forårsaker dannelse av benzylliske alkoholer ved reduksjon av karbonyl gruppen til (fluorbenzyloksy)benzaldehydet som velges.

25

De foretrukne heterogene katalysatorene er nikkel, rhodium, palladium eller platina katalysatorer, på et inert bærermateriale slik som for eksempel karbon, alumina og silica, foretrukket karbon og alumina, og anvendes i en mengde på mellom 2% og 20% av 4-(3- eller 2-fluorbenzyloksy)benzaldehydet, foretrukket mellom 5% og 10%.

30

Platina og palladium katalysatorene er de mest foretrukne.

- Platina på aktivt karbon gir særlig svært gode resultater både når det gjelder utbytter, som er nær kvantitative, og selektivitet, i det kun den iminiske dobbeltbindingen blir redusert mens bindingen mellom det benzylliske karbonatomet og heteroatomene er uforandret. Det ble funnet at safinamid og ralfinamid er overraskende stabile under reduksjonsreaksjonsbetingelsene og dette er et viktig element i industriell fremstilling
- 35

av store mengder av safinamid eller ralfinamid, i det en uheldig reaksjonstid forlengelse vil ikke skade sluttproduktene.

De beste resultatene oppnås med våt 5% Pt/C (50% H₂O) og særlig med 5% Pt på
5 karbonpulver fra Engelhard S.r.l., Roma, Italia.

Hydrogeneringsreaksjonen blir normalt utført under et hydrogentrykk på mellom 1 bar og 10 bar, foretrukket mellom 3 bar og 6 bar og ved temperatur på mellom 10°C og 70°C, foretrukket mellom 25°C og 40°C.

10

Reduksjonstidene kan variere fra 1 time til 20 timer, i henhold til temperatur, trykk, konsentrasjon, turbulens, etc., hvor alle disse faktorene er godt kjente for fagmannen.

De beste resultatene oppnås med reaksjonstider på 4-6 timer.

15

Ved slutten av reaksjonen blir katalysatoren utvunnet ved filtrering og gjenanvendt eller regenerert: reaksjonsløsemiddelet destilleres under redusert trykk, residuet løses i vann ikke-blandbart organisk løsemiddel og de uorganiske saltene fjernes ved vasking med vann.

20

Det endelige safinamidet eller ralfinamidet utvinnes ved fjerning ved destillasjon av det organiske løsemiddelet hvori de er oppløst.

Rå safinamidet eller ralfinamidet blir deretter rensset ved krystallisering.

25

Krystalliseringen blir foretrukket utført ved tilsetning til en løsning av den respektive urene forbindelsen med formel (**Ia**) eller (**Ib**) i inert organisk løsemiddel et blandbart inert organisk ikke-løsemiddel. Det organiske inerte løsemiddelet er foretrukket valgt fra aromatiske hydrokarboner slik som benzen, toluen, dimetyl benzen og etylbenzen og lavere alkyl acetater og, mer foretrukket, er det etylacetat. Det blandbare inerte
30 organiske ikke-løsemiddelet er foretrukket valgt fra de lavere alifatiske hydrokarbonene, slik som heksan og heptan, og cykloheksan, mere foretrukket n-heksan.

35

Basene blir deretter omdannet til de ønskede saltene i henhold til kjente fremgangsmåter, særlig blir de omdannet til metansulfonat salt, som har de fysiske/kjemiske egenskapene (stabilitet, granulometri, strømbarhet etc.) egnet for den etterfølgende formuleringen til et farmasøytisk preparat for anvendelse som medikament.

EKSEMPEL 1**Fremstilling av renset 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVb) ved faseoverføringskatalyse**

5

En blanding av 2-fluorbenzyl klorid (5 kg, 34,58 mol), 4-hydroksy-benzaldehyd (3,9 kg, 31,94 mol), kalium karbonat (4,3 kg, 31,11 mol) og tetradecyl trimetylammonium bromid (0,41 kg, 1,22 mol) i toluen (9,5 kg) blir sakte brakt, under røring og under nitrogen, til reflux temperatur og reflukses i 6 timer.

10

Løsningen blir deretter konsentrert ved rom trykk, 3 kg toluen tilsettes og destilleres av og denne fremgangsmåten gjentas ytterligere en gang.

15

Den heterogene blandingen blir deretter avkjølt til romtemperatur og det faste stoffet elimineres ved filtrering. Rest løsemiddelet blir deretter eliminert under redusert trykk og til det oljeaktige residuet blir 1,2 kg toluen tilsatt. Blandingens blir varmet opp til cirka 40°C og såes med noen få gram ren 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd.

20

Den heterogene blandingen røres i 15 minutter ved 35-40°C og deretter følger tilsetning av n-heksan (9 kg) ved denne temperaturen, i løpet av 30 minutter. Etter avkjøling til 0-5°C og røring i ytterligere en time ved denne temperaturen blir det faste stoffet samlet opp ved filtrering og tørket under redusert trykk som gir 6,5 kg (87,6% utbytte) av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd; s.m.p. 56,7°C (DSC, 5°C/min).

25

Den ovenfor angitte reaksjonen gjentas på en 1:100 skala ved anvendelse av 39 g (0,319 mol) 4-hydroksybenzaldehyd som utgangsmateriale og ved å følge den ovenfor beskrevne fremgangsmåten, med unntak av at, etter eliminering av reaksjonsløsemiddelet og tilsetning av toluen til det oljeaktige residuet, blir den oppnådde blandingen varmet opp til cirka 30-35 (istedenfor 40°C) og, etter såing med en liten mengde ren 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd, blir den heterogene blandingen rørt i 15 minutter ved 30°C (istedenfor 35-40°C) før tilsetning av n-heksan.

30

35

Utbyttet er 66,8 g (90%) av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd, s.m.p. 56,7°C (DSC, 5°C/min), som har en GC renhet på 92,2 (areal %, se Eksempel 16A) og et 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd innhold på 0,01% basert på vekt bestemt med GC (se Eksempel 16B).

(*) Utbyttene som rapporteres i dette og i etterfølgende Eksempler, når ikke annet er spesifisert, er tiltenkt som molare utbytter.

1.1 Ytterligere rensing av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd ved krystallisasjon

5

Et kilogram av produktet fremstilt i henhold til fremgangsmåten beskrevet i Eksempel 1 løses i 2 kg diisopropyl eter ved reflux under røring.

Løsningen avkjøles til 50-55°C i løpet av 10-15 minutter og såes med noen få gram ren 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd.

10

Suspensjonen avkjøles til 10-15°C i løpet av 45-60 minutter og røres i ytterligere en time.

15

Presipitatet blir til slutt samlet opp ved filtrering, vasket med kald diisopropyl eter (0,2 kg) og tørkes under redusert trykk som gir 0,93 kg 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd med GC renhet på 99,8 (areal %, se Eksempel 16A) og et innhold av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**Vb**) på 0,005 vekt% bestemt med GC i henhold til Eksempel 16B.

20

1.2 Fremstilling av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVb) ved faseoverføringskatalyse (PTC) ved anvendelse av forskjellige katalysatorer.

4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd fremstilles ved alkylering av 4-hydroksybenzaldehyd (0,39 g) med 2-fluorbenzylklorid ved å følge samme fremgangsmåte som i Eksempel 1, men ved anvendelse av tre forskjellige faseoverføringskatalysatorer.

25

Resultatene er rapportert i følgende Tabell 4

30

35

TABELL 4

5	Eksperiment	Fase overgangs- katalysator PCT	% Vb **	% Utbytte
10	1.2 (a)	Tetrabutyl fosfonium bromid	0,03	85,0
15	1.2 (b)	Aliquat 336*	0,03	88,8
	1.2 (c)	PEG 400	0,14	96,0

20 * Aliquat 336: tricaprylylmetylammonium klorid

** %**Vb**: innhold av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (vekt%).

Innholdet av **Vb** bestemmes med GC i henhold til Eksempel 16B.

25 **1.3 Fremstilling av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVb) ved faseoverføringskatalyse (PTC) i xylene.**

4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd fremstilles i 86,6% utbytte med et innhold av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd på 0,02% basert på vekt bestemt med
 30 GC (se Eksempel 16B) ved omsetning av 4-hydroksybenzaldehyd (0,39 g) med 2-fluorbenzylklorid i henhold til samme fremgangsmåte som i Eksempel 1, men ved å erstatte toluen med xylene som løsemiddelet.

1.4 Fremstilling av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVb) ved faseoverføringskatalyse ved anvendelse av kalium hydroksid som en base

- 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd fremstilles i 86,7% utbytte med et innhold av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd på 0,51% basert på vekt bestemt med GC (se Eksempel 16B) ved omsetning av 4-hydroksybenzaldehyd (0,39 g) med 2-fluorbenzyklorid, i henhold til samme fremgangsmåte som i Eksempel 1, med ved anvendelse av kalium hydroksid (0,35 mol) istedenfor kalium karbonat.
- 10 Dette produktet kan ytterligere renses ved krystallisering i henhold til Eksempel 1.1.

1.5 Fremstilling av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVb) ved faseoverføringskatalyse ved anvendelse av 2-fluorbenzyl bromid

- 15 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd fremstilles i 88,6% utbytte med et innhold av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd på 0,07% basert på vekt bestemt med GC (se Eksempel 16B) ved omsetning av 4-hydroksybenzaldehyd (15,6 g) med 2-fluorbenzylbromid istedenfor 2-fluorbenzyklorid i henhold til samme fremgangsmåte som i Eksempel 1.

20

EKSEMPEL 2

Fremstilling av (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (ralfinamid, Ib) med høy renhetsgrad (en-kolbe reaksjon)

- 25 En autoklav tilsettes 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (2,0 kg, 8,69 mol) fremstilt i henhold til Eksempel 1, og deretter blir en løsning fremstilt ved siden av L-alaninamid hydroklorid (1,2 kg, 9,63 mol) og trietylamin (0,97 kg, 9,63 mol) i metanol (9,5 kg) tilsatt til blandingen.
- 30 Blandingens røres ved 20-25°C i cirka 1 time og deretter, etter såing med noen få gram (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid, blir røringen fortsatt i ytterligere 15 minutter. Til denne rørte heterogene blandingen blir metanol (1,6 kg) og våt (50% H₂O) Pt/C 5% (Engelhard cod.Escat 22, Engelhard S.r.l., Roma, Italia) (0,28 kg) deretter tilsatt ved 20-25°C.
- 35 Luften fjernes fra autoklaven med nitrogen og deretter blir hydrogen introdusert ved 5,0 bar og trykket holdes ved denne verdien i løpet av hydrogeneringsforløpet.

Etter 5 timer ved 30-35°C blir reaksjonsblandingen avkjølt til 15°C og, etter tilsetning av metanol (4,8 kg) og oppvarming til 40-45°C blir suspensjonen filtrert og det faste stoffet vasket med metanol (1,6 kg).

5

Løsemiddelet elimineres under redusert trykk ved cirka 30°C og residuet tilsettes vann (5L) ved 20-25°C med avkjøling og under røring, i det vann tilsetningen er en eksoterm prosess. Den heterogene blandingen blir ytterligere avkjølt til 15-20°C, holdes ved denne temperaturen i 1 time og filtreres deretter. Det oppsamlede faste stoffet vaskes med avkjølt vann (4L) og tørkes under redusert trykk som gir 2,23 kg (85,0% utbytte) av ralfinamid med en HPLC renhet på 98,8 (areal %) bestemt i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 17A og et C,O-dialkylert (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid innhold på 0,01 vekt% bestemt med HPLC, i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 17B.

15

2.1 Fremstilling av (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino] propanamid (Ib) med høy renhetsgrad ved anvendelse av en palladium katalysator

En blanding av 5 g 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd, fremstilt i henhold til Eksempel 1 og den korresponderende mengden L-alaninamid hydroklorid og trietylamin hydrogeneres i henhold til samme fremgangsmåte som i Eksempel 2, med ved anvendelse av våt (50% H₂O) Pd/C 10% istedenfor våt (50% H₂O) Pt/C 5% som gir (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (**Ib**) i 70% utbytte.

25

EKSEMPEL 3

Fremstilling av (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat (ralfinamid metansulfonat, Id) med høy renhetsgrad

Ralfinamid (2,8 kg, 9,26 mol), fremstilt som beskrevet i Eksempel 2, løses i *iso*-propanol (19,5 kg) og holdes ved 65-70°C og røres under inert atmosfære.

30

Etter behandling med kull (150 g) og filtrering blir løsningen sådd med ren ralfinamid metansulfonat og metansulfonsyre (900 g, 9,36 mol) tilsettes i løpet av 30 minutter, under røring, og ved en temperatur på 50-55°C. Suspensjonen avkjøles deretter til 15-20°C i løpet av 2 timer og røring fortsetter i ytterligere en time. Det faste stoffet blir til slutt samlet opp ved filtrering og tørkes under redusert trykk som gir 3,59 kg (97,3% utbytte) av ralfinamid metansulfonat.

35

HPLC renheten til det oppnådde produktet er 99,8 (areal %, se Eksempel 17A) og innholdet av C,O-dialkylert (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat er 0,005% basert på (se Eksempel 17B); s.m.p. 240,6°C med DSC (5°C/min).

Den enantiomeriske renheten til ralfinamid metansulfonatet bestemt med en kiral HPLC kolonne er høyere enn 99,8 (areal %, se Eksempel 18).

10 **EKSEMPEL 4**

Fremstilling av renset 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVa) i etanol løsning

Til en blanding av 4-hydroksybenzaldehyd (1,52 kg, 12,45 mol), kalium karbonat (1,72 kg, 12,45 mol), kalium jodid (0,2 kg, 1,20 mol) i etanol (13,0 kg) blir 1,8 kg 3-fluorbenzylklorid (1,80 kg, 12,45 mol) tilsatt under røring ved romtemperatur.

Blandingen blir gradvis varmet opp til reflux og holdes deretter ved den temperaturen i 6 timer.

20 Reaksjonsblandingen blir deretter avkjølt til 25°C, suspensjonen filtreres og det faste stoffet vaskes med etanol (1,0 kg); etanol løsningene kombineres og deretter konsentreres ved redusert trykk til et residie på cirka 3,5 kg oppnås.

Til dette residuet blir toluen (5,0 kg) og vann (1,7 kg) tilsatt, løsemiddelblandingen blir 25 rørt kraftig i 30 minutter og, etter separasjon av vannfasen, blir det organiske sjiktet fordampet til tørrhet under redusert trykk som gir uren 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd.

Til dette produktet løst i 2 kg toluen blir et frø av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd 30 tilsatt under røring ved 20-25°C og deretter blir n-heksan (3,8 kg) tilsatt i løpet av 30 minutter og blandingen avkjøles til 0°C under røring.

Etter 2 timer blir det faste stoffet filtrert og vasket med n-heksan (1,3 kg). Etter tørking blir 2,6 kg (90,7% utbytte) av det ønskede produktet oppnådd, med en gass 35 kromatografisk renhet på 99,9 (areal %, se Eksempel 16A) og et 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd innhold på 0,005 vekt% bestemt med G.C. (areal %, se Eksempel 16B); s.m.p. 43,1°C med DSC 5°C/min.

EKSEMPEL 5**Fremstilling av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVa) ved faseoverføringskatalyse**

5

En blanding av 3-fluorbenzylklorid (5 kg, 34,58 mol), 4-hydroksy-benzaldehyd (3,9 kg, 31,94 mol), kalium karbonat (4,3 kg, 31,11 mol) og tetradecyl trimetylammonium bromid (0,41 kg, 1,22 mol) i toluen (13,5 kg) bringes langsomt til reflux temperatur under røring og under nitrogen atmosfære og reflukseres deretter i 6 timer.

10

Løsningen konsentreres ved romtemperatur og deretter blir 3 kg toluen tilsatt og destilleres fra. Denne fremgangsmåten gjentas ytterligere en gang.

15

Den heterogene blandingen blir deretter avkjølt til romtemperatur og det faste stoffet elimineres ved filtrering. Rest løsemiddelet elimineres under redusert trykk og deretter blir 1,2 kg toluen tilsatt til det oljeaktige residuet. Blandingens røres ved 20-25°C og såes med noen få gram ren 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd, og deretter følger tilsetning av n-heksan (9 kg) ved denne temperaturen, i løpet av 30 minutter.

20

Etter avkjøling til 0-5°C og røring i ytterligere en time ved denne temperaturen blir det faste stoffet samlet opp ved filtrering og tørket under redusert trykk som gir 6,5 kg (85% utbytte, GC renhet 99,9 (areal %, se Eksempel 16A) og et 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd innhold på 0,008% basert på vekt (se Eksempel 16B).

25

5.1 Ytterligere rensing av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVa) ved krystallisering

Et kilogram 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd fremstilt i henhold til Eksempel 5, løses i 2 kg diisopropyl eter ved reflux under røring.

30

Løsningen avkjøles til 50-55°C i løpet av 10-15 minutter og såes med noen få gram ren 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd.

35

Suspensjonen avkjøles til 10-15°C i løpet av 45-60 minutter og røres i ytterligere en time.

Presipitatet blir til slutt samlet opp ved filtrering, vasket med kald diisopropyl eter (0,2 kg) og tørkes under redusert trykk som gir 0,95 kg 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd med GC renhet på 99,9 (areal %, se Eksempel 16A) og et innhold av 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd lavere enn 0,005% basert på vekt bestemt med GC (se Eksempel 16B).

5.2 Fremstilling av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVa) ved faseoverføringskatalyse ved anvendelse av 3-fluorbenzyl bromid

4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd fremstilles i 86,1% utbytte med et innhold av 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd på 0,07% basert på vekt bestemt med GC (se Eksempel 16B) ved omsetning av 4-hydroksybenzaldehyd (15,6 g) med 3-fluorbenzyl bromid i henhold til samme fremgangsmåte som i Eksempel 5, men ved anvendelse av 3-fluorbenzyl bromid istedenfor 3-fluorbenzylklorid.

Det således oppnådde 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet renses i henhold til Eksempel 5.1 for å gi tittelproduktet i 97,3% utbytte med et innhold av 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd på 0,07 vekt% bestemt med GC (se Eksempel 16B).

5.3 Fremstilling av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVa) ved faseoverføringskatalyse ved anvendelse av 3-fluorbenzyl metansulfonat

4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd fremstilles i 97,5% utbytte med et innhold av 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd på 0,45% basert på vekt, bestemt med GC (se Eksempel 16B), ved omsetning av 4-hydroksybenzaldehyd (15,6 g) med 3-fluorbenzyl metansulfonat istedenfor 3-fluorbenzylklorid i henhold til samme fremgangsmåte som i Eksempel 5. Dette produktet blir ytterligere renses i henhold til fremgangsmåten i Eksempel 5.1.

EKSEMPEL 6

Fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (safinamid, Ia) med høy renhetsgrad (en-kolbe reaksjon)

En autoklav tilsettes 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (2,0 kg, 8,69 mol) fremstilt som i Eksempel 4, og deretter blir en løsning, fremstilt annet sted, av L-alaninamid

hydroklorid (1,2 kg, 9,63 mol) og trietylamin (0,97 kg, 9,63 mol) i metanol (7,1 kg) tilsatt til blandingen.

Blandingen røres ved 20-25°C i 1 time og, etter såing med få gram (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid, fortsetter røring i ytterligere 15 minutter. Til den rørte heterogene blandingen blir metanol (1,8 kg) og våt (50% H₂O) Pt/C 5% (Engelhard cod. Escat 22)(0,3 kg) deretter tilsatt ved 20-25°C.

Luften fjernes fra autoklaven med nitrogen og deretter blir hydrogen introdusert ved 5,0 bar.

Etter 5 timer ved 30-35°C blir blandingen avkjølt til 15°C, metanol (4,8 kg) tilsettes og blandingen varmes opp til 40-45°C; til slutt blir det faste stoffet filtrert ut og vasket med metanol (1,6 kg).

Løsemiddelet elimineres under redusert trykk ved cirka 30°C og deretter blir en blanding av etylacetat (23,0 kg) og vann (18,0 kg) tilsatt til residuet. Etter røring i 15 minutter blir vannfasen separert og ekstrahert med etylacetat (7,0 kg). De oppsamlede organiske fasene konsentreres til et residie på cirka 6,0 kg oppnås. Til dette residuet blir n-heptan (10,8 kg) tilsatt og blandingen røres ved 20°C i cirka 2 timer. Det faste stoffet blir deretter samlet opp ved filtrering og vasket med n-heptan.

Etter tørking av det faste stoffet under redusert trykk blir 2,41 kg (91,8% utbytte) av tittelforbindelsen oppnådd med en HPLC renhet på 98,4 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av C,O-dibenzylert (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid) på 0,005 vekt% (se Eksempel 17B).

6.1 Fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (Ia) med høy grad av renhet ved anvendelse av en Pd katalysator

(S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (5 g) i nærvær av de korresponderende mengdene L-alaninamid hydroklorid og trietylamin hydrogeneres i henhold til samme fremgangsmåte som i Eksempel 6, med ved anvendelse av våt (50% H₂O) Pd/C 10%, istedenfor våt (50% H₂O) Pt/C 5%, som gir Ia i 72% utbytte.

6.2 Fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (Ia) med høy grad av renhet ved hydrogenering ved 1 bar

En blanding av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd, L-alaninamid hydroklorid og trietylamin hydrogeneres i henhold til samme fremgangsmåte som i Eksempel 6, men ved 1 bar/H₂ istedenfor 5 bar/H₂.

Utbyttet av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid er 90% med en HPLC renhet på 98,7 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid på 0,005 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

6.3 Fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (Ia) med høy renhetsgrad (en-kolbe reaksjon) ved anvendelse av L-alaninamid base

(S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (10 g) omsettes i henhold til samme fremgangsmåte som i Eksempel 6, med ved anvendelse av L-alaninamid base, istedenfor dets hydroklorid og trietylamin. Utbyttet av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid er 92% med HPLC renhet på 99,7 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid lavere enn 0,005% basert på vekt bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

EKSEMPEL 7

Fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat (safinamid metansulfonat, Ic) med høy grad av renhet

Safinamid (2,41 kg, 7,97 mol), fremstilt som beskrevet i Eksempel 6, løses i etylacetat (56,5 kg) ved 65°C og avfarges med kull (100 g).

Etter filtrering blir løsningen rørt og sådd med noen få gram safinamid metansulfonat og, etter 15 minutter, blir metansulfonsyre (850 g, 8,84 mol) tilsatt i løpet av 30 minutter, ved en temperatur på 50-55°C. Suspensjonen avkjøles under røring til 20-25°C i løpet av 2 timer og røres i ytterligere en time. Presipitatet blir til slutt samlet opp ved filtrering og tørket under redusert trykk som gir 2,83 kg (89.1% utbytte) av safinamid metansulfonat.

Innholdet av urenhet (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat (**IIc**) målt med HPLC (se Eksempel 17B) er på 0,005 vekt%. Tittelforbindelsen har s.m.p. 216,8°C med DSC (5°C/min).

- 5 Den enantiomere renheten, målt med en kiral HPLC kolonne, er over 99,9 (areal %, se Eksempel 19).

¹H-NMR (D₂O) (Bruker AV300) δ (ppm, med hensyn til H₂O ved 4.7 ppm): 1.43 (3H, d, J = 7 Hz, CH₃); 2.66 (3H, s, CH₃SO₃H); 3.87 (1H, q, J = 7 Hz, H-2); 3.97 (2H, bs, CH₂NR); 4.89 (2H, s, CH₂OR); 6.88 og 7.23 (4H, AA'XX' aromatisk p-disubstituert system; 6.90 ÷ 7.22 (4H, aromatisk H).

¹³C-NMR (D₂O) (Bruker AV300) δ ppm: □ 15.68 (CH₃); 38.27 (CH₃SO₃H); 48.99 (CH₂NR); 54.81 (CH); 69.00 (OCH₂); 114.15 (d, J_{C-F} = 21 Hz, aromatisk CH); 114.76 (d, J_{C-F} = 20 Hz, aromatisk CH); 115.38 (aromatisk CH); 123.06 (d, J_{C-F} = 24 Hz, aromatisk CH); 123.24; 130.29 (d, J_{C-F} = 6 Hz, aromatisk CH); 131.54 (aromatisk CH); 138.76 (d, J_{C-F} = 7 Hz, aromatisk CH); 158.52; 162.89 (d, J_{C-F} = 245 Hz, C-F); 171.92 (CO).

20 EKSEMPEL 8

Fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (safinamid, Ia) med høy renhetsgrad, med isolering av intermediat Schiff basen (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid (VIa)

25 **a) (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid (VIa)**

Til en suspensjon av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (60,0 g 0,26 mol), fremstilt som i Eksempel 5 og L-alaninamid hydroklorid (35,7 g 0,29 mol) i metanol (280 mL) ble trietylamin (29,1 g, 0,29 mol) tilsatt ved romtemperatur med røring under nitrogen atmosfære. Røring opprettholdes i en ytterligere time.

Løsningen blir deretter sådd med noen få gram (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid, temperaturen reduseres til 5-10°C og røring fortsetter i 2 timer.

Det faste stoffet samles opp ved filtrering og vaskes med metanol ved 0°C. Etter tørking av det ved redusert trykk blir 57,3 g (73,2% utbytte) av tittelforbindelsen oppnådd med s.m.p. 112,0°C med DSC (5°C/min).

- 5 **¹H-NMR** (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm, med hensyn til TMS ved 2.55 ppm; DMSO løsemiddel ved 3.35 ppm): 1.31 (3H, *d*, J = 7 Hz, CH₃); 3.86 (1H, q, J = 7 Hz, H-2); 5.18 (2H, s, CH₂OR); 7.08 og 7.79 (4H, AA'XX' p-disubstituert aromatisk system); 7.10-7.50 (4H, m, aromatisk H); 8.27 (1H, s, CH=NR).
- 10 **¹³C-NMR** (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm): 20.5 (CH₃); 67.6 (CH); 68.4 (OCH₂); 114.1 e 114.4 (*d*, JC-F = 21 Hz, aromatisk CH); 114.5 e 114.8 (*d*, JC-F = 21 Hz; aromatisk CH); 114.8 (aromatisk CH); 123.5 (*d*, JC-F = 2 Hz, aromatisk CH); 129.0 og 129.9 (aromatisk CH); 130.4 og 130.5 (*d*, JCF = 7 Hz, aromatisk CH); 139.6 og 139.7 (*d*, JC-F = 6 Hz aromatisk kvarternær C); 160.2; 160.5 og 163.8 (*d*, JC-F = 245 Hz C-F); 160.6 (CH=N); 174.8 (CO).
- 15

b) (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (Ia)

- En autoklav tilsettes (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid (16,0 g; 0,053 mol), fremstilt som beskrevet ovenfor, og våt (50% H₂O) Pt/C 5% (1,7 kg; Engelhard S.r.l., Roma, Italia) og metanol (90 mL) tilsettes til blandingen. Luft blir fjernet fra autoklaven med nitrogen og deretter blir hydrogen introdusert ved 5,0 bar. Reaksjonsblandingens holdes ved 5,0 bar og ved 35°C i 1 time. Etter avkjøling til romtemperatur og eliminering av katalysatoren ved filtrering ble løsemiddelet destillert
- 25 av under redusert trykk til et residie på cirka 30 g oppnådd. Til dette residuet ble en blanding av etylacetat (150 mL) og H₂O (110 mL) tilsatt og den heterogene blandingen ble varmet opp til 40°C, til to klare faser ble oppnådd. Disse to fasene ble separert og vannsjiktet ble ekstrahert med 50 mL etylacetat ved 40°C. De organiske fasene ble samlet opp og fordampet til tørrhet. Fremgangsmåten ble gjentatt to ganger ved
- 30 tilsetning hver gang av 90 mL etylacetat for å gjøre produktet vannfritt. 95 mL n-heptan ble deretter tilsatt sakte og under røring til residuet. Blandingens ble deretter rørt i 3 timer ved 20°C. Det faste stoffet som ble dannet ble samlet opp ved filtrering, vasket med n-hetpan (15 mL) og tørket under redusert trykk som ga 15,2 g (94,8% utbytte) av safinamid med en HPLC renhet på 99,8 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av
- 35 (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid lavere enn 0,005% basert på vekt målt med HPLC (se Eksempel 17B).

EKSEMPEL 9**Fremstilling av (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (ralfinamid, Ib) med høy grad av renhet, med isolering av intermediat Schiff basen (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid (VIb)**

5

a) (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid (VIb)

(S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid fremstilles i 88% utbytte, s.m.p. 121°C (kapillær), ved å følge samme fremgangsmåte som Eksempel 8, trinn a),
 10 men ved anvendelse av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd istedenfor 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd.

¹H-NMR: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, med hensyn til TMS): 1.46 (3H, d, J= 7.0 Hz, CH₃); 3.91 (1H, q, J= 7.0 Hz, CH-CO); 5,17 (2H, s, O-CH₂); 7,02 (2H, d, J=8,9 Hz
 15 aromatisk H orto til O-CH₂); 7,09 (1H, ddd, J_{H-F}= 9,78 Hz J_{orto}= 8,55 Hz J_{meta}= 1,23 Hz aromatisk H orto til F); 7,15 (1H, dt, J_{orto}= 7,35 Hz J_{meta}= 1,23 Hz aromatisk H para til F); 7,27-7,40 (1H, m, aromatisk H para til CH₂); 7,48 (1H, dt, J_{orto}= J_{H-F}= 7,35 Hz J_{meta}= 1,53 Hz aromatisk H orto til CH₂); 7,71 (2H, d, J=8,9 Hz aromatisk H orto til CH=N); 8,17 (1H, s, C=N).

20

¹³C-NMR: (CDCl₃, 75.4 MHz, 298K) δ (ppm): 21.4 (CH₃); 63.8 (OCH₂); 68.4 (H₂NCOCH); 115.0 (d, J_{C-F}= 22.4 Hz, aromatisk CH), 115.5 (d, J_{C-F}= 20.7 Hz, aromatisk CH); 123.7 (d, J_{C-F}= 14.4 Hz, kvarternær aromatisk C); 124.5 (bd, aromatisk CH); 129.0 (kvarternær aromatisk C); 129.8 (bd, aromatisk CH); 130.1 (bd, 2
 25 aromatisk CH); 160.5 (d, J_{C-F}= 246.4 Hz, kvarternær aromatisk C); 161.1 (aromatisk C-O); 161.1 (C=N); 176.9 (CONH₂).

b) (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (Ib)

30 (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid fremstilles i et 93% utbytte fra (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylidenamino]propanamid ved å følge samme fremgangsmåte som i Eksempel 8, trinn b). Innholdet av (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid er 0,02% basert på vekt bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

35

EKSEMPEL 10**Fremstilling av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat (IIc)**5 **a) 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (Va)**

I en 4L rundkolbe holdt under nitrogen atmosfære, ble 4-hydroksybenzaldehyd (400 g, 3,28 mol), kalium karbonat (453 g, 3,28 mol), toluen (2L) og 3-fluorbenzylklorid (1400 g, 9,68 mol) tilsatt i sekvens og blandingen ble refluxert under røring i 5 dager. På
 10 dette tidspunktet avdekket en GC analyse at reaksjonsblandingen inneholdt 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd og 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd i et forhold på 91,4:8,6 (areal/areal, se Eksempel 16A).

Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og deretter ble 2L vann tilsatt under
 15 røring. Den organiske fasen ble separert og løsemiddelet destillert under redusert trykk (20 mm Hg) ved 35°C til ikke mer løsemiddel passerer over. Trykket blir deretter redusert til 3 mmHg og ekstern temperaturen heves opp til 300°C og fraksjonen som destillerer mellom 255°C og 265°C, (40,6 g), samlet opp.

20 En GC analyse viser et areal/areal forhold av C,O-dibenzylert derivat (**Va**) av tittelforbindelsen vs. det monoalkylerte (**IVa**) på 99,6:0,4 (areal/areal, se Eksempel 16A).

¹H-NMR (CDCl₃) (Bruker AV300) δ (ppm, med hensyn til TMS): 4.05 (2H, *s*, CH₂);
 25 5.13 (2H, *s*, OCH₂); 6.85-7.40 (9H, *m*, aromatisk H); 7.73-7.79 (2H, *m*, aromatisk H orto til C=O); 9.88 (*s*, CHO).

¹³C-NMR (CDCl₃) (Bruker AV300) δ (ppm): 36.1 (CH₂); 69.4 (CH₂O); 111.4 (aromatisk CH); 112.9 og 113.2 (*d*, JC-F = 20 Hz, aromatisk CH), 113.9 og 114.2 (*d*, JC-F = 22 Hz, aromatisk CH); 114.9 og 115.0 (*d*, JC-F = 21 Hz, aromatisk CH); 115.7 e 115.9 (*d*, JC-F = 25 Hz aromatisk CH); 122.6 (*d*, JC-F = 3 Hz, aromatisk CH); 124.4 (*d*, JC-F = 3 Hz, aromatisk CH); 129.6 og 129.8 (*d*, JC-F = 8 Hz, aromatisk CH); (*d*, JC-F = 7 Hz, kvarternær aromatisk C); 129.9 (C kvarternær aromatisk C); 130.0 (kvarternær aromatisk C); 130.1 og 130.2 (*d*, JC-F 7Hz, CH aromatisk); 131.2
 35 (aromatisk CH); 131.5 (aromatisk CH); 138.3 (*d*, JC-F = 7 Hz, kvarternær aromatisk C); 142.3 (*d*, JC-F = 7 Hz, kvarternær aromatisk C); 161.0, 161.2 og 164.4 (*d*, JC-F = 240, 2 C-F overlappende); 190.8 (CHO).

b) (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (IIa)

Til 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (35,6 g, 0,105 mol) i en 500 mL kolbe ble det tilsatt en løsning på forhånd fremstilt ved forsiktig tilsetning under
5 røring av trietylamin (12 g, 0,119 mol) til en 170 mL metanol løsning av L-alaninamid hydroklorid (14,8 g, 0,119 mol) ved romtemperatur.

Denne reaksjonsblandingen røres i 1 time ved romtemperatur og blir deretter overført til en 1,8L autoklav og tilsettes 3,4 g våt (50% H₂O) Pt/C 5%.

10

Luften fjernes fra autoklaven med nitrogen og deretter blir hydrogen introdusert ved 5,0 bar.

Reaksjonen utføres ved en temperatur på 35°C i 3-5 timer.

15

Etter avkjøling til romtemperatur og eliminering av katalysatoren ved filtrering blir løsemiddelet destillert fra under redusert trykk til et residie på cirka 65 g oppnås. Til dette residuet blir en blanding av etylacetat (340 mL) og vann (250 mL) tilsatt og den heterogene blandingen varmes opp til 40°C og holdes ved denne temperaturen uten
20 røring, til to klare faser oppnås. De to fasene separeres og den organiske destilleres under redusert trykk, til et residie på cirka 50 g oppnås.

Dette residie løses opp i 220 mL etylacetat og løsemiddelet destilleres fra under redusert trykk med en ekstern temperatur på 40°C. Denne operasjonen gjentas to ganger og
25 tittelforbindelsen oppnås som fast residie.

c) (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat (IIc)

30 I en 2L glass reaktor blir 42,4 g (0,103 mol) (S)-3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid base løst i 950 mL etylacetat.

Løsningen varmes opp under røring til 50-55°C og holdes ved denne temperaturen i en time. Til denne løsningen blir 14,5 g (0,15 mol) metansulfonsyre tilsatt i løpet av 20
35 minutter og temperaturen reduseres til 20°C i løpet av 90 minutter. Etter 30 minutter blir det faste stoffet samlet opp ved filtrering, tørket ved 50°C under redusert trykk og deretter krystallisert fra metanol (metanol:produkt 1:5 basert på vekt) som gir 25,1 g

(S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid
metansulfonat, s.m.p. 181°C (kapillær).

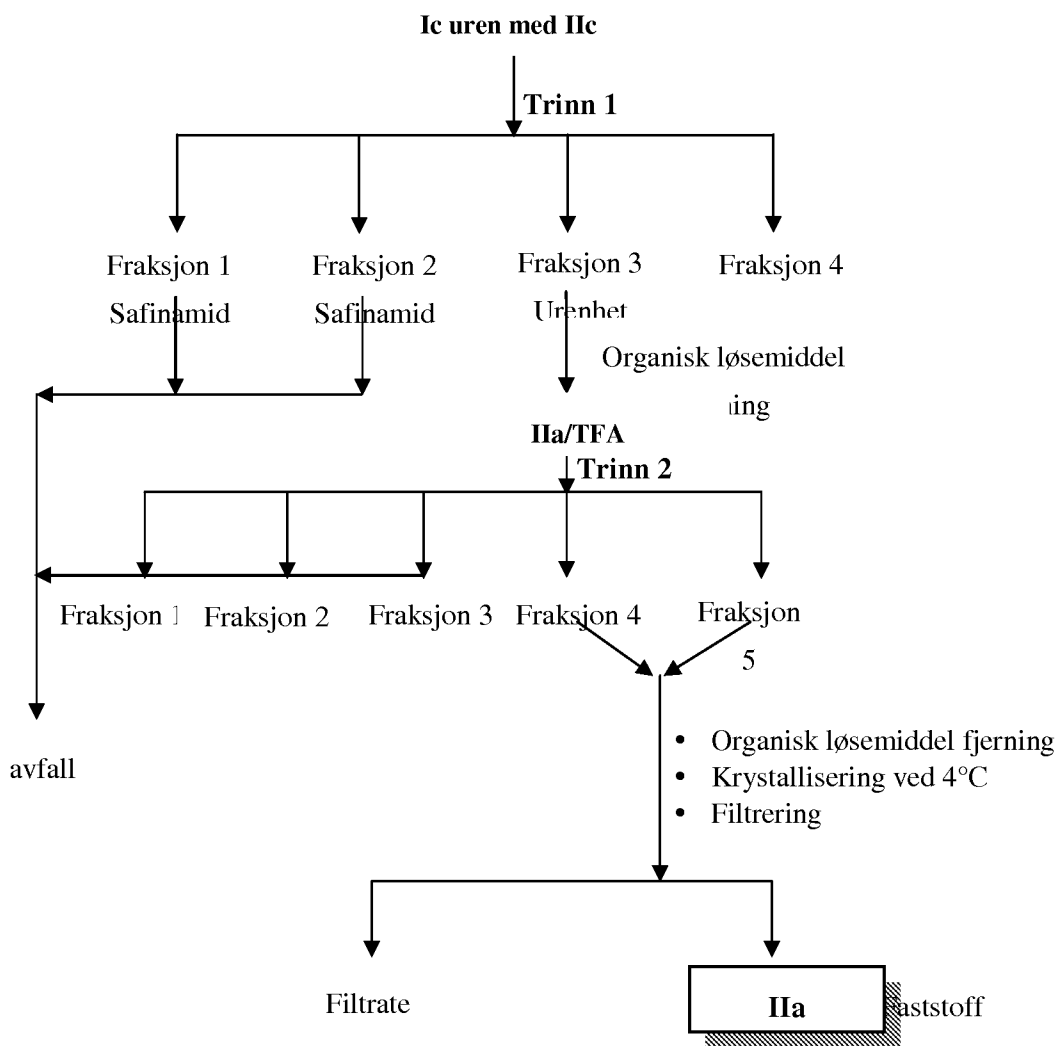
¹H-NMR (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm, med hensyn til TMS): 1.44 (3H, *d*, J =
5 7 Hz, CH₃); 2.35 (3H, *s*, CH₃SO₃); 3.81 (1H, *q*, J = 7 Hz, H-2), 3.99 (2H, *bs*, CH₂
benzylisk); 4.02 (2H, AB system, CH₂N-); 5.17 (2H, *s*, CH₂OR); 6.98-7.63 (11H, *m*,
aromatisk H); 7.62 og 7.75 (2H, *bs*, NH₂ amid); 9.02 (2H, *bred*, NH₂⁺).

¹³C-NMR (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm): 15.9 (CH₃); 35.5 (CH₂); 39.7
10 (CH₃SO₃H); 48.1 (CH₂NR); 54.4(CH); 68.4(OCH₂); 112.2 (aromatisk CH); 112.7 (*d*,
J_{C-F} = 22 Hz, aromatisk CH); 113.8 (*d*, J_{C-F} = 22 Hz, aromatisk CH); 114.5 (*d*, J_{C-F} = 22
Hz, aromatisk CH); 115.2 (*d*, J_{C-F} = 22 Hz, aromatisk CH); 123.2 (aromatisk CH); 123.8;
124.6 (aromatisk CH); 128.7 og 130.0 (*d*, J_{H-C-F} = 6 Hz, aromatisk CH); 130.04
(aromatisk CH); 130.3 (*d*, J_{C-F} = 6 Hz, aromatisk CH); 132.6 (aromatisk CH); 139.8 (*d*,
15 J_{C-F} = 7 Hz); 143.4 (*d*, J_{C-F} = 7 Hz); 158.1, 160.5 og 163.7 (*d*, J_{C-F} = 240, C-F); 160.6 og
163.8 (*d*, J_{C-F} = 240, C-F); 170.5 (CON).

En prøve (90 mg) av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-
benzylamino]propanamid (**IIa**) isoleres også ved preparativ HPLC fra 200 g safinamid
20 metansulfonat (**Ic**) fremstilt i henhold til J. Med. Chem., 1998, 41, 579, fremgangsmåte
A, som inneholder den, som metansulfonat (**IIc**), i 0,12 vekt%.

Separasjonen utføres, i to trinn (**Trinn 1 og Trinn 2**), i henhold til følgende skjema:

**Isolering av IIa ved preparativ HPLC av safinamid metansulfonat (Ic)
kontaminert med 0,12 vekt% IIc**



5 **Trinn 1**

Formålet med det første trinnet er å isolere et urent produkt anriket i **IIa/TFA** (trifluoreddiksyre syre). Preparativ HPLC betingelser er rapportert nedenfor:

Preparative HPLC betingelser:

10

Instrument: Waters Delta Prep 4000 (resiprok pumpe, gradient kontrollerer med lavtrykksblander)
Radial kompresjon modul prep LC base (Waters)

Jasco 7125 UV-variabel detektor, o.p. 0,2 mm
Merk D2000 printer-plotter

Kolonne: Delta Pak C18, 15µm, 40x100mm (Waters)
5 Eluent A: 70/30, vann/acetonitril + 0,1% TFA
Eluent B: 30/70, vann/acetonitril + 0,1% TFA
Strømningshastighet: 27,0 ml/min
Gradient: 40 min, isokratisk 100% A, deretter til 100% B i løpet av 1 minutt
Deteksjon: UV 227 nm
10 Injeksjon: 5 g i 50 ml vann (med pumpe innløpsledning D).

Trinn 2

Dette trinnet er nødvendig for å eliminere TFA fra **IIa/TFA** og for ytterligere å rense **IIa**.

15 **IIa/TFA** kromatograferes ved anvendelse av de preparative HPLC betingelsene gitt nedenfor.

Fraksjon 4 og 5 kombineres sammen og fordampes ved 40°C under vakuum til fullstendig fjerning av acetonitril. Rest vann løsningen holdes i kjøleskap ved 4°C. Det uløselige materialet isoleres ved filtrering og tørkes under vakuum ved romtemperatur
20 som gir **IIa** (90 mg; HPLC renhet 100%).

Preparative HPLC betingelser:

Instrument: Waters Delta Prep 4000 (resiprok pumpe, gradient kontrollerer med
25 lavtrykksblander)
Jasco 7125 UV-variabel detektor, o.p. 0.2 mm
Merk D2000 printer-plotter

Kolonne: Symmetry C18, 7 µm, 20x250mm (Waters)
30 Eluent A: 70/30, vann/acetonitril
Eluent B: 30/70, vann/acetonitril
Strømningshastighet: 15,0 ml/min
Gradient: 20 min, isokratisk 100% A, deretter til 100% B i løpet av 10 minutter
Deteksjon: UV 227 nm
35 Injeksjon: 50 ml urenhet "**IIa/TFA**" løsning (ved pumpe innløpsledning D).

EKSEMPEL 11**Fremstilling av (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat (IIId)**5 **a) 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (Vb)**

3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd fremstilles ved å følge samme fremgangsmåte som i Eksempel 10, trinn a) i en 1:10 skala, men ved anvendelse av 2-fluorbenzylklorid istedenfor 3-fluorbenzylklorid. Molar utbyttet er 3% med en 98,1%
 10 renhet bestemt ved GC analyse (areal %, se Eksempel 16A). Produktet har s.m.p. 71°C (kapillær).

¹H-NMR: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, med hensyn til TMS): 4.06 (2H, s, CH₂); 5.23 (2H, s, OCH₂); 6.95-7.40 (9H, m, aromatisk H); 7.67 (1H, bd, J= 0.9 Hz, aromatisk H orto til C=O og CH₂); 7.76 (1H, dd, J₁= 2.1 Hz, J₂= 8.3 Hz, aromatisk H orto til C=O og aromatisk CH); 9.84 (1 H, s, CHO).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 75.4 MHz, 298K) δ (ppm): 29.2 (CH₂); 64.1 (OCH₂); 111.4 (aromatisk CH); 115.4 (d, J_{C-F}= 22.0 Hz, aromatisk CH), 115.5 (d, J_{C-F}= 21.1 Hz, aromatisk CH); 123.3 (d, J_{C-F}= 14.2 Hz, kvarternær aromatisk C); 124.1 (d, J_{C-F}= 2.6 Hz, aromatisk CH); 124.5 (d, J_{C-F}= 3.2 Hz, aromatisk CH); 126.6 (d, J_{C-F}= 15.5 Hz, kvarternær aromatisk C); 128.2 (d, J_{C-F}= 8.1 Hz, aromatisk CH); 129.6 (d, J_{C-F}= 6.2 Hz, aromatisk CH); 129.6 (kvarternær aromatisk C); 130.0 (kvarternær aromatisk C); 130.2 (d, J_{C-F}= 8.3 Hz, aromatisk CH); 131.1 (aromatisk CH); 131.3 (d, J_{C-F}= 4.1 Hz, aromatisk CH); 131.8 (aromatisk CH); 160.5 (d, J_{C-F}= 246.8 Hz, kvarternær aromatisk C); 161.2 (d, J_{C-F}= 245.1 Hz, kvarternær aromatisk C); 161.3 (kvarternær aromatisk C); 191.1 (CHO).

b) (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (IIb)

30

(S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]-propanamid fremstilles ved å følge samme fremgangsmåte som i Eksempel 10, trinn b) ved anvendelse av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd istedenfor 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd. Utbyttet er 83%; s.m.p. 161°C (kapillær).

35

¹H-NMR: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, med hensyn til 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, diastereotopisk H of NCH₂); 4.03 (2H, s, CH₂); 5.12 (2H, s, OCH₂); 5.98 (1H, bs, NH₂); 6.89 (1H, d, J_{orto} = 8.3 Hz, aromatisk H orto til CH₂NH og aromatisk CH); 6.95-7.40 (10H, m, aromatisk H).

5 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 (aromatisk CH); 115.2 (d, J_{C-F} = 21.9 Hz, aromatisk CH), 115.3 (d, J_{C-F} = 21.3 Hz, aromatisk CH); 124.0 (d, J_{C-F} = 3.5 Hz, aromatisk CH); 124.3 (d, J_{C-F} = 2.9 Hz, aromatisk CH); 124.3 (d, J_{C-F} = 14.4 Hz, kvarternær aromatisk C); 127.5 (aromatisk CH); 127.6 (d, J_{C-F} = 15.0 Hz, kvarternær aromatisk C); 127.8 (d, J_{C-F} = 7.5 Hz, aromatisk CH); 128.8 (kvarternær aromatisk C); 129.0-130.0 (m, 2 aromatisk CH); 130.5 (aromatisk CH); 131.3 (d, J_{C-F} = 4.6 Hz, aromatisk CH); 131.8 (kvarternær aromatisk C); 155.6 (kvarternær aromatisk C); 160.4 (d, J_{C-F} = 245.8 Hz, kvarternær aromatisk C); 161.2 (d, J_{C-F} = 244.6 Hz, kvarternær aromatisk C); 178.2 (CONH₂).

15

c) (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat (IIId)

20 (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat fremstilles ved å følge samme fremgangsmåte som i Eksempel 10, trinn c), men ved anvendelse av (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid som utgangsmaterialet. Utbyttet er 89%; s.m.p. 190°C (kapillær).

25 ¹H-NMR: (DMSO-d₆, 300 MHz, 298K) δ (ppm, med hensyn til TMS): 1.42 (3H, d, J = 6.8 Hz, CH₃CH); 2.33 (3H, s, CH₃SO₃); 3.50-4.20 (5H, m, CH-CO, CH₂, diastereotopisk H av NCH₂); 5.19 (2H, s, OCH₂); 6.95-8.00 (11H, m, aromatisk H); 9.02 (2H, bs, NH₂⁺).

30 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 (aromatisk CH); 115.0-117.0 (2 aromatisk CH); 124.2 (d, J_{C-F} = 14.4 Hz, kvarternær aromatisk C); 124.4 (kvarternær aromatisk C); 124.8 (aromatisk CH); 125.0 (aromatisk CH); 127.3 (d, J_{C-F} = 16.1 Hz, kvarternær aromatisk C); 128.6 (kvarternær aromatisk C); 128.8 (aromatisk CH); 129.0-133.0 (m, 5 aromatisk CH); 156.9 (kvarternær aromatisk C); 160.8 (d, J_{C-F} = 245.2 Hz, kvarternær aromatisk C); 160.9 (d, J_{C-F} = 243.5 Hz, kvarternær aromatisk C); 171.1 (CONH₂).

35

EKSEMPEL 12**Fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (safinamid) metansulfonat (Ic) fra 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVa) kontaminert med 1 vekt% urenhet 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (Va)**

5

Til 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (10 g; GC renhet 98,8, areal %) blir 1% 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd tilsatt og blandingen omdannes til (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid safinamid base ved å følge samme fremgangsmåte som i Eksempel 6. Utbyttet er 84% med et innhold av urenhet (IIa) på 0,84% (se Eksempel 17B) basert på vekt.

10

Den frie basen (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (**Ia**) omdannes til det korresponderende metansulfonatet ved å følge samme fremgangsmåte som i Eksempel 7 for å gi metansulfonatet (**Ic**) i 98% utbytte med innhold av urenhet (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat (**Iic**) på 0,62 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

15

EKSEMPEL 13**Krystallisering av safinamid metansulfonat (Ic) kontaminert med urenhet (Iic)**

20

Safinamid metansulfonatet kontaminert med (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat (Iic) med 0,62 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B), oppnådd i henhold til Eksempel 12, krystalliseres ved anvendelse av fem forskjellige løsemiddelsystemer ved å løse opp ved reflux temperatur og avkjøling til romtemperatur.

25

Resultatet er rapportert i følgende Tabell 5

30

35

TABELL 5

TEST NR.	LØSEMIDDELSYSTEM OG MENGDE (mL/g)	% vekt/vekt av IIc i Ic etter krystallisering (*)	% molart utbytte
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	acetone/H ₂ O ~27:1, 40,5	0,08	20,6
13e	acetonitril/H ₂ O 60:1, 30,5	0,09	69,3

(*) % (vekt/vekt) evalueres i henhold til Eksempel 17B.

5

EKSEMPEL 14

Fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (safinamid, Ia) metansulfonat (Ic) i henhold til fremgangsmåtene beskrevet i litteraturen

10 **14.1 Fremstilling av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVa)**

14.1.a) Fremgangsmåte i Eksempel 1a i US 6,335,354 B2

4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVa**) fremstilles ved fremgangsmåten beskrevet i
15 Eksempel 1a i US 6,335,354 B2.

Følgelig ble en blanding av 3-fluorbenzylklorid (2,86 g, 19,80 mmol) 4-
hydroksybenzaldehyd (3,03 g, 24,80 mmol), K₂CO₃ (10,30 g, 74,50 mmol), NaI (137,1
mg, 0,91 mmol) og etanol (40 mL) varmet opp til reflux i 70 minutter og holdt ved
20 reflux temperatur i 4 timer og 15 minutter. Etter opparbeiding av reaksjonsblandingen
ble 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd isolert som en gul olje i 95% utbytte.

Produktet har GC renhet på 97,6 (areal %, se Eksempel 16A) og et innhold av 3-(3-
fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**Va**) på 0,14 vekt% bestemt med GC
25 (se Eksempel 16B).

14.1.b) Fremgangsmåte i J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979

4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVa**) fremstilles ved fremgangsmåten rapportert i J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979.

5

Følgelig ble 3-fluorbenzylklorid (14,5 g, 100 mmol) tilsatt under røring og under nitrogen atmosfære til en løsning av 4-hydroksybenzaldehyd (12,2 g, 100 mmol) og NaOH (4,0 g, 100 mmol) i etanol (100 mL).

- 10 Blandingen ble gradvis varmet opp i 25 minutter til reflux og rørt ved reflux temperatur i 6 timer og 20 minutter. Reaksjonsblandingen ble filtrert og deretter konsentrert ved redusert trykk som ga 4-(3-fluor-benzyloksy)benzaldehyd (23,43 g) som et gult fast residie. Diklormetan (250 mL) ble tilsatt til residuet, det uløselige materialet filtrert og den resulterende løsningen konsentrert under redusert trykk som ga
- 15 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd som et gult faststoff, i 80,4% utbytte. Produktet har GC renhet på 91,6 (areal %, se Eksempel 16A) og et innhold av 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**Va**) på 0,13 vekt% bestemt med GC (se Eksempel 16B).

14.2 Fremstilling av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (Ia) og dens metansulfonat salt (Ic)

20

14.2.a) Fremgangsmåte i J. Med. Chem., 1998, 41, 579, fremgangsmåte A

- (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (**Ia**) fremstilles ved omsetning av
- 25 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (10 mmol), fremstilt som beskrevet i Eksempel 14.1.a., og L-alaninamid hydroklorid (1,37 g, 11 mmol) fulgt av reduksjon med NaBH₃CN (0,50 g, 8 mmol). Etter opparbeiding av reaksjonsblandingen og rensing med flash kromatografi ble (S)-2[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid isolert som hvitt faststoff i 68,7% utbytte. Produktet har HPLC renhet på 96,2 (areal %, se
- 30 Eksempel 17A) og et innhold av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (**IIa**) på 0,15 vekt% (se Eksempel 17B).

- En blanding av (S)-2[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (1,50 g, 4,96 mmol) og etylacetat (40,2 mL) ble varmet opp til 50°C til en klar løsning ble oppnådd.
- 35 Metansulfonsyre (0,53 g, 5,51 mmol) ble tilsatt under røring i 15 minutter til løsningen og den resulterende heterogene blandingen ble avkjølt under røring til 20°C i løpet av 90 minutter. Etter 30 minutter ved 20°C ble det faste stoffet samlet opp ved filtrering,

vasket med etylacetat (6 mL) og tørket ved 50°C ved redusert trykk i 15 timer som ga (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat (**Ic**) som et hvitt faststoff i et 96,1% utbytte. Produktet har HPLC renhet 98,6 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat (**Iic**) på 0,10 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

14.2.b) Fremgangsmåte i J. Med. Chem., 1998, 41, 579, fremgangsmåte A

- (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (**Ia**) fremstilles i henhold til eksempel 14.2.a fra 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (10 mmol), fremstilt som beskrevet i eksempel 14.1.b., og L-alaninamid hydroklorid (1,37 g, 11 mmol) fulgt av reduksjon med NaBH₃CN(0,50 g, 8 mmol).
- (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (**Ia**), oppnås som hvitt faststoff i 66,5% utbytte. Produktet har HPLC renhet på 88,5 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (**Iia**) på 0,064 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B). (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (**Ia**) omdannes til det korresponderende metansulfonatet (**Ic**) i et 88,9% utbytte ved behandling med metansulfonsyre i henhold til Eksempel 14.2.a. Produktet har en HPLC renhet på 97,7 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat (**Iic**) på 0,05 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

EKSEMPEL 15

Fremstilling av (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (ralfinamid, Ib) metansulfonat (Id) i henhold til fremgangsmåtene beskrevet i litteraturen

15.1 Fremstilling av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVb)

15.1.a) Fremgangsmåte i Eksempel 1a i US 6,335,354 B2

4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVb**) fremstilles i henhold til Eksempel 14.1.a) fra 2-fluorbenzylklorid (14,3 g, 98 mmol), 4-hydroksybenzaldehyd (15,1 g, 123 mmol), K₂CO₃ (51 g, 369 mmol), NaI (500 mg, 3,3 mmol), etanol, 75 mL.

Blandingen holdes ved reflux i 12 timer. Etter opparbeiding av reaksjonsblandingen blir 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd oppnådd i 75% utbytte som en gul olje.

Produktet har GC renhet på 92,1 (areal %, se Eksempel 16A) og et innhold av 3-(2-fluorbenzyl)4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd på 0,25 vekt% bestemt med G.C. (se Eksempel 16B).

15.1.b) Fremgangsmåte i J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979

4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVb**) fremstilles i henhold til Eksempel 14.1.b fra 2-fluorbenzyloksybenzaldehyd (18,0 g, 123 mmol), 4-hydroksy-benzaldehyd (15,3 g, 125 mmol), NaOH (5,0 g, 12 mmol) og etanol (125 mL).

Blandingen varmes opp i 25 minutter til reflux og holdes ved reflux temperatur under røring i 12 timer.

Etter opparbeiding av reaksjonsblandingen i henhold til Eksempel 14.1.b blir 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd oppnådd som et gult faststoff, i 90,0% utbytte. Produktet har GC renhet på 90,4 (areal %, se Eksempel 16A) og et innhold av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**Vb**) på 0,14 vekt% bestemt med G.C. (se Eksempel 16B).

15.2 Fremstilling av (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (Ib**) og dens metansulfonat salt (**Id**)**

15.2.a) Fremgangsmåte i J. Med. Chem, 1998, 41, 579, fremgangsmåte A

(S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (**Ib**) fremstilles ved å følge fremgangsmåten i Eksempel 14.2.a ved anvendelse av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (10 mmol, fremstilt som i Eksempel 15.1a) istedenfor 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd.

(S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid oppnås i 67,3% utbytte som et hvitt faststoff. Produktet har en HPLC renhet på 86,7 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (**Iib**) på 0,22 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

En blanding av (*S*)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (1,50 g, 4,96 mmol) og propan-2-ol (10,5 mL) varmes opp til 50°C og holdes ved denne temperaturen til en klar løsning oppnås. Metansulfonsyre (0,48 g, 5,01 mmol) tilsettes under røring i løpet av 15 minutter.

5

Den heterogene blandingen blir deretter avkjølt under røring til 20°C i løpet av 2 timer. Etter 1 time ved 20°C blir det faste stoffet oppnådd ved filtrering, tørket ved redusert trykk som gir (*S*)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat som hvitt faststoff i 89,1% utbytte. Produktet har en HPLC renhet på 96,9 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av (*S*)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat (**IId**) på 0,14 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

10

15.2.b) Fremgangsmåte i J.Med. Chem. 1998, 41, 579, Fremgangsmåte A

15

(*S*)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (**Ib**) fremstilles i henhold til Eksempel 14.2.b ved anvendelse av 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (10 mmol, fremstilt i henhold til Eksempel 15.1.b) istedenfor 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd.

20

(*S*)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid oppnås som et hvitt faststoff i 58,8% utbytte. Produktet har en HPLC renhet på 83,8 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av (*S*)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (**Iib**) på 0,15 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

25

(*S*)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (**Ib**) omdannes til det korresponderende metansulfonatet (**Id**) i et 89,4% utbytte som et hvitt faststoff. Produktet har en HPLC renhet på 95,2 (areal %, se Eksempel 17A) og et innhold av (*S*)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat på 0,11 vekt% bestemt med HPLC (se Eksempel 17B).

30

EKSEMPEL 16A

GC bestemmelse av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd og 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd renhet.

35

Testfremstilling

Løs opp cirka 100 mg av prøven i 10 ml metylenklorid.

Kromatografiske betingelser

Den kromatografiske fremgangsmåten utføres ved anvendelse av:

- en damputfelt silica kapillær kolonne 60 m lang og 0,2 mm indre diameter.
RTX 35 (35% difenyl-65% dimetyl polysiloksan) Film tykkelse= 0,25 µm;
- 5 - helium som bærer gass ved et trykk på 150 kPa;
- en splitt strøm på 25 ml/min;
- injektor temp. 290°C;
- detektor (FID) temp. 290°C;

med følgende temperatur program:

10

Tid (min)	Temperatur (°C)	Hastighet (°C/min)	Kommentar
0-5	150	-	Isoterm
5-11	150→240	15	Lineær gradient
11-19	240	-	Isoterm
19-20,7	240→290	30	Lineær gradient
20,7-40	290	-	Isoterm

Fremgangsmåte

Injiser 1 µl av testpreparatet. Avles kromatogrammet og beregn produktrenhet ved areal prosent beregning.

15

Urenhet identifikasjon

4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVa**):

Retensjonstider:

- 20 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd retensjonstid er cirka 17.
 4-hydroksybenzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 0,52.
 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 0,98.
 4-(4-fluorbenzyloksy)benzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 1,01.
 4-benzyloksybenzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 1,02.
 25 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 1,78.

4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVb**):

Retensjonstider:

- 30 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd retensjonstid er cirka 17.

4-hydroksybenzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 0,53.

4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 1,02.

4-(4-fluorbenzyloksy)benzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 1,03.

4-benzyloksybenzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 1,04.

5 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 1,81.

EKSEMPEL 16B

GC bestemmelse av innholdet av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzaldehyd (Vb) i 4-(2-fluorbenzyloksy) benzaldehyd (IVb) og 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (Va) i 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (IVa)

Den kjente relaterte substansen i forbindelse med 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd er 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehydet og for 4-(3-fluorbenzyloksy)-benzaldehydet er 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet. Bestemmelsen utføres i henhold til følgende betingelser:

Indre standard løsning

Fremstill en 3,4,5-trimetoksybenzaldehyd løsning med konsentrasjon 1,5 mg/ml i metylenklorid (IS).

20

Referanseløsning for 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd bestemmelsen i 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehydet:

Vei inn nøyaktig cirka 20 mg av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd referansestandard og 20 mg 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd referansestandard i en 20 mL volumetrisk kolbe, løs opp og fortynn til volum med fortynningsmiddel; overfør 500 µL av denne løsningen til en 5 mL volumetrisk kolbe, tilsett 500 µL av IS løsning og fortynn til volum med fortynningsmiddel som gir en løsning som inneholder 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd og 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd ved cirka 100 µg/mL (som korresponderer til cirka 0,10%).

30

Referanseløsning for 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd bestemmelse i 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet:

Innvei nøyaktig cirka 20 mg 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd referansestandard og 20 mg 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd referansestandard i en 20 mL volumetrisk kolbe, løs opp og fortynn til volum med fortynningsmiddel; overfør 500 µL av denne løsningen til en 5 mL volumetrisk kolbe, tilsett 500 µL IS

35

løsning og fortynn til volum med fortynningsmiddel som gir en løsning som inneholder 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd og 4-(3-fluorbenzyloksy)-benzaldehyd ved cirka 100 µg/mL (som korresponderer til cirka 0,10%).

5 Testløsning:

Innvei nøyaktig cirka 500 mg av testprodukt i en 5 mL volumetrisk kolbe, tilsett 500 µL IS løsning, løs opp og fortynn til volum med fortynningsmiddel som gir en løsning som har kjent konsentrasjon på cirka 100 mg/mL.

10 Kromatografiske betingelser:

Den kromatografiske fremgangsmåten utføres ved anvendelse av:

- Kolonne: en damputfelt silica kapillær kolonne RTX 35 (35% difenyl-65% dimetyl polysiloksan) 60 m lang, 0,32 mm I.D., filmtykkelse 0,25 µm;
- Bærer (helium) ved trykk på 150 kPa;
- 15 - Splitt strøm 25 mL/min;
- Injektor temp. 290°C;
- Detektor (FID) temp. 290°C;
- Temperatur program: 0-5 min isoterm ved 150°C, 5-11 min lineær fra 150°C til 240°C ved en hastighet på 15°C/min, 11-19 min isoterm ved 240°C, 19-21 min
- 20 lineær fra 240°C til 290°C ved en hastighet på 30°C/min, 21-40 min isoterm ved 290°C;
- Fortynningsmiddel: metylenklorid
- Injeksjonsvolum 1 µL.

25 Fremgangsmåte:

Injiser blindprøve (fortynningsmiddel), referanseløsning, testløsning og avles kromatogrammene.

I referansekromatogrammet verifiser at:

- 30 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd retensjonstid er cirka 18 min;
- 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 1.7 eller
- 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd retensjonstid er cirka 18 min;
- 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd relativ retensjonstid er cirka 1.7
- 35 3,4,5-trimetoksybenzaldehyd (IS) relativ retensjonstid er cirka 0.7

Beregn prosentinnhold av 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd i 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehydet som undersøkes eller til 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet i 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet undersøkt ved indre standard beregning.

5

Verdien for kvantifiseringsgrensen (LOQ) for 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd og til 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd er 0,005 vekt%. Verdien til deteksjonsgrensen (LOD) for begge vurderte urenheter er 0,0025 vekt%.

10

EKSEMPEL 17A

HPLC bestemmelse av renhet av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]-propanamid (safinamid, Ia), dens metansulfonat (Ic), (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (ralfinamid, Ib) og dens metansulfonat (Id).

15

Følgende kromatografisk fremgangsmåte er egnet for både den frie formen (**Ia, Ib**) og metansulfonat saltet (**Ic, Id**) til produktene.

Fortynningsmiddel

20 Mobilfase.

Testløsning

Vei inn nøyaktig cirka 25 mg produkt i en 25 ml volumetrisk kolbe, løs opp i og fortynn til volum med fortynningsmiddel for å gi en løsning som har kjent konsentrasjon på cirka 1,0 mg/ml.

25

Kromatografisk betingelse

Den kromatografiske fremgangsmåten ble utført ved anvendelse av:

- Kolonne: Waters Symmetry C8, 150x4,6 mm, 5 μ ;
- 30 - Deteksjon: UV 220 nm;
- Kolonne temperatur: 30°C
- mobilfase: 40% løsemiddel A + 10% løsemiddel B + 50% løsemiddel C, som inneholder 1,0 g/l natrium oktansulfonat;
- løsemiddel A: buffer løsning = KH₂PO₄ 0,05M;
- 35 løsemiddel B: acetonitril;
- løsemiddel C: metanol;
- isokratisk eluering, kjøretid: 60 minutter;

50

- strømningshastighet: 1,0 ml/min;
- injeksjonsvolum: 10 µl.

Fremgangsmåte

- 5 Injiser testløsningen, avles kromatogrammet og beregn produktrenhet ved areal prosent beregning.

(S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (safinamid) og identifikasjon av relaterte urenheter

10

Retensjonstid:

(S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid retensjonstid er cirka 5,5 min.

(S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propionsyre relativ retensjonstid er cirka 0,73.

- 15 (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid relativ retensjonstid er cirka 4,08.

(S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (ralfinamid) og identifisering av relatert urenheter

20

Retensjonstid:

(S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid retensjonstid er cirka 5,5 min.

(S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propionsyre relativ retensjonstid er cirka 0,73.

- 25 (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid relativ retensjonstid er cirka 4,08.

EKSEMPEL 17B

HPLC bestemmelse av (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)

- 30 **benzylamino]propanamid (fri base, IIb og metansulfonat, IIId) i (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (fri base, Ib og metansulfonat, Id) og av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (fri base, IIa og metansulfonat, IIc) i (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (fri base, Ia og metansulfonat, Ic)**

35

Bestemmelse av (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]-propanamidet (fri base og metansulfonat) i (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]-

propanamid (fri base og metansulfonat) prøver og av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (fri base og metansulfonat) i (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (fri base og metansulfonat) prøver utføres i henhold til følgende betingelser:

5

Referanseløsning for (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]-propanamid bestemmelsen i (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamidet:

Vei inn nøyaktig cirka 30 mg (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat referansestandard og 20 mg (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid referansestandard i en 50 mL volumetrisk kolbe, løs opp og fortynn til volum med fortynningsmiddel; fortynn 1,0 mL av denne løsningen til 20 mL med fortynningsmiddel (1. fortynning); fortynn 1,0 mL av den siste løsningen til 20 mL med fortynningsmiddel (2. fortynning) som gir en løsning som inneholder 2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (cirka 0,12%) ved cirka 1,20 µg/mL og (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat ved cirka 1,00 µg/mL (cirka 0,10%).

Referanseløsning for (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]-propanamid metansulfonat bestemmelsen i (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonatet:

Vei nøyaktig inn cirka 30 mg (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat referansestandard og 20 mg (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat referansestandard i en 50 mL volumetrisk kolbe, løs opp og fortynn til volum med fortynningsmiddel; fortynn 1,0 mL av denne løsningen til 20 mL med fortynningsmiddel (1. fortynning); fortynn 1,0 mL av den siste løsningen til 20 mL med fortynningsmiddel (2. fortynning) for å gi en løsning som inneholder 2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (cirka 0,15% som metansulfonsyre salt) ved cirka 1,20 µg/mL og (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat ved cirka 1,00 µg/mL (cirka 0,10%).

Referanseløsning for (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]-propanamid i (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamidet:

Vei inn nøyaktig cirka 24 mg av (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid referansestandard og 20 mg (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid referansestandard i en 50 mL volumetrisk kolbe, løs opp og fortynn til volum med fortynningsmiddel; fortynn 1,0 mL av denne løsningen til 20 mL

med fortynningsmiddel (1. fortynning); fortynn 1,0 mL av den siste løsningen til 20 mL med fortynningsmiddel (2. fortynning) som gir en løsning som inneholder 2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (cirka 0,12%) ved cirka 1,20 µg/mL og (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino] propanamid metansulfonat
 5 ved cirka 1,00 µg/mL (cirka 0,10%).

Referanseløsning for (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]-propanamid metansulfonatet i (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonatet:

10 Vei inn nøyaktig cirka 24 mg (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid referansestandard og 20 mg (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid metansulfonat referansestandard i en 50 mL volumetrisk kolbe, løs opp og fortynn til volum med fortynningsmiddel; fortynn 1,0 mL av denne løsningen til 20 mL med fortynningsmiddel (1. fortynning); fortynn 1,0 mL av den siste
 15 løsningen til 20 mL med fortynningsmiddel (2. fortynning) som gir en løsning som inneholder 2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (cirka 0,15% as metansulfonsyre salt) ved cirka 1,20 µg/mL og (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat ved cirka 1,00 µg/mL (cirka 0,10%).

20

Testløsning:

Vei inn nøyaktig cirka 25 mg av testproduktet i en 25 mL volumetrisk kolbe, løs opp og fortynn til volum med fortynningsmiddel som gir en løsning som har kjent konsentrasjon på cirka 1,0 mg/mL.

25

Kromatografiske betingelser:

Den kromatografiske fremgangsmåten utføres ved anvendelse av:

- Kolonne: Waters Symmetry C8 150 x 4,6 mm, 5µ, eller ekvivalent
- Kolonnetemperatur: 30°C
- 30 - Mobilfase: blanding av 40% løsemiddel A: 10% løsemiddel B: 50% løsemiddel C, som inneholder 1 g/l natrium oktansulfonat
 løsemiddel A: buffer løsning 0,05M KH₂PO₄;
 løsemiddel B: acetonitril;
 løsemiddel C: metanol;
- 35 - isokratisk eluering;
- kjøretid: 60 min;
- strømningshastighet: 1,0 mL/min;

- deteksjon: UV 220 nm;
- injeksjonsvolum: 100 µl;
- fortynningsmiddel: mobilfase.

5 Fremgangsmåte:

Injiser blindprøve (fortynningsmiddel), referanseløsning, testløsning og avles kromatogrammene.

I referansekromatogrammet verifiser følgende system egnethets parametere:

10 (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid retensjonstid er cirka 5,2 minutter;

USP kjennemerke for (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid toppen er i området mellom 0,8 og 1,5;

(S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid relativ
15 retensjonstid er cirka 5,1.

eller

(S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid retensjonstid er cirka 5,5 minutter;

USP kjennemerke for (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid toppen er i
20 området mellom 0,8 og 1,5;

(S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid relativ retensjonstid er cirka 4,1.

Juster mobilfasen for å oppnå system egnethet.

25

Beregn prosent innholdet (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (fri base og metansulfonat) i det undersøkte (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamidet (fri base og metansulfonat) prøvene og til (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (fri base og metansulfonat)
30 i det undersøkte (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (fri base og metansulfonat) prøvene ved ekstern standard beregning.

Verdien til kvantifiseringsgrensen (LOQ) for (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid og for (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid i det korresponderende (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamidet og (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamidet er 0,004 vekt%.

35

Verdien for kvantifiseringsgrensen (LOQ) for (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonatet og for (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonatet i det korresponderende (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonatet og (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonatet er 0,005% basert på vekt. Verdien til deteksjonsgrensen for alle de vurderte urenheterne er 0,001 vekt%.

10 EKSEMPEL 18

HPLC bestemmelse av (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (ralfinamid) metansulfonat (Id) enantiomerisk renhet

Den enantiomeriske renhet til prøven evalueres med HPLC. Bestemmelsen utføres i henhold til følgende:

Standard løsning 1:

Løs opp cirka 5,3 mg (R)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat referansestandard i 25 mL mobilfase.

Standard løsning 2:

Løs opp cirka 8,0 mg (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat referansestandard og 0,2 mL standard løsning 1 i 50 mL mobilfase.

Konsentrasjonen av (R)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonatet er cirka 0,5% beregnet med hensyn til konsentrasjonen av (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonatet.

Testløsninger 1 og 2:

I duplikat, løs opp cirka 8,0 mg av testproduktet i 50 mL av mobilfasen.

Kromatografiske betingelser:

- Kolonne: Chiralpak WH 250mm x 4,6mm, I.D. 5µm;
- kolonne temperatur: 45°C;
- mobilfase: 0,25 mM CuSO₄ (nøyaktig vekt cirka 40 mg CuSO₄ i 1000 mL vann)/MeOH 60/40;
- isokratisk eluering;

- strømningshastighet: 1,0 mL/min;
- deteksjon: UV 230 nm;
- injeksjonsvolum: 10 µl;
- kjøretid: 15 minutter.

5

Fremgangsmåte:

Analyser blindprøve (mobilfase) en gang, standard løsning 2 ganger, testløsninger 1 og 2 en gang og verifiser at:

- for standard injeksjonene er RSD% for (R)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino] propanamid metansulfonat til stede mindre enn 2,0%;
- både for standard og prøveløsninger er for hver injeksjon hovedtopp prosent arealet mellom gjennomsnittsverdien $\pm 0,1\%$.

- 15 Beregn (R)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid metansulfonat innholdet (prosent areal) som middelverdi av de to bestemmelsene.

Retensjonstider:

- (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid retensjonstid er cirka 5,7 min.
- 20 (R)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid relativ retensjonstid er cirka 1,7.

EKSEMPEL 19

HPLC bestemmelse av (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (safinamid) metansulfonat (Ic) enantiomerisk renhet

25

Den enantiomeriske renheten av prøven evalueres med HPLC. Bestemmelsen finner sted i henhold til følgende betingelser:

Test løsning:

- 30 Løs opp cirka 10 mg av testprøve i 10 mL mobilfase.

Kromatografiske betingelser:

- Kolonne: Chiralpak WH 250mm x 4,6mm, I.D. 10µm;
- kolonne temperatur: 50°C;
- 35 - mobilfase: 0,25 mM CuSO₄;
- isokratisk eluering;
- strømningshastighet: 1,0 mL/min;

- deteksjon: UV 200 nm;
- injeksjonsvolum: 10 µl;
- kjøretid: 30 minutter.

5 Fremgangsmåte:

Injiser testløsningen og beregn enantiomer topp responsene som areal prosent.
 (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid retensjonsstid er cirka 9,2 min.
 (R)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid relativ retensjonsstid er cirka 1,9 min.

10

EKSEMPEL 20

Cytokrom P450 undersøkelse

Inhibering av de fem viktigste Cytokrom P450 isoformene (CYP1A2, CYP2C9,
 15 CYP2C19, CYP2D6 og CYP3A4), involvert i legemiddel metabolisme, ble målt ved
 anvendelse av spesifikke substrater som blir fluorescerende etter CYP metabolisme
 (Gentest Kit undersøkelse).

Forbindelser ble testet i en 96-brønns plate som inneholder inkuberings/NADPH
 20 regenereringsbuffer. Spesifikke humane rekombinante isoenzymer og substrater ble
 tilsatt og inkubert ved 37°C i 15 minutter for CYP1A2/CEC, 40 minutter for
 CYP2E1/MFC, 45 minutter for CYP2C9/MFC og 30 minutter for de andre CYP450.

De spesifikke substratene var følgende: 3-cyano-7-etoksycoumarin (CYP2C19 og
 25 CYP1A2), 7-metoksy-4-trifluormetylcoumarin (CYP2C9), 3[2(N,N-dietyl-N-
 metylamino)etyl]-7-metoksy-4-metylcoumarin (CYP2D6), benzylfenylcoumarin
 (CYP3A4).

Platene ble avlest på en Victor plateavleser (Perkin Elmer) ved passende
 30 emisjon/eksitasjon bølgelengder, og IC₅₀ (konsentrasjon inhibering ved 50% enzym
 aktivitet) bestemt. Resultatene er rapportert i Tabell 1 og 2.

35

EKSEMPEL 21**Cytotoksisitetsundersøkelse i human neuroblastom cellelinje SH-SY-5Y**

Ved tid null ble cellene sådd ved $1,10^4/\text{cm}^2$ i 96-brønns plater i DMEM vekstmedium +
5 10% varme inaktivert FBS + 2 mM l-glutamin + 100 U/mL – 100 µg/mL
penicillin/streptomycin.

Etter 72 timer ved underkonfluent vekstfase blir mediet fjernet og cellene inkubert i 24
timer ved 37°C i 180 µl neurobasal medium + 2 mM l-glutamin (Life Technologies)
10 med eller uten testforbindelser (20 µl, minst 5 konsentrasjoner i triplikat).

Ved slutten av inkuberingen blir 20 µl Alamar Blue fargestoff (AlamarBlue™ Assay
Kit, Promega) direkte tilsatt til cellemediet.

15 Fire timer senere blir cytotoksisiteten bestemt ved å måle fluorescensen ved 530 nm
eksitasjon og 595 nm emisjon ved anvendelse av Tecan Spectrafluor plateavleser.

Før og ved slutten av behandlingen blir kulturene overvåket mikroskopisk med et
Olympus IX70 invertert lys mikroskop tilpasset en Image Analyzer (Image Pro Plus,
20 5,1) for å evaluere den cellulære morfologien.

Resultatene er angitt i Tabell 1 som konsentrasjon som induserer 50% dødelighet.

EKSEMPEL 22**HERG strøm i transfekterte CHO cellelinjer**

Inhiberingen av HERG strøm ble testet i CHO celler som stabilt uttrykker rekombinant
HERG kanal.

30 For å evaluere effekten av testforbindelsene på HERG strømmen ble cellene satt
klemmer på ved -80 mV, depolarisert til 0 mV i 5 sekunder som muliggjør aktivering av
HERG strøm og repolariseres til -50 mV i løpet av 5 sekunder som muliggjør HERG
halestrøm og deaktivere. Denne fremgangsmåten gjentas ved en frekvens på 0,06 Hz.
Strøm amplituden etter repolarisering (HERG halestrøm) måles før og etter eksponering
35 for testforbindelsen.

Inhibering av strøm beregnes som forskjell mellom amplituden til HERG halestrøm amplitude målt ved slutten av ekstern bad perfusjon periode og HERG halestrøm målt ved slutten av testforbindelse perfusjon periode (når likevekt effekt nås) delt med kontroll HERG halestrøm.

5

Legemiddel konsentrasjon-inhibering kurver oppnås ved å plotte toniske blokkeringer versus legemiddel konsentrasjoner. Dose-respons kurver tilpasses de toniske blokkeringsdata, i henhold til den logistiske ligningen: $y = A2 + (A1 - A2) / [1 + (x/IC_{50})^p]$. A1 og A2 er fikserte verdier på 0 og 1 som korresponderer til 0 og 100% strøm inhibering, x er legemiddel konsentrasjon, IC_{50} er legemiddel konsentrasjonen som resulterer i 50% strøm inhibering og p er den korresponderende helningsfaktoren. Resultatene er rapportert i Tabell 1.

10

EKSEMPEL 23

15

Maksimal elektrosjokk test (MES) på mus

Maksimal elektrosjokk testen (MES) anvendes ofte ved screening av anti-epileptiske legemidler i gnager modeller.

20

Dyr og apparatur: Hannkjønn CD1 mus som veier 25 g ble anvendt. Fremgangsmåten beskrevet av White *et al.* (White H.S., Woodhead J.H., Franklin M.R., Swinyard E.A. og Wolf H.H. Antiepileptic Drugs (1995) 4. utg.: 99-110, Raven Press, Ltd., New York) ble fulgt. En Ugo Basile elektrokonvulsiv generator (Model ECT UNIT 7801) ble anvendt for å levere en elektrisk stimulus tilstrekkelig til å gi en baklem tonisk ekstensor respons hos minst 97% av kontrolldyr. Stimulusen ble levert intra-auralt gjennom klemme elektroder på mus (0,7 sekunder av et 40 mA sjokk, med en puls tog på 80 Hz som har en puls varighet på 0,4 ms). Den akutte effekten til forbindelsene administrert intraperitonealt eller oralt 15-60 minutter før MES induksjon ble undersøkt og sammenlignet med en vehikkel kontrollgruppe. Ti mus ble studert per gruppe.

25

30

Fullstendig suppresjon av baklem tonisk ekstensor komponent av anfall ble tatt som tegn på antikonvulsant aktivitet.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen ble administrert oralt eller intraperitonealt ved doser på 3–30 mg/kg.

35

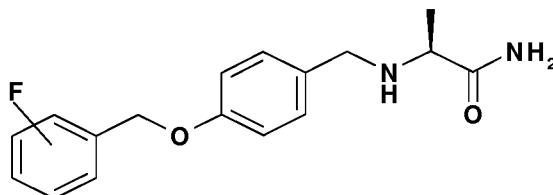
Resultatene er uttrykt i Tabell 3 og 4 som % beskyttelse.

P a t e n t k r a v

1.

Fremgangsmåte for fremstilling av høy renhetsgrad

- 5 (S)-2-[4-(3-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (safinamid) og
 (S)-2-[4-(2-fluorbenzyloksy)benzylamino]propanamid (ralfinamid)
 med formel (Ia) og (Ib)

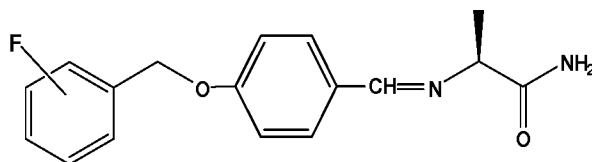
**safinamid (Ia): 3-F****ralfinamid (Ib): 2-F**

10

og deres salter med en farmasøytisk akseptabel syre,

k a r a k t e r i s e r t v e d at et Schiff base intermediat med
 henholdsvis formel (VIa) eller (VIb)

15

**(VIa): 3-F****(VIb): 2-F**

- 20 underkastes katalytisk hydrogenering med hydrogengass i nærvær av en heterogen
 katalysator i et protisk organisk løsemiddel og, når safinamid eller ralfinamid oppnås i
 fri baseform, og når et salt derav med en farmasøytisk akseptabel syre er ønskelig,
 omdannes nevnte fri baseform til et salt derav med en farmasøytisk akseptabel syre.

25 2.

Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at
 katalytisk hydrogenering utføres ved anvendelse av en heterogen katalysator valgt fra
 nikkel, rodium, platina og palladium katalysatorer på et inert støttemateriale i nærvær av
 et løsemiddel valgt fra lavere alifatiske (C₁-C₅)alkanoler.

30

3.

Fremgangsmåte ifølge krav 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at løsemidlet er valgt fra metanol, etanol og isopropanol.

5 4.

Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at katalysatoren er en palladium eller platina katalysator.

5.

10 Fremgangsmåte ifølge krav 4, k a r a k t e r i s e r t v e d at katalysatoren er en platina katalysator.

6.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5,

15 k a r a k t e r i s e r t v e d at katalysatoren er våt 5% Pt/C (50% H₂O) eller våt 10% Pd/C (50% H₂O).

7.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6,

20 k a r a k t e r i s e r t v e d at den farmasøytisk akseptable syren er metansulfonsyre.

8.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7,

25 k a r a k t e r i s e r t v e d at hydrogentrykket er mellom 1 og 10 bar og temperaturen er mellom 10°C og 70°C.

9.

Fremgangsmåte ifølge krav 8, k a r a k t e r i s e r t v e d at

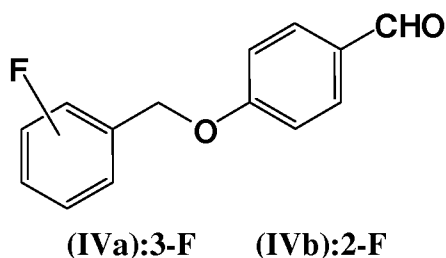
30 hydrogentrykket er mellom 3 og 6 bar og temperaturen er mellom 25°C og 40°C.

10.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9,

35 k a r a k t e r i s e r t v e d at den katalytiske hydrogeneringen utføres på et Schiff base intermediat (**VIa**) eller (**VIb**) som har blitt fremstilt gjennom iminoalkylering av 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVa**) eller 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (**IVb**)

61



5 med L-alaninamid i nærvær av et protisk organisk løsemiddel.

11.

Fremgangsmåte ifølge krav 10, k a r a k t e r i s e r t v e d a t L-alaninamidet anvendes som et syreaddisjonssalt derav i nærvær av en base i en
10 mengde tilstrekkelig til å sette fri L-alaninamid fra dets salt.

12.

Fremgangsmåte ifølge krav 10, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den katalytiske hydrogeneringen av Schiff base intermediet utføres på samme
15 reaksjonsblanding som kommer som resultat av den fullførte iminoalkyleringsreaksjonen under betingelser som fremmer presipitasjonen av nevnte Schiff base intermediat som gir en suspensjon av nevnte intermediat i det samme reaksjonsløsemidlet.

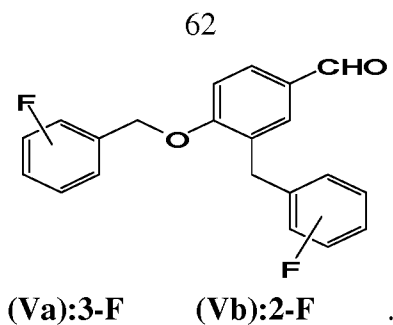
20 13.

Fremgangsmåte ifølge krav 10, k a r a k t e r i s e r t v e d a t Schiff base intermediet som kommer som resultat av den fullførte iminoalkyleringsreaksjonen, isoleres før det katalytiske hydrogeneringstrinnet gjennomføres.

25

14.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 13, k a r a k t e r i s e r t v e d a t 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet eller 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehydet med formel (IVa) eller (IVb) anvendt som
30 utgangsmaterialet for å oppnå Schiff base intermediet med formel (VIa) eller (VIb) inneholder mindre enn 0,03% (basert på vekt) av de respektive urenheterne 3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (Va) og 3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehyd (Vb)

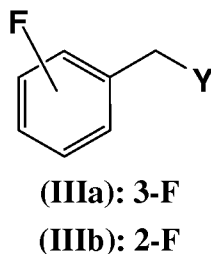


15.

- 5 Fremgangsmåte ifølge krav 14, k a r a k t e r i s e r t v e d at 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet (**IVa**) eller 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehydet (**IVb**) inneholder 0,01% eller mindre (basert på vekt) av de respektive urenheterne (**Va**) og (**Vb**).

10 16.

- Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 14 og 15, k a r a k t e r i s e r t v e d at 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet (**IVa**) eller 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehydet (**IVb**) oppnås ved alkylering av 4-hydroksybenzaldehyd med, henholdsvis et 3-fluorbenzyl eller 2-fluorbenzyl derivat
- 15 (**IIIa**) eller (**IIIb**)



- 20 hvor Y er en utgående gruppe som inkluderer Cl, Br, I, OSO₂CH₃ og OSO₂-C₆H₄-pCH₃, i nærvær av en base og underkastes krystallisering før anvendelsen i det påfølgende reaksjonstrinnet.

17.

- 25 Fremgangsmåte ifølge krav 16, k a r a k t e r i s e r t v e d at Y er Cl.

18.

- Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 16 og 17,
- 30 k a r a k t e r i s e r t v e d at krystalliseringen utføres ved tilsetning av et inert organisk ikke-løsemiddel til en løsning av

4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet (**IVa**) eller 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehydet (**IVb**) i et inert organisk løsemiddel.

19.

- 5 Fremgangsmåte ifølge krav 18, k a r a k t e r i s e r t v e d at det inerte organiske ikke-løsemiddel er n-heksan og det inerte organiske løsemiddel er toluen.

20.

- 10 Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 16 og 17, k a r a k t e r i s e r t v e d at krystalliseringen utføres ved å løse opp 4-(3-fluorbenzyloksy)benzaldehydet (**IVa**) eller 4-(2-fluorbenzyloksy)benzaldehydet (**IVb**) i et varmt løsemiddel som er sykloheksan eller en di(C3-C4)alkyleter, og deretter avkjøle løsningen ved romtemperatur.

15

21.

Fremgangsmåte ifølge krav 20, k a r a k t e r i s e r t v e d at det varme løsemiddel er diisopropyleter ved reflux og løsningen avkjøles deretter ved 10-15°C.

20

22.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 16 til 21, k a r a k t e r i s e r t v e d at alkyleringsreaksjonen utføres under faseoverføringsbetingelser.

25

23.

- Fremgangsmåte ifølge krav 22, k a r a k t e r i s e r t v e d at alkyleringen under faseoverføringsbetingelser utføres i et faststoff/væske system hvori reagensene og faseoverføringskatalysatoren løses opp i en flytende organisk fase og den 30 faste fasen utgjøres av en uorganisk base eller et salt av 4-hydroksybenzaldehyd med nevnte uorganiske base.

24.

- Fremgangsmåte ifølge krav 22, k a r a k t e r i s e r t v e d at 35 alkyleringen under faseoverføringsbetingelser utføres i et væske/væske system hvori alkyleringsreagenset 3-fluorbenzyl- eller 2-fluorbenzylderivat med formel (**IIIa**) eller

(IIIb) er oppløst i en flytende organisk fase og 4-hydroksybenzaldehydet er oppløst i en vandig fase som et salt med en uorganisk base.

25.

- 5 Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 22 til 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at faseoverføringskatalysatoren er valgt fra kvarternære ammonium eller fosfonium salter eller polyetylenglykoler med lav molekylvekt.

10 26.

Fremgangsmåte ifølge krav 25, k a r a k t e r i s e r t v e d at mengden av faseoverføringskatalysator anvendt er mellom 0,02 og 1 mol per mol 4-hydroksybenzaldehyd.

15 27.

Fremgangsmåte ifølge krav 26, k a r a k t e r i s e r t v e d at mengden av faseoverføringskatalysator er 0,1 til 1 mol per mol 4-hydroksybenzaldehyd.

20 28.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 27, k a r a k t e r i s e r t v e d at det organiske løsemidlet til den flytende organiske fasen er valgt fra dialkyletere og aromatiske hydrokarboner.

25 29.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 28, k a r a k t e r i s e r t v e d at det molare forholdet mellom alkyleringsreagenset med formel (IIIa) eller (IIIb) og 4-hydroksybenzaldehyd er mellom 0,6 og 1,5.

30

30.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 29, k a r a k t e r i s e r t v e d at temperaturen er mellom 60°C og 160°C.

35

31.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 23 til 30,

65

k a r a k t e r i s e r t v e d at den uorganiske basen er valgt fra Na_2CO_3 , K_2CO_3 , NaOH og KOH , temperaturen er mellom 80°C og 120°C og forholdet mellom alkyliseringsreagenset med formel (IIIa) eller (IIIb) og 4-hydroksybenzaldehyd er mellom 0,9 og 1,1.

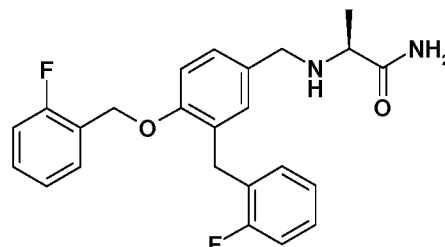
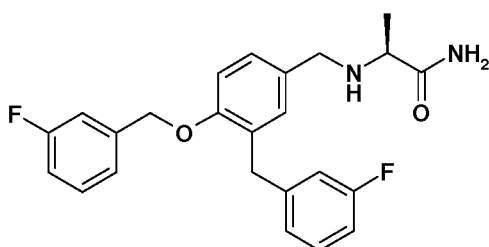
5

32.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 31,

k a r a k t e r i s e r t v e d at safinamid eller ralfinamid eller deres salter med en farmasøytisk akseptabel syre har et innhold av den respektive urenheten (S)-2-[3-(3-fluorbenzyl)-4-(3-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (IIa) eller (S)-2-[3-(2-fluorbenzyl)-4-(2-fluorbenzyloksy)-benzylamino]propanamid (IIb)

10



15

(IIa)

(IIb)

eller deres salter med en farmasøytisk akseptabel syre lavere enn 0,03% (basert på vekt).

20 33.

Fremgangsmåte ifølge krav 32, k a r a k t e r i s e r t v e d at innholdet av de respektive urenhetene (IIa) og (IIb) er lavere enn 0,01% (basert på vekt).

25 34.

Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 32 og 33,

k a r a k t e r i s e r t v e d at den farmasøytisk akseptable syren er metansulfonsyre og innholdet av den respektive urenheten med formel (IIa) eller (IIb) som saltet med metansulfonsyre er lavere enn 0,01% (basert på vekt).

30

35.

Isolert Schiff base, k a r a k t e r i s e r t v e d formel **(VIa)**
eller **(VIb)**

