



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101472880 B

(45) 授权公告日 2013. 04. 24

(21) 申请号 200780022879. 8

A61K 31/165 (2006. 01)

(22) 申请日 2007. 06. 08

A61P 25/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 25/08 (2006. 01)

06012565. 5 2006. 06. 19 EP

A61P 25/16 (2006. 01)

A61P 25/28 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2008. 12. 19

CN 1047496 A, 1990. 12. 05,

(86) PCT申请的申请数据

WO 2005102300 A1, 2005. 11. 03,

PCT/EP2007/005105 2007. 06. 08

CN 1047496 A, 1990. 12. 05,

(87) PCT申请的公布数据

US 2004/0213842 A1, 2004. 10. 28,

W02007/147491 EN 2007. 12. 27

EP 1655029 A1, 2006. 05. 10,

(73) 专利权人 纽朗制药有限公司

审查员 李姮

地址 意大利米兰

(72) 发明人 E·巴尔班蒂 C·卡西亚

P·萨尔瓦蒂 F·维拉蒂

T·卢菲利 L·伯格纳

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 王健

(51) Int. Cl.

C07C 231/10 (2006. 01)

C07C 233/13 (2006. 01)

权利要求书4页 说明书34页

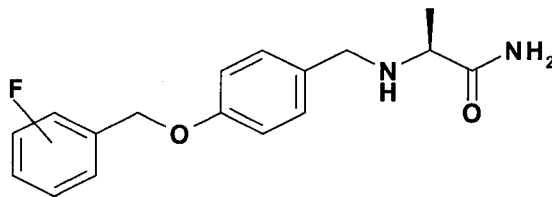
(54) 发明名称

生产 2-[4-(3- 和 2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺类的方法

(57) 摘要

获得具有高纯度,特别是具有低于0.03%,优选低于0.01%重量的二苄基衍生物杂质含量的治疗活性 2-[4-(3- 和 2-(氟苄氧基) 苄氨基) 丙酰胺类及其与药学上可接受的酸形成的盐的方法。该方法通过在有多相催化剂存在下的质子有机溶剂中使希夫碱中间体 2-[4-(3- 和 2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺类催化加氢来进行。

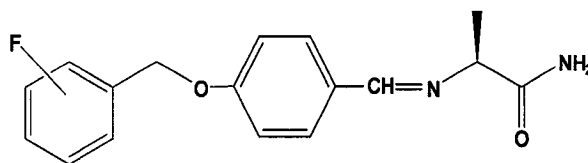
1. 生产式 (Ia) 或 (Ib) 的高纯度 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺或 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺或其与药学上可接受的酸形成的盐的方法,



(S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (Ia) : 3-F

(S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (Ib) : 2-F

其特征在于使相应式 (VI a) 或 (VI b) 的希夫碱中间体



(VIa): 3-F

(VIb): 2-F

在有多相催化剂存在下的质子有机溶剂中与氢气进行催化加氢, 并且当获得游离碱形式的 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺或 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺时, 任选使用药学上可接受的酸将该游离碱形式转化成其盐。

2. 如权利要求 1 中所述的方法, 其中通过使用在惰性载体上的多相催化剂在溶剂存在下进行催化加氢, 所述的多相催化剂选自镍, 铑, 铂和钯催化剂, 所述的溶剂选自低级脂族 (C_1-C_5) 链烷醇类。

3. 如权利要求 2 中所述的方法, 其中, 所述低级脂族 (C_1-C_5) 链烷醇类是甲醇, 乙醇或异丙醇。

4. 如权利要求 1 中所述的方法, 其中所述的催化剂为钯或铂催化剂。

5. 如权利要求 4 中所述的方法, 其中所述的催化剂为铂。

6. 如权利要求 1 中所述的方法, 其中所述的催化剂为湿 5% Pt/C (50% H_2O) 或湿 10% Pd/C (50% H_2O)。

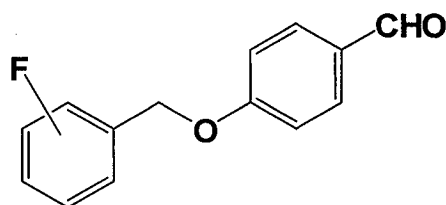
7. 如权利要求 6 中所述的方法, 其中所述的催化剂为湿 5% Pt/C (50% H_2O)。

8. 如权利要求 1 中所述的方法, 其中所述的药学上可接受的酸为甲磺酸。

9. 如权利要求 1 中所述的方法, 其中氢气压力为 1-10 巴且温度为 $10^\circ C - 70^\circ C$ 。

10. 如权利要求 9 中所述的方法, 其中氢气压力为 3-6 巴且温度为 $25^\circ C - 40^\circ C$ 。

11. 如权利要求 1 中所述的方法, 其中在质子有机溶剂的存在下对通过用 L- 丙氨酰胺的 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVa) 或 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVb) 的亚氨基烷基化制备的希夫碱中间体 (VIa) 或 (VIb) 进行催化加氢



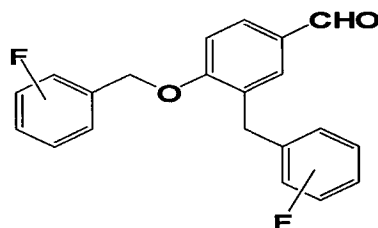
(IVa): 3-F (IVb): 2-F.

12. 如权利要求 11 中所述的方法,其中在足以使 L-丙氨酸从其盐中释放的用量的碱存在下,使用 L-丙氨酸加成盐形式的 L-丙氨酸。

13. 如权利要求 11 中所述的方法,其中对希夫碱中间体的催化加氢在相同的反应混合物上进行,该反应混合物由下述条件下亚氨基烷基化反应完成而产生,所述亚氨基烷基化反应条件是引起所述希夫碱中间体沉淀而得到该中间体在相同反应溶剂中的混悬液。

14. 如权利要求 11 中所述的方法,其中在进行催化加氢步骤前分离由亚氨基烷基化反应完成产生的希夫碱中间体。

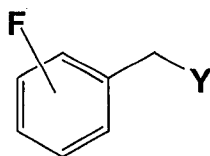
15. 如权利要求 11 中所述的方法,其中用作获得式 (VIa) 或 (VIb) 的希夫碱中间体的原料的式 (IVa) 或 (IVb) 的 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛或 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛包含低于 0.03% (重量) 的相应杂质 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (Va) 或 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苯甲醛 (Vb),



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

16. 如权利要求 15 中所述的方法,其中用作获得式 (VIa) 或 (VIb) 的希夫碱中间体的原料的式 (IVa) 或 (IVb) 的 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛或 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛包含低于 0.01% (重量) 的相应杂质 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (Va) 或 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苯甲醛 (Vb)。

17. 如权利要求 16 中所述的方法,其中通过分别使用 3-氟苄基或 2-氟苄基衍生物 (IIIa) 或 (IIIb) 在碱存在下使 4-羟基苯甲醛烷基化获得 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (IVa) 或 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛 (IVb),



(IIIa): 3-F

(IIIb): 2-F

其中 Y 为离去基,其选自 Cl, Br, I, OSO₂CH₃ 和 OSO₂-C₆H₄-pCH₃,并且在用于连续反应步骤前,对 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (IVa) 或 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛 (IVb) 进行结晶。

18. 如权利要求 17 中所述的方法,其中 Y 为 Cl。

19. 如权利要求 17 和 18 中任一项中所述的方法,其中通过将惰性有机非溶剂加入到 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛(IVa)或 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛(IVb)在惰性有机溶剂中的溶液中进行结晶,其中所述的惰性有机非溶剂选自低级脂族烃类,所述低级脂族烃类选自己烷和庚烷且所述的惰性有机溶剂选自芳族烃类,所述芳族烃类选自苯,甲苯,二甲苯和乙苯。

20. 如权利要求 19 中所述的方法,其中所述的惰性有机非溶剂为正己烷。

21. 如权利要求 19 中所述的方法,其中所述的芳族烃为甲苯。

22. 如权利要求 17 和 18 中任一项中所述的方法,其中通过在回流状态下将 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛(IVa)或 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛(IVb)溶于选自环己烷或二(C3-C4)烷基醚的热溶剂,且然后在室温下冷却该溶液进行结晶。

23. 如权利要求 22 中所述的方法,其中所述热溶剂是二异丙基醚。

24. 如权利要求 22 中所述的方法,其中在 10-15℃下冷却该溶液。

25. 如权利要求 17 中所述的方法,其中所述的烷基化反应在相转移条件下进行。

26. 如权利要求 25 中所述的方法,其中所述在相转移条件下的烷基化在固体/液体系统中进行,其中将试剂和相转移催化剂溶于液体有机相并且用无机碱或 4-羟基苯甲醛与所述无机碱形成的盐构成固相。

27. 如权利要求 25 中所述的方法,其中所述在相转移条件下的烷基化在固体/液体系统中进行,其中将式(IIIa)或(IIIb)的烷基化试剂 3-氟苄基或 2-氟苄基衍生物溶于液体有机相并且将 4-羟基苯甲醛作为与无机碱形成的盐溶于水相。

28. 权利要求 25 中所述的方法,其中所述的相转移催化剂选自季铵或磷鎓盐或低分子量聚乙二醇类。

29. 权利要求 28 的方法,其中所用相转移催化剂的量为 0.02-1 摩尔/摩尔 4-羟基苯甲醛。

30. 如权利要求 29 中所述的方法,其中相转移催化剂的量为 0.1-1 摩尔/摩尔 4-羟基苯甲醛。

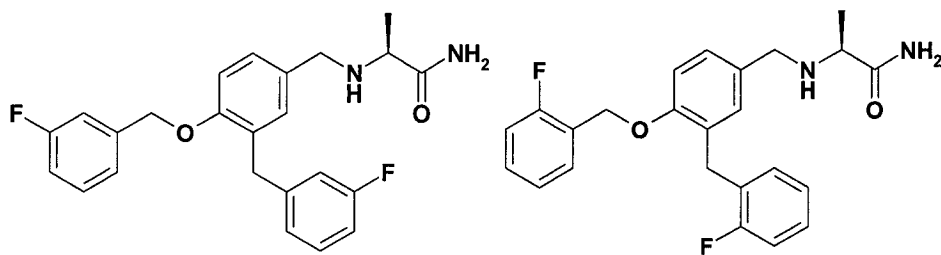
31. 权利要求 26 中所述的方法,其中所述液体有机相的有机溶剂选自二烷基醚类和芳族烃类。

32. 权利要求 26 中所述的方法,其中式(IIIa)或(IIIb)的烷基化试剂与 4-羟基苯甲醛的摩尔比为 0.6-1.5。

33. 权利要求 26 中所述的方法,其中温度为 60℃-160℃。

34. 权利要求 26 中所述的方法,其中所述的无机碱选自 Na_2CO_3 , K_2CO_3 , NaOH 和 KOH , 温度为 80℃-120℃且式(IIIa)或(IIIb)的烷基化试剂与 4-羟基苯甲醛之比为 0.9-1.1。

35. 如权利要求 1-15 中任一项中所述的方法,其中 (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺或 (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺或其与药学上可接受的酸形成的盐具有的相应杂质 (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺(IIa)或 (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺(IIb)



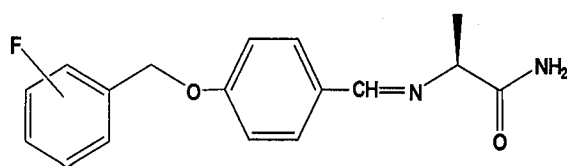
(IIa)

(IIb)

或其与药学上可接受的酸形成的盐的含量低于 0.03% (重量)。

36. 权利要求 35 的方法, 其中药学上可接受的酸为甲磺酸并且作为式 (IIa) 或 (IIb) 与甲磺酸形成的盐的相应杂质含量低于 0.01% (重量)。

37. 分离的式 (VIa) 或 (VIb) 的希夫碱,



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

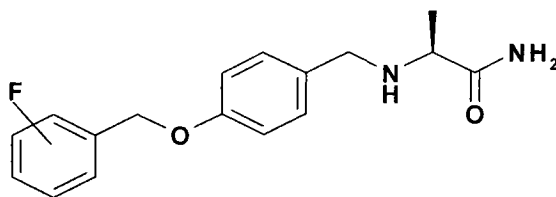
生产 2-[4-(3- 和 2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺类的方法

[0001] 发明背景

[0002] 本发明涉及以高产率和极高对映体和化学纯度生产 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺, 即沙芬酰胺 (safinamide) (Ia) 和 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺, 即 ralfinamide (Ib) 及其盐的新方法。

[0003] 该方法还非常适用于其大量生产。

[0004]



[0005] safinamide (Ia) : 3-F

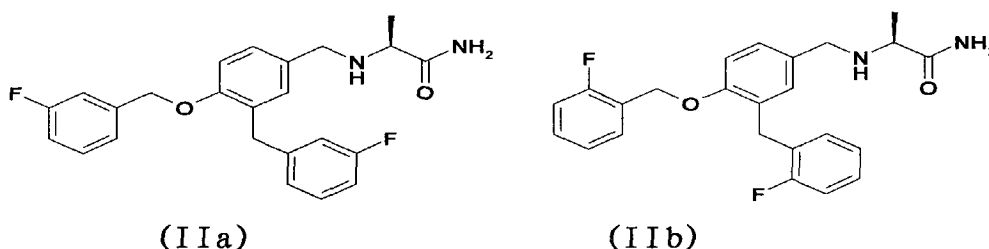
[0006] ralfinamide (Ib) : 2-F

[0007] Safinamide (NW-1015, FCE-26743A, PNU-151774E) 为钠通道阻滞剂, 钙通道调节剂, 单胺氧化酶 B (MAO-B) 抑制剂, 谷氨酸盐释放抑制剂和多巴胺代谢调节剂。

[0008] Safinamide 用于治疗 CNS 病症, 特别是癫痫症, 帕金森病, 阿尔茨海默病, 抑郁症, 多动腿综合征和偏头痛 (WO 90/14334, WO04/089353, WO 05/102300, WO 04/062655)。

[0009] 目前已经发现按照现有技术中所述方法大规模制备 safinamide 和 ralfinamide 包含两种不需要的杂质, 即分别为 (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺 (IIa) 和 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺 (IIb) 及其盐, 特别是相应的甲磺酸盐 (IIc) 和 (IId)

[0010]



[0011] 这一事实因上述命名的两种杂质的极高毒性而具有特定相关性。

[0012] 许多药物候选物因不需要的杂质对人体代谢的无法预料的影响或毒性而在临床试验中失败, 且由此在早期临床前期中消除这类杂质是重要的并且非常需要。

[0013] 在临床前期水平上, 可以使用充分确立的体外一系列试验评价新化合物的“可药性”, 诸如与药物-代谢酶的相互作用, 细胞毒性, 代谢稳定性和分布型, 膜渗透性, 固有清除率和人体乙酰-a-Go-Go- 相关基因 (HERG) 通道阻滞等。

[0014] 细胞色素 P450 (CYP 450) 系统是用于亲脂性异源物质, 包括药物, 致癌物和环境污染物代谢的主要酶系统。CYP 450 为含血红素的膜结合多酶系统, 它存在于许多组织中, 但以最高水平存在于肝中。在人体肝脏中, 据估计有 15-20 种不同的代谢异源物质的 CYP 450 形式。迄今为止, 在哺乳动物种鉴定了超过十四种 CYP 基因家族。尽管存在高度同源

性,但是广泛研究已经揭示出每一 CYP 家族和亚族在异源物质代谢方面均具有不同作用。三种 CYP 家族 CYP1, CYP2 和 CYP3 占人肝微粒体 CYPs 的约 70%,其中 CYP3 约占 30%。这些 CYPs 主要负责大部分市售药物代谢。

[0015] CYP1 家族包含几个成员,包括 CYP1A1, CYP1A2 和 CYP1B1,并且它们涉及对乙酰氨基酚,氯米帕明和丙咪嗪的代谢。

[0016] CYP2 家族包含几个亚族,包括 CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D 和 CYP2E。CYP2C 亚族包含至少七个成员。CYP2C9 负责布洛芬,双氯芬酸,甲苯磺丁脲和托拉塞米代谢。CYP2C19 为代谢地西洋和奥美拉唑的主要同工酶。已经证实 CYP2D6 负责市场上超过 30%的药物代谢,包括抗抑郁药和心血管药和抗精神病药。

[0017] 在 CYP3 家族中,已经在人体肝脏中鉴定了三个亚型。已经将人 CYP3A4 识别为药物代谢中最重要性的亚型。迄今为止,CYP3A4 催化的代谢为接近 50%市售药物的主要消除途径。

[0018] CYP3A4 和 CYP2D6 因其在药物代谢中的重要性而通常涉及药物-药物相互作用,并且已经将几种临床使用的化合物鉴定为这些 CYP 450 亚型的有效抑制剂,诸如分别为酮康唑,特非那定,红霉素,咪康唑,心得安和奎尼丁。这对这些药物的应用施加了明显的限制。

[0019] 另一个问题,在于猝死作为非抗心律失常药作用的副作用,是制药工业和健康管理机构所面对的主要药理学安全性关注。近年来,因猝死的报道而从市场上撤回了至少五种重量级药物(阿司咪唑,舍吲哚,特非那定,西沙必利,格帕沙星)。在所有情况中,特征在于心电图 QT 间隔延长的长 QT 综合征(LQTS),即心肌复极化异常意味着“扭转性室速”的易感因素,即可能自发退化成心室颤动并且导致猝死的多形性室性心动过速。可以将先天性 LQTS 追溯回几种导致钠通道和两个不同钾通道缺陷的可能的突变:快速活化的延迟整流(I_{Kr})和缓慢活化的延迟整流(I_{Ks})。重要的是,实际上可以将涉及药物接触的心脏动作电位的延长期限(获得性 LQTS)追溯至一种具体的机制:心脏中 I_{Kr} 电流阻滞。这种电流,即 QT 间隔结束时 3 期复极化的主要贡献者由四聚化孔传导,其中各亚单位由 HERG 编码。由于将 HERG K^+ 通道阻滞广泛视为药物-诱导的 QT 延长的主要原因,所以早期检测具有这种不需要的副作用的化合物成为制药工业中的重要目的。

[0020] 对药物代谢酶,特别是 CYP 450 酶具有强抑制和 HERG 通道阻滞作用的化合物具有毒性的高度可能性并且必须使它们的发展在早期终止。

[0021] 正如表 1 中所示,作为甲磺酸盐(IIc 和 IIId)的杂质(IIa 和 IIb)强烈抑制微-和亚微-摩尔范围的 CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 和 HERG 电流并且与使用本发明方法合成的具有高纯度的 safinamide 甲磺酸盐(Ic)和 ralfinamide 甲磺酸盐(Id)相比具有高度细胞毒性。

[0022] 表 1

[0023]

化合物	HERGIC ₅₀ , μ M	细胞毒性 IC ₅₀ , μ M	CYP3A4IC ₅₀ , μ M	CYP2D6IC ₅₀ , μ M	CYP2C19IC ₅₀ , μ M	CYP2C9IC ₅₀ , μ M	CYP1A2IC ₅₀ , μ M
杂质 IIc	1.20	6.70	0.05	0.77	0.42	7.29	>40
Safinamide 甲磺酸盐	27.0	248.0	>40	>40	23.85	>40	>40
杂质 IIId	2.66	15.00	0.05	0.92	1.89	8.01	>40
Ralfinamide 甲磺酸盐	18.0	>300	>40	>40	>40	>40	>40

[0024] 表 2 表示使用应用本发明新方法合成的高纯度 safinamide 和 ralfinamide 甲磺酸盐,与使用相同方法分别在有 0.3% 杂质 IIc 和 IIId 存在下抑制细胞色素 CYP3A4 的对比结果 (IC_{50})。

[0025] 当在高纯度 safinamide 和 ralfinamide 甲磺酸盐中加入 0.3% 杂质 IIc 和 IIId 时,在两种情况中均观察到了有关 CYP3A4 的 IC_{50} 的显著下降,这意味着促成了对酶活性的强抑制作用。

[0026] 表 2

[0027]

化合物	CYP3A4 IC_{50} , μM
Safinamide 甲磺酸盐	>40
Safinamide 甲磺酸盐和 0.3% IIc 杂质	18
Ralfinamide 甲磺酸盐	>40
Ralfinamide 甲磺酸盐和 0.3% IIId 杂质	7.76

[0028] 正如表 3 中所示,从 3mg/kg ip 开始,杂质 (IIc) 增加小鼠最大电休克 (MES) 试验中的死亡率,无任何药理学活性,即防止惊厥的作用。

[0029] 表 3

[0030]

化合物	MES					
	3 mg/kg ip		10 mg/kg ip		30 mg/kg ip	
	%保护率	死亡/存活	%保护率	死亡/存活	%保护率	死亡/存活
Safinamide 甲磺酸盐	50	0/10	100	0/10	100	0/10
杂质 IIc	0	5/10	0	4/10	0	4/10

[0031] 表 4 中报道了在 10 和 20mg/kg p.o. 给予时,与相同剂量的 ralfinamide 甲磺酸盐相比,在小鼠最大电休克 (MES) 试验中的杂质 IIId 不会防止小鼠惊厥。

[0032] 表 4

[0033]

化合物	MES			
	10 mg/kg p.o.		20 mg/kg p.o.	
	防护%	死亡/存活		死亡/存活
Ralfinamide 甲磺酸盐	60%	0/10	90%	0/10
杂质 IIId	0%	0/10	0%	0/10

[0034] 基于所有这些数据,分别使用 WO 90/14334 和 Pevarello 等在 J. Med. Chem, 1998, 41, 579-590 中所述方法合成的 safinamide 和 ralfinamide 中所存在的杂质 IIc 和 IIId 在体外表现出一定的不需要的特征,诸如细胞毒性,对 CYP 450 某些亚型的强抑制作用,HERG 通道阻滞和在“体内”癫痫模型中无保护作用。

[0035] CYP 的重要方面之一在于在不同群体组中的变化。在药物代谢中的变化在临床研究中具有极大的重要性。已经在不同人种群之间且甚至在相同族群中的不同个体中在

CYP3A4 和 CYP2D6 酶活性中显示出酶活性的显著变化。在个体中 CYP 活性的差异根据不同同工酶而显著改变。不同个体 CYP 表达水平的改变在药物代谢方面产生变化。更重要的是,多态现象还可以产生具有导致药物代谢变化的较低或较高酶活性的 CYP 酶变体。CYP2D6 的多态现象为药物代谢中得到充分研究的课题。在临床研究中,首先在抗高血压药和抗癫痫药代谢中发现了个体之间的显著变化。CYP2D6 代谢的药物的消除在携带缺陷型 CYP2D6 等位基因的那些个体中较为缓慢。将具有缓慢代谢的个体分类为弱代谢者 (PM),而催化感受态个体称作快代谢者 (EM):PM 表型在不同种族来源的群体中的发生率可变:约 5-10% 的白种人具有 PM 表型,而亚洲人群中仅有 1%。CYP2C19 为另一种具有临床意义的重要多态亚型。

[0036] 考虑到这些观察结果,不干扰 CYP450 亚型(既不抑制,也不诱导)的化合物在临床实践中具有极低的药物间相互作用风险并且可以使临床医师简化和安全地开据处方。

[0037] 特别地,特别指明不干扰 CYP450 系统细胞色素的药物用于治疗处置被分类为弱代谢者 (PM) 的个体或用于治疗处置推定同时服用其它药物的患者,而己知这些患者服用的其它药物,诸如酮康唑,特非那定,红霉素,咪康唑,心得安和奎尼丁与所述的细胞色素发生相互作用,和/或己知它们具有 HERG 通道阻断特性。

[0038] 根据通常的临床实践,通常对此需要的患者以再分成若干每日剂量的方式长期给予 safinamide 和 ralfinamide 甲磺酸盐 (Ic 和 Id)。它具体应用于治疗性应用的情况,其中所治疗的疾病为:帕金森病,阿尔茨海默病和多动腿综合征(就应用 Safinamide 而言)或慢性或神经性疼痛,心血管疾病或炎性疾病(就应用 Ralfinamide 而言)。尽管每日剂量根据患者的具体情况和需要的不同而可以改变,但是 safinamide 甲磺酸盐的每日剂量通常在 10mg/天-800mg/天,而 ralfinamide 甲磺酸盐的每日剂量通常在 10mg/天-1g/天。在这些条件下并且考虑到上述报道的数据,高度适当地保持杂质 (IIa) 和 (IIb) 或其盐,特别是甲磺酸盐 (IIc) 和 (IId) 的水平在 safinamide 和 ralfinamide 或其盐的药物剂型中尽可能地低,在任何情况下在 safinamide 和 ralfinamide 或其盐,特别是甲磺酸盐的量上分别低于 0.03%,优选低于 0.01% 重量。

[0039] 本发明人进行的研究和实验研究已经证实按照现有技术方法制备的 safinamide 和 ralfinamide 和与药学上可接受的酸形成的相应的盐包含高于 0.03% 重量的量的相应杂质 (IIa) 和 (IIb) 或与药学上可接受的酸形成的相应盐,诸如 (IIc) 和 (IId)。因此,上述产物不适合于安全的治疗应用。特别地,包含 safinamide 或 ralfinamide 或其与药学上可接受的酸形成的盐的药物制剂不适合于作为药物,其中杂质 (IIa), (IIb) 和与药学上可接受的酸形成的相应的盐的含量不低于上述活性物质的 0.03%,优选不低于 0.01% 重量。

[0040] 在本说明书和权利要求中,除非另作陈述,否则上文所示限度的值指定为表示重量百分比的“活性物质”,即治疗活性物质 (Ia, Ib) 的有效含量中的生物活性杂质 (IIa, IIb) 的有效含量。

[0041] 通过有力减少杂质的本发明中所述的方法产生了具有高化学纯度和更安全的生物学特性的产物。

[0042] 几乎不能检测到的其它杂质衍生自少量分别包含在商购 3-氟苄基氯和 2-氟苄基氯中的 2-和 4-氟苄基氯和 3-e 4-氟苄基氯,所述的商购 3-氟苄基氯和 2-氟苄基氯分别用于合成分别制备化合物 (Ia) 和 (Ib) 的 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (IVa) 和 4-(2-氟苄氧

基) 苯甲醛 (IVb) 中间体。

[0043] 按照本发明中所述的方法, 获得具有高产率和高纯度的 safinamide 和 ralfinamide, 其中 (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基)- 苄氨基]- 丙酰胺 (IIa) 和 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基)- 苄氨基]- 丙酰胺 (IIb) 及其盐, 特别是与甲磺酸形成的盐 (一般称作“二苄基衍生物”) 在 safinamide 和 ralfinamide 或其盐, 特别是与甲磺酸形成的盐中的含量低于或等于 0.03%, 优选 0.01% (重量)。

[0044] 本发明方法的目标从 4- 羟基- 苯甲醛开始并且包括下列三个步骤:

[0045] a) 使用如下通式 3- 或 2-F-C₆H₄-CH₂-Y 的衍生物使 4- 羟基苯甲醛 O- 苄基化, 其中 Y 为离去基 (Cl, Br, I, OSO₂CH₃ 等); 这种 O- 苄基化在对 O- 烷基化具有高度选择性的条件下进行, 并且得到高纯度的 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛和 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛;

[0046] b) 使用 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛和 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛对 L- 丙氨酰胺, 碱或盐进行还原氨基化, 其中还原系统为氢气和多相催化剂, 以便在结晶后分别获得极高对映体和化学纯度的 safinamide 和 ralfinamide;

[0047] c) 使用药学上可接受的酸, 通过分别使上述步骤中获得的 safinamide 和 ralfinamide 成盐制备 safinamide 和 ralfinamide 盐。药学上可接受的酸例如选自硝酸, 盐酸, 氢溴酸, 硫酸, 高氯酸, 磷酸, 甲磺酸, 对甲苯磺酸, 乙酸, 三氟乙酸, 丙酸, 乙醇酸, 乳酸, 草酸, 丙二酸, 苹果酸, 马来酸, 酒石酸, 柠檬酸, 苯甲酸, 肉桂酸, 扁桃酸和水杨酸。

[0048] 本发明的另一个目的在于提供具有高纯度的适合于用作药物的 safinamide 和 ralfinamide 或其与药学上可接受的酸, 优选甲磺酸形成的盐, 特别是其中式 (IIa) 和 (IIb) 相应为二苄基衍生物或其与药学上可接受的酸, 例如甲磺酸形成的盐的含量低于 0.03%, 优选低于 0.01% 重量 (称作“活性物质”)。

[0049] 此外, 本发明的另一个目的在于提供包含 safinamide 或 ralfinamide 或其与药学上可接受的酸, 优选甲磺酸形成的盐作为活性剂的药物制剂, 其中式 (IIa) 或 (IIb) 相应二苄基衍生物或其与药学上可接受的酸, 例如甲磺酸形成的盐的含量相对于上述活性剂而言低于 0.03%, 优选低于 0.01% 重量。这些新的药物制剂既未得到提示, 也不可能通过应用有关 safinamide 和 ralfinamide 的药理学-毒理学知识, 或通过使用按照本领域中可利用的方法制备的这些活性剂获得。

[0050] 因此, 包含具有上述高纯度的 safinamide 或 ralfinamide 或其与药学上可接受的酸, 优选甲磺酸形成的盐的药物制剂构成了本发明的另一个目的。

[0051] 上述药物制剂除包含具有上述高纯度的 safinamide 或 ralfinamide 或其与药学上可接受的酸, 优选甲磺酸形成的盐外, 还可以任选包含一种或多种额外的活性剂。

[0052] 例如, 用于辅助治疗帕金森病或多动腿综合征的新的药物制剂除包含具有上述高纯度的 safinamide 或其与药学上可接受的酸, 优选甲磺酸形成的盐外, 还可以包含一种或多种帕金森病辅助活性剂, 诸如 WO 04/089353 和 WO 05/102300 中所述的那些, 优选多巴胺激动药和 / 或左旋多巴和 / 或儿茶酚-O- 甲基转移酶 (COMT) 抑制剂。

[0053] 作为另一个实例, 用于治疗疼痛疾患, 包括慢性疼痛和神经性疼痛和偏头痛的本发明新的药物制剂除包含具有上述高纯度的 ralfinamide 或其与药学上可接受的酸, 优选甲磺酸形成的盐外, 还可以包含额外的活性剂, 诸如 EP 1423168 中所述的加巴喷丁和普瑞巴林或其药学上可接受的盐。

[0054] 可以通过本领域公知的常规操作,例如通过将活性化合物与药学上地、治疗上地惰性有机和 / 或无机载体物质混合制备包含本发明高纯度 safinamide 或 ralfinamide 的药物组合物。本发明的组合物可以为液体形式,例如溶液,混悬液,乳剂形式;或可以为固体形式,例如片剂,药片,胶囊,贴剂。

[0055] 用于制备本发明组合物的合适的药学上地、治疗上地惰性有机和 / 或无机载体物质包括,例如水,明胶,阿拉伯树胶,乳糖,淀粉,纤维素,硬脂酸镁,滑石粉,植物油,聚亚烷基二醇类,环糊精等。可以将本发明的药物组合物灭菌并且这些药物组合物除包含活性组分外,还可以进一步包含本领域技术人员众所周知的成分,例如防腐剂,稳定剂,湿润剂或乳化剂,例如石蜡油,一油酸二缩甘露醇酯,调节渗透压的盐,缓冲剂等。

[0056] 本发明的另一个目的在于提供治疗 CNS 病症,特别是癫痫症,帕金森病,阿尔茨海默病和多动腿综合征的方法,包括对有此需要的患者给予有效量的高纯度 safinamide 或其与药学上可接受的酸,优选甲磺酸形成的盐,它们具有的二苄基衍生物 (IIa) 或其与药学上可接受的酸,优选甲磺酸形成的盐的含量低于 0.03%,优选低于 0.01% 重量(称作“活性物质”)。该方法包括通过对有此需要的患者给予有效量的上述高纯度 safinamide,任选联用一种或多种如 WO 2004/089353 中所述的帕金森病活性剂治疗帕金森病或多动腿综合征,所述的帕金森病活性剂,例如为多巴胺激动药 / 或左旋多巴和 / 或儿茶酚-O-甲基转移酶 (COMT) 抑制剂。

[0057] 此外,本发明的另一个目的在于提供治疗疼痛疾患,包括慢性疼痛和神经性疼痛,偏头痛,双相性精神障碍,抑郁症,心血管疾病,炎症,泌尿生殖疾病,代谢性疾病和胃肠道病症的方法,包括对有此需要的患者给予有效量的高纯度 ralfinamide 或其与药学上可接受的酸,优选甲磺酸形成的盐,它们具有的二苄基衍生物 (IIb) 或其与药学上可接受的酸,优选甲磺酸形成的盐的含量低于 0.03%,优选低于 0.01% 重量(称作“活性物质”)。

[0058] 上述方法包括治疗疼痛疾患,包括慢性疼痛、神经性疼痛和偏头痛的方法,该方法使用高纯度的 ralfinamide 或其与药学上可接受的酸,优选甲磺酸形成的盐,任选联用加巴喷丁或普瑞巴林治疗疼痛疾患,包括慢性痛和神经性疼痛和偏头痛。

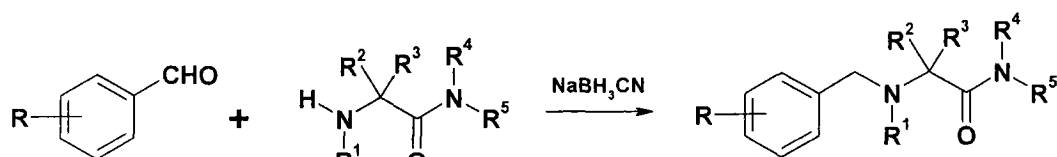
现有技术

[0059] 在 WO 90/14334 和 Pevarello 等在 J. Med. Chem., 1998, 41, 579-590 中的论文中,描述了制备苄氧基-苄氨基-烷酰胺类的三步法:

[0060] a) 通过使用合适的苄基氯类使相应 4-羟基苯甲醛 O-苄基化合成中间体 4-苄氧基苯甲醛;

[0061] b) 使用 4-苄氧基-苯甲醛类,应用氰基硼氢化钠作为还原剂,如下文中图示地对 α -氨基-酰胺类进行还原氨基化;

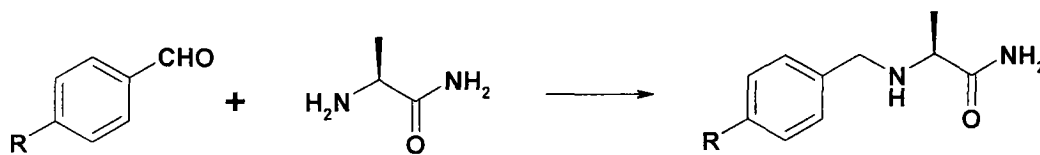
[0062]



[0063] 其中在取代基中 R 表示 3-F 和 2-F;在取代基中 R¹ 表示氢;在取代基中 R² 表示氢;在取代基中 R³ 表示 CH₃;在取代基中 R⁴ 和 R⁵ 均表示氢。

[0064] 特别地,就 safinamide 和 ralfinamide 制备而言,还原烷基化是分别使用 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛和 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛如下所示对 L- 丙氨酸进行还原烷基化:

[0065]



[0066] R = 3-F- 苄氧基 = safinamide (Ia)

[0067] R = 2-F- 苄氧基 = ralfinamide (Ib)

[0068] 在 J. Med. Chem. (Pevarello 等), 1998, 41, 579-590 中, 报道了以相应 (氟苄氧基) 苯甲醛类为原料制备了产率分别为 45% 和 60% 的 safinamide 和 ralfinamide 甲磺酸盐。

[0069] 在 WO 90/14334 和上文引述的论文中所述的方法是相同的并且提供了单罐 (one-pot) 系统, 其中亚氨基烷基化和还原在同一反应器中进行。同时向 L- 丙氨酸盐酸盐, 氰基硼氢化钠, 甲醇和分子筛粉的混合物中加入合适的醛。

[0070] 根据 Pevarello 等在 Org. Prep. Proc. Int. 1996, 28, 179-183 (其中描述了通过还原烷基化合成某些 α -苄基氨基酸衍生物) 中所述, 使用作为盐酸盐的 α -氨基酸对形成亚胺离子 (iminium) 离子以取代相应的亚胺而言是重要的, 因为亚胺离子 (iminium) 离子与氰基硼氢化钠的反应比与醛羰基的反应更容易。

[0071] 根据上述作者所述, 单罐操作看起来避免了希夫碱外消旋化的问题并且分子筛加速了反应 (不过产量很低)。

[0072] 氰基硼氢化物是唯一使用的还原剂并且看起来这种选择是因其低反应性及其低选择性所致 (参见 Review "Sodium Cyanoborohydride-A Highly Selective Reducing Agent for Organic Functional Groups"-C. F. Lane, Synthesis 1975, 132-146), 这使得它能够在质子化希夫碱与原料醛之间区分。

[0073] Pevarello 等在论文中所述的合成提供了通过柱色谱法分离产物, 随后通过用酸处理将其转化成相应的盐。尚未提供有关对映体和 / 或化学纯度的 safinamide 和 ralfinamide 和 / 或其盐的信息。

[0074] 现有技术中所述的方法存在许多缺陷, 它们限制了这种方法的大规模应用; 下文列出了所述缺陷中的某些实例:

[0075] - 形成氰化物;

[0076] - 形成难以从活性成分中除去的硼衍生物;

[0077] - 使用了物理上可变和昂贵的粉状分子筛;

[0078] - 低产率;

[0079] - 在还原烷基化反应混合物中的低终产物浓度 (约 2-3% 重量 / 体积);

[0080] - 在涉及通过化学合成大规模活性剂制剂时, 通过柱色谱法分离产物被视为麻烦和昂贵的纯化方法。

[0081] 此外, 正如本说明书下文中的实施例所示, 按照现有技术中所述方法获得的产物包含相对于相应活性物质 (Ia), (Ib), (Ic) 或 (Id) 而言高于 0.03% 重量的量的杂质 (IIa), (IIb), (IIc) 或 (IId)。此外, 已经证实难以通过使用诸如从溶剂中结晶或色谱法这类通常公知的纯化方法从终产物 safinamide 和 ralfinamide 或其盐中消除所述杂质, 在

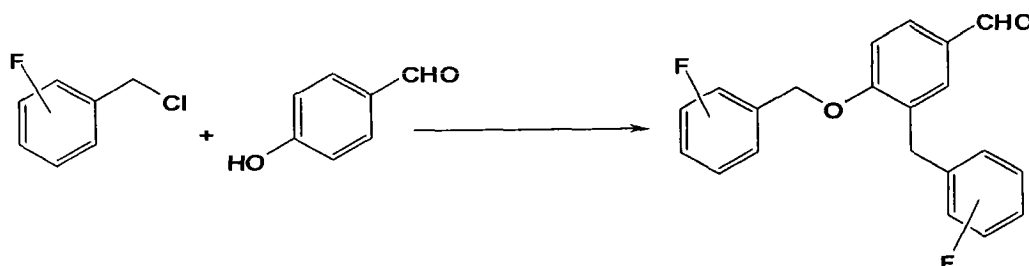
任何情况下这均意味着产率降低。

[0082] 4-(氟苄氧基)-苯甲醛中间体的合成

[0083] 按照公知方法,通过在碱性介质中使 4-羟基苯甲醛苄基化获得合成 safinamide 和 ralfinamide 的氟苄氧基-苯甲醛类中间体,即通过使两可亲核体的苯酚盐苄基化得到两种不同产物,即所需的 O-烷基化衍生物和不需要的 C-烷基化衍生物。

[0084] 实际上发现按照现有技术进行的使用 3-氟苄基氯使 4-羟基苯甲醛氟苄基化得到为主要产物的 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (IVa) 与衍生自 4-羟基苯甲醛 4 位上的羟基和 3 位上的碳原子的烷基化的 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (Va)。按照下列方案在使用 2-氟苄基氯使 4-羟基苯甲醛氟苄基化中发生同样的情况:

[0085]

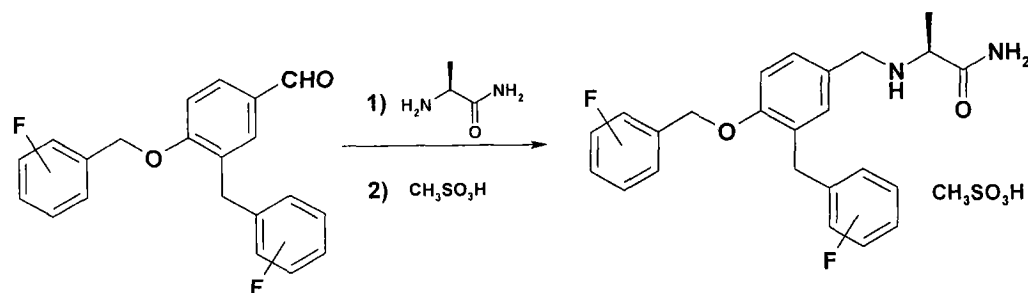


[0086] (IIIa₁): 3-F (Va): 3-F

[0087] (IIIb₁): 2-F (Vb): 2-F

[0088] 使用含二-烷基化杂质的醛使 L-丙氨酰胺还原烷基化得到 safinamide 或 ralfinamide 终产物,其也为不纯的相应二-烷基化化合物,即二-苄基衍生物的杂质,无论是作为游离碱 (IIa) 或 (IIb) 还是作为成盐化合物,优选与甲磺酸成盐 (IIc) 或 (IId),正如下列方案中所示:

[0089]



[0090] (Va): 3-F (IIc): 3-F

[0091] (Vb): 2-F (IId): 2-F

[0092] 其它药学上可接受的盐,例如硝酸,盐酸,氢溴酸,硫酸,高氯酸,磷酸,甲磺酸,对甲苯磺酸,乙酸,三氟乙酸,丙酸,乙醇酸,乳酸,草酸,丙二酸,苹果酸,马来酸,酒石酸,柠檬酸,苯甲酸,肉桂酸,扁桃酸和水杨酸可以用于替代优选的甲磺酸。

[0093] 一-烷基化衍生物 (safinamide 或 ralfinamide) 和相应的二-烷基化杂质具有类似的化学-物理特性并且这使得使用传统方法难以纯化 safinamide 和 ralfinamide。

[0094] 此外,公知方法存在这些额外的缺陷:

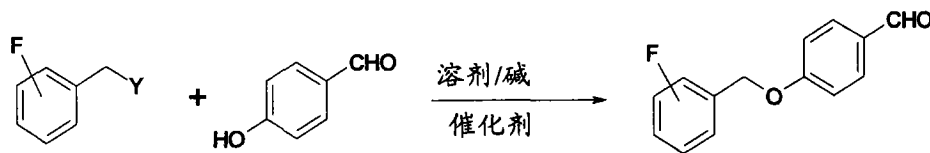
[0095] 1) 使用低级醇作为溶剂;在碱性条件下,溶剂,例如甲醇自身可以作为亲核试剂起作用并且与 3-或 2-氟苄基氯得到一定量的甲基-氟苄基-醚;

[0096] 2) 使用与水不混溶的有机溶剂萃取终产物仅可能在从反应混合物中除去醇反应溶剂后进行。

[0097] 目前已经发现为了通过使用上述现有技术的方法获得式 (Ia) 或 (Ib) 的终产物, 其中相应杂质 (IIa) 或 (IIb) 的量低于 0.03% (重量), 有必要彻底纯化中间体 4-(3-氟苄氧基) 苯甲醛 (IVa) 或 4-(2-氟苄氧基) 苯甲醛 (IVb) 以便减少式 (Va) 和 (Vb) 相应杂质的含量。所述纯化优选通过使反应产物结晶, 更优选通过向粗化合物 (IVa) 或 (IVb) 在惰性有机溶剂中的溶液中加入易混溶的惰性有机非溶剂进行。有机惰性溶剂优选自芳族烃类, 且更优选甲苯。易混溶的有机非溶剂优选自低级脂族烃类, 更优选正己烷。额外的结晶操作在于将上述化合物 (IVa) 或 (IVb) 溶入在回流状态下的热溶剂, 例如环己烷或二 (C₃-C₄) 烷基醚, 诸如二异丙基醚, 且然后在室温, 优选在 10-15°C, 最优选通过添加纯化化合物 (IVa) 或 (IVb) 的纯晶体诱发结晶冷却该溶液。

[0098] 按照本发明的一个方面, 目前令人意外地发现当式 (IIIa) 或 (IIIb) 的烷基化试剂 (参见下文的方案, 其中 F 原子位于 2 或 3 位上且 Y 为离去基, 例如 Cl, Br, I, OSO₂CH₃, OSO₂C₆H₄-pCH₃ 等) 与 4-羟基苯甲醛之间的反应在相转移条件下进行时, 获得高产率且 C, O-双-烷基化杂质水平极低的相应的 4-(氟苄氧基) 苯甲醛类。

[0099]



[0100] (IIIa) : 3-F (IVa) : 3-F

[0101] (IIIb) : 2-F (IVb) : 2-F

[0102] 这种在相转移条件下的 4-羟基苯甲醛的新氟苄基化可以在固体 / 液体系统中进行, 其中在液体有机相中溶解有试剂和相转移催化剂, 并且固相由无机碱或 4-羟基苯甲醛盐构成 (可能在原位由 4-羟基-苯甲醛和无机碱自身生成), 并且在液 / 液有机 / 水系统中, 无机碱被溶于水相。

[0103] 优选的系统为固体 / 液体系统, 其中无机碱优选自 Na₂CO₃, K₂CO₃, KOH, NaOH。

[0104] 就液 / 液系统和还是固 / 液体系统而言, 在反应中使用的有机溶剂可以为二烷基醚类, 例如二-叔-丁基醚, 乙基-叔-丁基醚, 或芳族烃类, 例如甲苯, 乙苯, 异丙基苯和二甲苯。所有这些溶剂均易于通过蒸馏回收。

[0105] 所用的相转移催化剂可以为季铵或磷鎓盐, 例如溴化四丁基铵, 溴化十四烷基三甲基铵, 溴化十六烷基三丁基磷, 氯化三辛基甲基铵 (Aliquat), 氯化甲基三烷基 (C₈-C₁₀) 铵 (Adogen), 溴化十四烷基三甲基铵为一种优选的。

[0106] 此外, 可以将低分子量聚乙二醇类用作相转移催化剂, 例如 PEG-200 (CAS 25322-68-3) 或 PEG-400 (CAS 25322-68-3)。

[0107] 所用的相转移催化剂的量在 0.02-1mol/mole 4-羟基苯甲醛, 优选 0.1-1mol/mole 4-羟基苯甲醛, 在这些条件下, C, O-双-氟苄基化杂质的量结果为低于 0.03%, 优选等于 0.01% 或 0.01% 以下重量。

[0108] 式 IIIa 或 IIIb 的烷基化试剂与 4-羟基苯甲醛之比包括 0.6-1.5, 优选的一种在 0.9-1.1。

[0109] 反应温度包括 60℃ -160℃, 优选的间隔在 80℃ -120℃。

[0110] 反应时间一般包括 4-8 小时。

[0111] 反应产量极高, 一般高于 90%。

[0112] 反应产率, 即反应产物在反应混合物中的浓度在所述反应条件下极高, 通常大于或等于 25% (重量 / 体积)。

[0113] 通过 α -氨基酰胺类的还原烷基化合成 SAFINAMIDE 和 RALFINAMIDE

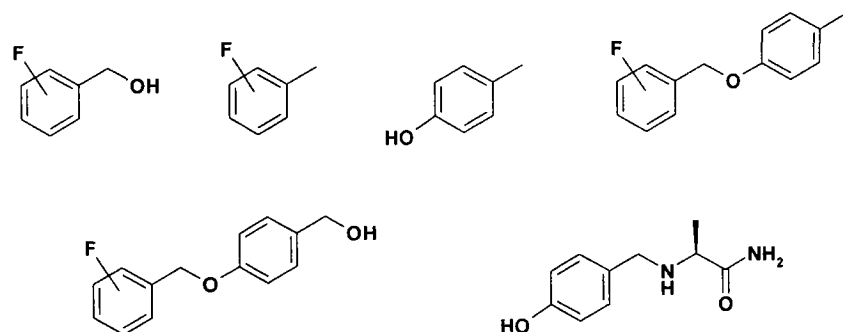
[0114] 本领域的现有技术提示本领域技术人员, 使用 4-(3- 或 2- 氟苄氧基) 苯甲醛类, 应用氢和多相催化剂作为还原剂使 α -氨基-酰胺类还原烷基化因在试剂和终产物中的不相容性和还原条件而不应适合于制备 safinamide 和 ralfinamide。

[0115] 实际上, 众所周知如何便利地将苯甲醛类还原成苄醇类, 甚至还原成相应的烃类, 且已知应用于使用氢和多相催化剂进行还原烷基化的条件通常为用于打断苄型碳原子与杂原子, 如氮或氧之间的键, 即存在于 safinamide 和 ralfinamide 及其前体中的类型的键的相同条件。

[0116] 实际上, 苄型基团因其引入和通过催化还原被连续除去的便利性而通常用作苯酚类或胺类的保护基 (参见 "Protective Groups in Organic Synthesis", T.W.Greene 和 P.G.M. Wuts, 3rd Edition, 1999, John Wiley & Sons, Inc.)。

[0117] 在获得 safinamide 和 ralfinamide 的还原烷基化中, 可以预计形成许多副产物, 将它们中的某些报道的下文中:

[0118]



[0119] 通过还原烷基化应用氢和多相催化剂作为还原系统, 使用 4-(3- 或 2- 氟苄氧基) 苯甲醛, 使 L- 丙氨酰胺还原烷基化获得极高产率和纯度的 safinamide 和 ralfinamide 这一事实为本合成操作中令人意外和创新的方面。

[0120] 此外, 按照本操作使用的反应条件易于应用于批量生产。

[0121] 本发明目的的还原烷基化按照两步进行:

[0122] a) 形成希夫碱;

[0123] b) 对希夫碱进行催化还原。

[0124] 这两步在同一反应器 (单罐反应) 中连续进行, 其中分离或不分离希夫碱, 两种情况中均获得高产率。

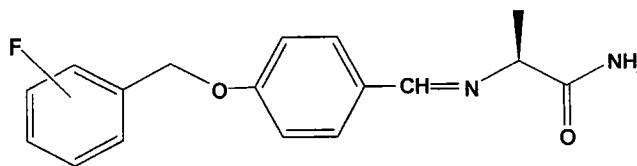
[0125] 就分离希夫碱而言, 用于其形成的实验条件能够获得高产率和极纯形式的沉淀形式的分离的希夫碱。

[0126] 希夫碱的制备适合于在有机质子溶剂中进行, 该溶剂对试剂和产物而言必须是惰性的并且对亚氨双键的还原条件而言也是惰性的, 诸如, 例如 (C₁-C₅) 低级链烷醇, 优选甲

醇,乙醇和异丙醇。

[0127] 希夫碱的形成必须是完全的并且这是在随后的催化还原步骤中具有高产率的相关因素。因此,优选在进行亚氨双键还原前分离希夫碱 (VIa) 和 (VIb)。

[0128]



[0129] (VIa) :3-F

[0130] (VIb) :2-F

[0131] 分离的亚氨基化合物 (VIa) 和 (VIb) 为分别制备本发明 safinamide 和 ralfinamide 的有用中间体。

[0132] 可选择地,可以通过在诸如导致亚氨基化合物 (VIa) 和 (VIb) 沉淀和对含中间体亚氨基衍生物的悬浮液进行催化还原这类条件下操作有利于亚氨基烷基化反应完成。

[0133] L-丙氨酰胺(碱或盐)与4-(3-或2-氟苄氧基)苯甲醛之比可以为1:1,而且可以有利的地使用10%过量的L-丙氨酰胺。

[0134] L-丙氨酰胺可以作为游离碱或作为其酸加成盐导入。优选将其作为盐,最优选作为盐酸盐与化学计算量的碱,优选叔胺,例如三乙胺或二异丙基乙胺导入反应混合物。

[0135] 制备希夫碱中的反应温度包括0℃-60℃,优选20℃-30℃。

[0136] 反应时间包括1小时-15小时,优选4小时-6小时。

[0137] 使用氢和多相催化剂还原希夫碱仅在希夫碱形成完全时开始:如果在此前开始,那么继发反应变得重要,有时就变得常见,其中产率和纯度损耗。更重要的是这些继发反应之一因选择的(氟苄氧基)苯甲醛的羰基被还原而导致形成苄型醇类。

[0138] 优选的多相催化剂为在惰性支持物,例如碳,氧化铝和二氧化硅,优选碳和氧化铝上的镍,铈,钨或铂催化剂,并且以包括2%-20%的4-(3-或2-氟苄氧基)苯甲醛,优选5%-10%的量使用。

[0139] 最优选铂和钨催化剂。

[0140] 特别地,铂/活性炭在接近定量的产率和选择性方面均得到了极佳的结果,因为仅亚氨双键被还原,而苄型碳原子与杂原子之间的键保持不变。发现 safinamide 和 ralfinamide 在还原反应条件下令人意外的稳定并且这是 safinamide 或 ralfinamide 的工业化大量生产中的一个重要因素,因为偶发的反应时间延长不会损害终产物。

[0141] 使用 Engelhard S. r. l., Rome, Italy 的湿 5% Pt/C(50% H₂O) 且特别是使用 5% Pt/ 碳粉获得最佳结果。

[0142] 氢化反应通常在包括1巴-10巴,优选3巴-6巴的氢气压力和包括10℃-70℃,优选25℃-40℃的温度下进行。

[0143] 根据温度,压力,浓度,紊度等所有本领域技术人员众所周知的因素的不同,还原时间可以在1小时-20小时之间改变。

[0144] 使用4-6小时的反应时间获得了最佳结果。

[0145] 在反应结束时,通过过滤回收并且再利用或再生催化剂:在减压下蒸馏反应溶剂,将残余物溶于与水不混溶的有机溶剂并且通过用水洗涤除去无机盐。

[0146] 通过蒸馏除去有机溶剂回收最终的粗 safinamide 或 ralfinamide, 其中溶解有它们。

[0147] 然后通过结晶纯化粗的 safinamide 或 ralfinamide。优选通过向相应式 (Ia) 或 (Ib) 的粗化合物在惰性有机溶剂中的溶液中加入易混溶的惰性有机非溶剂进行结晶。有机惰性溶剂优选自芳族烃类, 诸如苯, 甲苯, 二甲苯和乙苯以及乙酸低级烷基酯类, 且更优选乙酸乙酯。易混溶的惰性有机非溶剂优选自低级脂族烃类, 诸如己烷和庚烷和环己烷, 更优选正己烷。

[0148] 然后按照公知方法将碱转化成所需的盐, 特别是将它们转化成甲磺酸盐, 它具有适合于随后配制成用作药物的药物制剂的物理 / 化学特性 (稳定性, 粒度测量性, 流动性等)。

[0149] 实施例 1

[0150] 通过相转移催化制备纯化的 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVb)

[0151] 在搅拌下和氮气环境中使 2- 氟苄基氯 (5kg, 34.58mol), 4- 羟基 - 苯甲醛 (3.9kg, 31.94mol), 碳酸钾 (4.3kg, 31.11mol) 和溴化十四烷基三甲基铵 (0.41kg, 1.22mol) 在甲苯 (9.5kg) 中的混合物缓慢达到回流温度并且回流 6h。

[0152] 然后在室温下浓缩该溶液, 加入 3kg 甲苯并且蒸馏出来且再次重复该操作。

[0153] 然后将该不均匀混合物冷却至室温并且通过过滤除去固体。随后在减压下除去残留溶剂并且向油状残余物至加入 1.2kg 甲苯。将该混合物加热至约 40°C 并且接种几克纯的 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛。

[0154] 将该不均匀混合物在 35-40°C 下搅拌 15 分钟且然后在该温度下和 30 分钟内加入正己烷 (9kg)。在冷却至 0-5°C 并且在该温度下再搅拌 1 小时后通过过滤收集固体且在减压下干燥而得到 6.5kg (产率 87.6%) 的 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 ;m. p. 56.7°C (DSC, 5°C / min)。

[0155] 通过使用 39g (0.319mol) 4- 羟基苯甲醛作为原料并且按照上述操作重复进行 1:100 比例的上述反应, 但在除去反应溶剂并且将甲苯加入到油状残余物中后, 将获得的混合物加热至约 30-35 (而不是 40°C), 并且在使用少量纯 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛接种后, 将该不均匀 混合物在 30°C (而不是 35-40°C) 下搅拌 15 分钟, 此后添加正己烷。

[0156] 产率为 66.8g (90%) 的 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛, m. p. 56.7°C (DSC, 5°C / min), 具有的 GC 纯度为 92.2 (面积%, 参见实施例 16A); 且通过 GC 测定 3-(2- 氟苄基) -4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛含量为 0.01% 重量 (参见实施例 16B)。

[0157] (*) 如果没有特别说明, 那么将在本文和下列实施例中报道的产率指定为摩尔产率。

[0158] 1.1 通过结晶进一步纯化 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛

[0159] 在回流和搅拌下将按照实施例 1 中所述操作制备的 1 千克产物溶于 2kg 二异丙基醚。

[0160] 将该溶液在 10-15 分钟内冷却至 50-55°C 并且接种几克纯的 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛。

[0161] 将该悬浮液在 45-60 分钟过程至冷却至 10-15°C 并且再搅拌 1 小时。

[0162] 最终通过过滤收集沉淀, 用冷的二异丙基醚 (0.2Kg) 洗涤并且在减压下干燥而得

到 0.93kg 具有 99.8 GC 纯度 (面积%, 参见实施例 16A) 和通过 GC, 按照实施例 16B 测定的 0.005% 重量 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (Vb) 含量的 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛。

[0163] 1.2 通过相转移催化 (PTC), 使用不同催化剂制备 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVb)

[0164] 通过使用 2- 氟苄基氯使 4- 羟基苯甲醛 (0.39g) 烷基化, 随后按照实施例 1 的相同操作, 但使用不同的相转移催化剂制备 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛。

[0165] 将结果报道在下表 4 中

[0166] 表 4

[0167]

实验	相转移催化 剂 PCT	%Vb **	产率%
1.2 (a)	溴化四丁基 磷鎓		
		0.03	85.0
1.2 (b)	Aliquat 336*		
		0.03	88.8
1.2 (c)	PEG 400		
		0.14	96.0

[0168] * Aliquat 336: 氯化三辛基甲基铵

[0169] ** % Vb : 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (% 重量) 含量

[0170] 通过 GC, 按照实施例 16B 测定 Vb 的含量。

[0171] 1.3 通过在二甲苯中的相转移催化 (PTC) 制备 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVb)

[0172] 按照实施例 1 的相同操作, 通过使 4- 羟基苯甲醛 (0.39g) 与 2- 氟苄基氯反应, 但使用二甲苯作为溶剂替代甲苯制备 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛, 其中产率为 86.6%, 且通过 GC 测定的 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛含量为 0.02% 重量 (参见实施例 16B)。

[0173] 1.4 通过相转移催化, 使用氢氧化钾作为碱制备 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVb)

[0174] 按照实施例 1 的相同操作, 通过使 4- 羟基苯甲醛 (0.39g) 与 2- 氟苄基氯反应, 但使用氢氧化钾替代 (0.35mol) 碳酸钾制备 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛, 其中产率为 86.7%, 且通过 GC 测定的 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛含量为 0.51% 重量 (参见实施例 16B)。

[0175] 可以通过实施例 1.1 的结晶纯化该产物。

[0176] 1.5 通过相转移催化, 使用 2- 氟苄基溴制备 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVb)

[0177] 按照实施例 1 的相同操作, 通过使 4- 羟基苯甲醛 (15.6g) 与 2- 氟苄基溴而不是 2- 氟苄基氯反应制备 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛, 其中产率为 88.6%, 且通过 GC 测定的

3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛含量为 0.07% 重量 (参见实施例 16B)。

[0178] 实施例 2

[0179] 高纯度 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (ralfinamide, Ib) 的制备 (单罐反应)

[0180] 给高压釜中加载按照实施例 1 制备的 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (2.0kg, 8.69mol) 且然后向其中加入 L- 丙氨酰胺盐酸盐 (1.2kg, 9.63mol) 和三乙胺 (0.97kg, 9.63mol) 在甲醇 (9.5kg) 中各自制备的溶液。

[0181] 将该混合物在 20-25℃ 下搅拌约 1 小时且然后在使用几克 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺接种后, 再持续搅拌 15 分钟。然后在 20-25℃ 下向搅拌的不均匀混合物中加入甲醇 (1.6kg) 和湿 (50% H₂O)Pt/C 5% (Engelhard cod. Escat 22, Engelhard S. r. l., Rome, Italy) (0.28kg)。

[0182] 使用氮气净化来自高压釜的空气且然后在 5.0 巴下导入氢气并且在氢化过程中将压力维持在该值。

[0183] 在 30-35℃ 下 5 小时后, 将该反应混合物冷却至 15℃, 加入甲醇 (4.8kg) 且加热至 40-45℃ 后, 过滤该悬浮液并且用甲醇 (1.6kg) 洗涤固体。

[0184] 因为水的添加为放热过程, 在约 30℃ 下和减压中除去溶剂, 并且在 20-25℃ 下在冷却和搅拌下向残余物中加入水 (5L)。将该不均匀混合物再冷却至 15-20℃, 保持在该温度下 1 小时且然后过滤。用冷水 (4L) 洗涤收集的固体并且在减压下干燥至得到 2.23kg (85.0% 产率) 的 ralfinamide, 其具有的按照实施例 17A 方法测定的 HPLC 纯度为 98.8 (面积%); 和 C, 0- 二烷基化 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺, 其通过 HPLC, 按照实施例 17B 方法测定的含量为 0.01% 重量。

[0185] 2.1 通过使用钯催化剂制备高纯度的 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (Ib)

[0186] 按照实施例 2 的相同操作氢化按照实施例 1 制备的 5g 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛和相应量的 L- 丙氨酰胺盐酸盐和三乙胺的混合物, 但使用湿 (50% H₂O)Pd/C 10% 而不是湿 (50% H₂O)Pt/C 5%, 得到 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (Ib), 产率为 70%。

[0187] 实施例 3

[0188] 高纯度 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐 (ralfinamide 甲磺酸盐, Id) 的制备

[0189] 将如实施例 2 中所述制备的 Ralfinamide (2.8kg, 9.26mol) 溶于异丙醇 (19.5kg) 并且保持在 65-70℃ 下和惰性气体环境中搅拌。

[0190] 在用活性炭 (150g) 处理和过滤后, 给该溶液接种纯的 ralfinamide 甲磺酸盐并且在 30 分钟内和且 50-55℃ 温度下搅拌加入甲磺酸 (900g, 9.36mol)。然后在 2 小时内将该混悬液冷却至 15-20℃ 并且再持续搅拌 1 小时。最终通过过滤收集固体并且在减压下干燥而得到 3.59kg (产率 97.3%) ralfinamide 甲磺酸盐。

[0191] 获得产物的 HPLC 纯度为 99.8 (面积%, 参见实施例 17A) 并且 C, 0- 二烷基化 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐的含量为 0.005% 重量 (参见实施例 17B); 通过 DSC 测定 m. p. 240.6℃ (5° /min)。

[0192] 使用手性 HPLC 柱测定的 ralfinamide 甲磺酸盐对映体纯度高于 99.8 (面积%, 参

见实施例 18)。

[0193] 实施例 4

[0194] 乙醇溶液中的纯化的 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVa) 的制备

[0195] 在室温和搅拌下向 4- 羟基 苯 甲 醛 (1.52kg, 12.45mol), 碳酸钾, (1.72kg, 12.45mol), 碘化钾 (0.2kg, 1.20mol) 在乙醇 (13.0kg) 中的混合物中加入 1.8kg 3- 氟苄基氯 (1.80kg, 12.45mol)。

[0196] 将该混合物逐步加热至回流且然后保持在该温度下 6 小时。

[0197] 然后将该反应混合物冷却至 25℃, 过滤该悬浮液并且用乙醇 (1.0kg) 洗涤固体; 合并乙醇溶液且然后在减压下浓缩至获得约 3.5kg 的残余物。

[0198] 向该残余物中加入甲苯 (5.0kg) 和水 (1.7kg), 将溶剂混合物剧烈搅拌 30 分钟, 并且在分离水相后在减压下将有机层蒸发至干而得到粗的 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛。

[0199] 在 20-25℃ 下和搅拌中向溶于 2kg 甲苯的该产物中加入 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛晶种, 然后在 30 分钟内加入正己烷 (3.8kg) 并且将该混合物在搅拌下冷却至 0℃。

[0200] 2 小时后, 过滤固体并且用正己烷 (1.3kg) 洗涤。在干燥后, 获得 2.6kg (产率 90.7%) 所需产物, 其中气 -chromathographic 纯度为 99.9 (面积%, 参见实施例 16A); 和 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛, 其通过 G.C. 测定的含量为 0.005% 重量 (面积%, 参见实施例 16B); 通过 DSC 5° /min 的 m. p. 43.1℃。

[0201] 实施例 5

[0202] 通过相转移催化制备 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVa)

[0203] 使 3- 氟苄基氯 (5kg, 34.58mol), 4- 羟基 - 苯 甲 醛 (3.9kg, 31.94mol), 碳酸钾 (4.3kg, 31.11mol) 和溴化十四烷基三甲基铵 (0.41kg, 1.22mol) 在甲苯 (13.5kg) 中的混合物在搅拌下和氮气环境中缓慢达到回流温度且然后回流 6 小时。

[0204] 在室温下浓缩该溶液且然后加入 3kg 甲苯并且蒸馏出来。再次重 复该操作。

[0205] 然后将该不均匀混合物冷却至室温并且通过过滤除去固体。在减压下除去残留溶剂且然后向油状残余物中加入 1.2kg 甲苯。

[0206] 在 20-25℃ 下搅拌该混合物并且使用几克纯的 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛接种且然后在该温度下和 30 分钟内添加正己烷 (9kg)。

[0207] 在冷却至 0-5℃ 并且在该温度下再搅拌 1 小时后, 通过过滤收集固体并且在减压下干燥至得到 6.5kg (产率 85%, GC 纯度 99.9 (面积%, 参见实施例 16A) 且 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛含量为 0.008% 重量 (参见实施例 16B)。

[0208] 5.1 通过结晶进一步纯化 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVa)

[0209] 将 2 按照实施例 5 制备的 1 千克 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛在回流和搅拌下溶于 2kg 二异丙基醚。

[0210] 在 10-15 分钟内将该溶液冷却至 50-55℃ 并且用几克纯的 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛接种。

[0211] 在 45-60 分钟过程中将该混悬液冷却至 10-15℃ 并且再搅拌 1 小时。

[0212] 最终通过过滤收集沉淀, 用冷的二异丙基醚 (0.2kg) 洗涤并且在减压下干燥而得到具有 GC 纯度为 99.9 (面积%, 参见实施例 16A) 的 0.95kg 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛和通过 GC 测定的含量低于 0.005% 重量的 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (参见实施

例 16B)。

[0213] 5.2 通过相转移催化,使用 3- 氟苄基溴制备 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVa)

[0214] 按照实施例 5 的相同操作,通过使 4- 羟基苯甲醛 (15.6g) 与 3- 氟苄基溴反应,但使用 3- 氟苄基溴而不是 3- 氟苄基氯制备 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛,产率为 86.1%,且通过 GC 测定的 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛含量为 0.07% 重量 (参见实施例 16B)。

[0215] 按照实施例 5.1 纯化由此获得的 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛而得到标题产物,产率为 97.3%,且通过 GC 测定的 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛含量为 0.07% 重量 (参见实施例 16B)。

[0216] 5.3 通过相转移催化,使用 3- 氟苄基甲磺酸盐制备 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVa)

[0217] 按照实施例 5 的相同操作,通过使 4- 羟基苯甲醛 (15.6g) 与 3- 氟苄基甲磺酸盐而不是 3- 氟苄基氯反应制备 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛,产率为 97.5%,且通过 GC 测定的 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛含量为 0.45% 重量 (参见实施例 16B)。按照实施例 5.1 的操作进一步纯化该产物。

[0218] 实施例 6

[0219] 高纯度 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (safinamide, Ia) 的制备 (单罐反应)

[0220] 给高压釜中加载按照实施例 4 制备的 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (2.0kg, 8.69mol) 且然后向其中加入 L- 丙氨酰胺盐酸盐 (1.2kg, 9.63mol) 和三乙胺 (0.97kg, 9.63mol) 在甲醇 (7.1kg) 中各自制备的溶液。

[0221] 将该混合物在 20-25°C 下搅拌约 1 小时且然后在使用几克 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺接种后,再持续搅拌 15 分钟。然后在 20-25°C 下向搅拌的不均匀混合物中加入甲醇 (1.8kg) 和湿 (50% H₂O)Pt/C 5% (Engelhard cod. Escat 22) (0.3kg)。

[0222] 使用氮气净化来自高压釜的空气且然后在 5.0 巴下导入氢气。

[0223] 在 30-35°C 下 5 小时后,将该反应混合物冷却至 15°C,加入甲醇 (4.8kg) 且加热至 40-45°C 后,最后,过滤该混悬液并且用甲醇 (1.6kg) 洗涤固体。

[0224] 在约 30°C 下和减压中除去溶剂且然后向残余物中加入乙酸乙酯 (23.0kg) 和水 (18.0kg) 的混合物。在搅拌 15 分钟后,分离水相并且用乙酸乙酯 (7.0kg) 萃取。浓缩收集的有机相,直到获得约 6.0kg 残余物。向该残余物中加入正庚烷 (10.8kg) 并且将该混合物在 20°C 下搅拌约 2 小时。然后通过过滤收集固体并且用正庚烷洗涤。

[0225] 在减压下干燥固体后,获得 2.41kg (91.8% 产率) 标题化合物,其具有的 HPLC 纯度为 98.4 (面积%, 参见实施例 17A) 并且 C,0- 二苄基化 (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺) 的含量为 0.005% 重量 (参见实施例 17B)。

[0226] 6.1 通过使用 Pd 催化剂制备高纯度 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (Ia)

[0227] 按照实施例 6 相同的操作,通过使用湿 (50% H₂O)Pd/C 10% 而不是湿 (50% H₂O)Pt/C 5% 在有相应量 L- 丙氨酰胺盐酸盐和三乙胺存在下氢化 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (5g) 而得到 Ia,产率为 72%。

[0228] 6.2 通过在1巴下氢化制备高纯度(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(Ia)

[0229] 按照实施例6的相同操作,但在1巴/ H_2 而不是5巴/ H_2 下氢化(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺, L-丙氨酸盐酸盐和三乙胺的混合物。

[0230] (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺的产率为90%,其HPLC纯度为98.7(面积%,参见实施例17A)并且通过HPLC测定的(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺的含量为0.005%重量(参见实施例17B)。

[0231] 6.3 通过使用L-丙氨酸碱制备高纯度(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(Ia)(单罐反应)

[0232] 按照实施例6的相同操作,但使用L-丙氨酸碱而不是其盐酸盐和三乙胺使(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(10g)反应。(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺的产率为92%,其HPLC纯度为99.7(面积%,参见实施例17A)并且通过HPLC测定的(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺含量低于0.005%重量(参见实施例17B)。

[0233] 实施例7

[0234] 高纯度(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐(safinamide 甲磺酸盐, Ic)的制备

[0235] 将如实施例6中所述制备的Safinamide(2.41kg, 7.97mol)在65°C下溶于乙酸乙酯(56.5kg)并且使用活性炭(100g)脱色。

[0236] 在过滤后,搅拌该溶液并且接种几克 safinamide 甲磺酸盐,并且在15分钟后,在50-55°C温度下和30分钟内加入甲磺酸(850g, 8.84mol)。在搅拌下和2小时过程中将该混悬液冷却至20-25°C并且再搅拌1小时。最终通过过滤收集沉淀并且在减压下干燥而得到2.83kg(产率89.1%)safinamide 甲磺酸盐。

[0237] 通过HPLC测定的杂质(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐(IIc)含量(参见实施例17B)为0.005%重量。标题化合物具有通过DSC(5°C/min)测定的m.p. 216.8°C。

[0238] 使用手性HPLC柱测定的对映体纯度超过99.9(面积%,参见实施例19)。

[0239] 1H -NMR(D_2O) (Bruker A V300) δ (ppm, 在4.7ppm处相对于 H_2O 而言): 1.43(3H, d, $J = 7Hz$, CH_3); 2.66(3H, s, CH_3SO_3H); 3.87(1H, q, $J = 7Hz$, H-2); 3.97(2H, bs, CH_2NR); 4.89(2H, s, CH_2OR); 6.88和7.23(4H, AA' XX' 芳族对-二取代的系统); 6.90÷7.22(4H, 芳族H)

[0240] ^{13}C -NMR(D_2O) (Bruker AV300) δ ppm: 15.68(CH_3); 38.27(CH_3SO_3H); 48.99(CH_2NR); 54.81(CH); 69.00(OCH_2); 114.15(d, $J_{C-F} = 21Hz$, 芳族CH); 114.76(d, $J_{C-F} = 20Hz$, 芳族CH); 115.38(芳族CH); 123.06(d, $J_{C-F} = 24Hz$, 芳族CH); 123.24; 130.29(d, $J_{C-F} = 6Hz$, 芳族CH); 131.54(芳族CH); 138.76(d, $J_{C-F} = 7Hz$, 芳族CH); 158.52; 162.89(d, $J_{C-F} = 245Hz$, C-F); 171.92(CO)

[0241] 实施例8

[0242] 通过分离中间体希夫碱(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)亚苄氨基]丙酰胺(VIa)制备高纯度(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(safinamide, Ia)

[0243] a) (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)亚苄氨基]丙酰胺(VIa)

[0244] 在室温和搅拌下和氮气环境中向如实施例 5 中制备的 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (60.0g 0.26mol) 和 L- 丙氨酰胺盐酸盐 (35.7g 0.29mol) 在甲醇 (280mL) 中的混悬液中加入三乙胺 (29.1g, 0.29mol)。再维持搅拌 1 小时。

[0245] 然后给该溶液接种几 mg (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 亚苄氨基] 丙酰胺, 使温度降至 5-10°C 并且持续搅拌 2 小时。

[0246] 通过过滤收集固体并且在 0°C 下用甲醇洗涤。

[0247] 在减压下干燥后, 获得 57.3g (产率 73.2%) 标题化合物, 通过 DSC (5°C /min) 的 m. p. 112.0°C。

[0248] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) (Bruker AV300) δ (ppm, 相对于在 2.55ppm 处的 TMS 而言; 在 3.35ppm 处的 DMSO 溶剂): 1.31 (3H, d, $J = 7\text{Hz}$, CH_3); 3.86 (1H, q, $J = 7\text{Hz}$, H-2); 5.18 (2H, s, CH₂OR); 7.08 和 7.79 (4H, AA' XX' 对 - 二取代的芳族系统); 7.10-7.50 (4H, m, 芳族 H); 8.27 (1H, s, CH = NR)。

[0249] $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) (Bruker AV300) δ (ppm): 20.5 (CH₃); 67.6 (CH); 68.4 (OCH₂); 114.1 e 114.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 21\text{Hz}$, 芳族) CH; 114.5 e 114.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 21\text{Hz}$; 芳族) CH; 114.8 (芳族) CH; 123.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 2\text{Hz}$, 芳族) CH; 129.0 和 129.9 (芳族) CH; 130.4 和 130.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 7\text{Hz}$, 芳族) CH; 139.6 和 139.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 6\text{Hz}$ 芳族季 C); 160.2; 160.5 和 163.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 245\text{Hz}$ C-F); 160.6 (CH = N); 174.8 (CO)

[0250] b) (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (Ia)

[0251] 给高压釜中加载如上所述制备的 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 亚苄氨基] 丙酰胺 (16.0g; 0.053mol) 和湿 (50% H₂O) Pt/C 5% (1.7kg; Engelhard S. r. l., Rome, Italy) 并且向其中加入甲醇 (90mL)。用氮气净化来自高压釜的空气且然后在 5.0 巴下导入氢气。将该反应钯维持在 5.0 巴和 35°C 下 1 小时。在冷却至室温并且通过过滤除去催化剂后, 在减压下蒸馏出溶剂, 直到获得约 30g 残余物。向该残余物中加入乙酸乙酯 (150mL) 和 H₂O (110mL) 的混合物并且将该不均匀混合物加热至 40°C, 直到获得两个澄清相。分离这两相并且在 40°C 下用 50mL 乙酸乙酯萃取水层。收集有机相并且蒸发至干。通过每次添加 90mL 乙酸乙酯将该操作重复两次而形成无水产物。然后缓慢并且在搅拌下向残余物中加入 95mL 正庚烷。然后将该混合物维持在搅拌和 20°C 下 3 小时。通过过滤收集形成的固体, 用正庚烷 (15mL) 洗涤并且在减压下干燥而得到 15.2g (94.8% 产率) safinamide, 其 HPLC 纯度为 99.8 (面积%, 参见实施例 17A), 并且通过 HPLC 测定的 (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺的含量低于 0.005% 重量 (参见实施例 17B)。

[0252] 实施例 9

[0253] 通过分离中间体希夫碱 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 亚苄氨基] 丙酰胺 (VIb) 制备高纯度 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (ralfinamide, Ib)

[0254] a) (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 亚苄氨基] 丙酰胺 (VIb)

[0255] 按照实施例 8, 步骤 a) 相同的操作, 但使用 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛而不是 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛制备 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 亚苄氨基] 丙酰胺, 产率 88%, m. p. 121°C (毛细管)。

[0256] $^1\text{H-NMR}$: (CDCl₃, 300MHz, 298K) δ (ppm, 相对于 TMS 而言): 1.46 (3H, d, $J = 7.0\text{Hz}$, CH₃); 3.91 (1H, q, $J = 7.0\text{Hz}$, CH-CO); 5.17 (2H, s, O-CH₂); 7.02 (2H, d, $J = 8.9\text{Hz}$ 位于 O-CH₂

邻位的芳族 H) ;7.09 (1H, ddd, $J_{\text{H-F}} = 9,78\text{Hz}$ $J_{\text{邻}} = 8,55\text{Hz}$ $J_{\text{间}} = 1,23\text{Hz}$ 位于 F 邻位的芳族 H) ;7.15 (1H, dt, $J_{\text{邻}} = 7,35\text{Hz}$ $J_{\text{间}} = 1,23\text{Hz}$ 位于 F 对位的芳族 H) ;7.27-7.40 (1H, m, 位于 CH_2 对位的芳族 H) ;7.48 (1H, dt, $J_{\text{邻}} = J_{\text{H-F}} = 7,35\text{Hz}$ $J_{\text{间}} = 1,53\text{Hz}$ 位于 CH_2 邻位的芳族 H) ;7.71 (2H, d, $J = 8,9\text{Hz}$ 位于 $\text{CH} = \text{N}$ 邻位的芳族 H) ;8.17 (1H, s, $\text{C} = \text{N}$)

[0257] ^{13}C -NMR : (CDCl_3 , 75.4MHz, 298K) δ (ppm) :21.4 (CH_3) ;63.8 (OCH_2) ;68.4 (H_2NCOCH) ;115.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 22.4\text{Hz}$, 芳族 CH), 115.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 20.7\text{Hz}$, 芳族 CH) ;123.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 14.4\text{Hz}$, 季芳族 C) ;124.5 (bd, 芳族 CH) ;129.0 (季芳族 C) ;129.8 (bd, 芳族 CH) ;130.1 (bd, 2 芳族 CH) ;160.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 246.4\text{Hz}$, 季芳族 C) ;161.1 (芳族 C-O) ;161.1 ($\text{C} = \text{N}$) ;176.9 (CONH_2)

[0258] b) (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (Ib)

[0259] 按照实施例 8, 步骤 b) 相同的操作, 由 (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)亚苄氨基]丙酰胺制备 (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺, 产率 93%。通过 HPLC 测定的 (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺含量为 0.02% 重量 (参见实施例 17B)。

[0260] 实施例 10

[0261] (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐 (IIc) 的制备

[0262] a) 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (Va)

[0263] 在保持在氮气环境中的 4L 圆底烧瓶中依次加入 4-羟基-苯甲醛 (400g, 3.28mol), 碳酸钾 (453g, 3.28mol), 甲苯 (2L) 和 3-氟苄基氯 (1400g, 9.68mol) 并且将该混合物在搅拌下回流 5 天, 此时 GC 分析揭示出该反应混合物包含 91.4:8.6 比例的 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛和 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (面积/面积, 参见实施例 16A)。

[0264] 将该反应混合物冷却至室温且然后在搅拌下加入 2L 水。分离有机相并且在减压和 35°C 下蒸馏出溶剂 (20mmHg), 直到不再有溶剂通过。然后使压力降至 3mmHg 并且使外部温度升至 300°C 且收集在 255°C -265°C 蒸馏的级分 (40.6g)。

[0265] GC 分析显示标题化合物的 C, 0-二苄基化衍生物 (Va) 与一烷基化物 (IVa) 的面积/面积比为 99.6:0.4。(面积/面积, 参见实施例 16A)。

[0266] ^1H -NMR (CDCl_3) (Bruker AV300) δ (ppm, 相对于 TMS 而言) :4.05 (2H, s, CH_2) ;5.13 (2H, s, OCH_2) ;6.85-7.40 (9H, m, 芳族 H) ;7.73-7.79 (2H, m, 位于 $\text{C} = \text{O}$ 邻位的芳族 H) ;9.88 (s, CHO)。

[0267] ^{13}C -NMR (CDCl_3) (Bruker AV300) δ (ppm) :36.1 (CH_2) ;69.4 (CH_2O) ;111.4 (芳族 CH) ;112.9 和 113.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 20\text{Hz}$, 芳族 CH), 113.9 和 114.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 22\text{Hz}$, 芳族 CH) ;114.9 和 115.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 21\text{Hz}$, 芳族 CH) ;115.7 e 115.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 25\text{Hz}$ 芳族 CH) ;122.6 (d, $J_{\text{C-F}} = 3\text{Hz}$, 芳族 CH) ;124.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 3\text{Hz}$, 芳族 CH) ;129.6 和 129.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 8\text{Hz}$, 芳族 CH) ;(d, $J_{\text{C-F}} = 7\text{Hz}$, 季芳族 C) ;129.9 (C 季芳族 C) ;130.0 (季芳族 C) ;130.1 和 130.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 7\text{Hz}$, CH 芳族) ;131.2 (芳族 CH) ;131.5 (芳族 CH) ;138.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 7\text{Hz}$, 季芳族 C) ;142.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 7\text{Hz}$, 季芳族 C) ;161.0, 161.2 和 164.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 240, 2 \text{ C-F 重叠}$) ;190.8 (CHO)。

[0268] b) (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺 (IIa)

[0269] 在室温下向在 500mL 烧瓶中的 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (35.6g, 0.105mol) 中加入预先通过在搅拌下将三乙胺 (12g, 0.119mol) 谨慎加入到 L- 丙氨酰胺盐酸盐 (14.8g, 0.119mol) 的 170 mL 甲醇溶液中制备的溶液。

[0270] 将该反应混合物在室温下搅拌 1 小时且然后将其转入 1.8L 高压釜并且添加 3.4g 湿 (50% H₂O)Pt/C 5%。

[0271] 用氮气净化来自高压釜的空气且然后在 5.0 巴下导入氢气。

[0272] 该反应在 35℃ 的温度下进行 3-5 小时。

[0273] 在冷却至室温并且通过过滤除去催化剂后,在减压下蒸馏出溶剂,直到获得约 65g 残余物。向该残余物中加入乙酸乙酯 (340mL) 和水 (250mL) 的混合物并且将该不均匀混合物温至 40℃ 且在不搅拌下保持在该温度下,直到获得两个澄清相。分离两相并且在减压下蒸馏有机相,直到获得约 50g 残余物。

[0274] 将该残余物溶于 220mL 乙酸乙酯并且在减压与 40℃ 外部温度下蒸馏出溶剂。将该操作重复两次并且获得标题化合物,为固体残余物。

[0275] c) (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐 (IIc)

[0276] 在 2L 玻璃反应器中将 42.4g (0.103mol) (S)-3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺碱溶于 950mL 乙酸乙酯。

[0277] 在搅拌和 50-55℃ 下加热该溶液并且将其保持在该温度下 1 小时。在 20 分钟内向该溶液中加入 14.5g (0.15mo) 甲磺酸并且在 90 分钟内使温度降至 20℃。30 分钟后,通过过滤收集固体,在 50℃ 和减压下干燥且然后从甲醇 (甲醇:产物 1:5 重量) 中结晶而得到 25.1g (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐, m. p. 181℃ (毛细管)。

[0278] ¹H-NMR (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm, 相对于 TMS 而言): 1.44 (3H, d, J = 7Hz, CH₃); 2.35 (3H, s, CH₃SO₃); 3.81 (1H, q, J = 7Hz, H-2); 3.99 (2H, bs, CH₂ 苄型); 4.02 (2H, AB 系统, CH₂N-); 5.17 (2H, s, CH₂OR); 6.98-7.63 (11H, m, 芳族 H); 7.62 和 7.75 (2H, bs, NH₂ 酰胺); 9.02 (2H, 宽峰, NH₂⁺)。

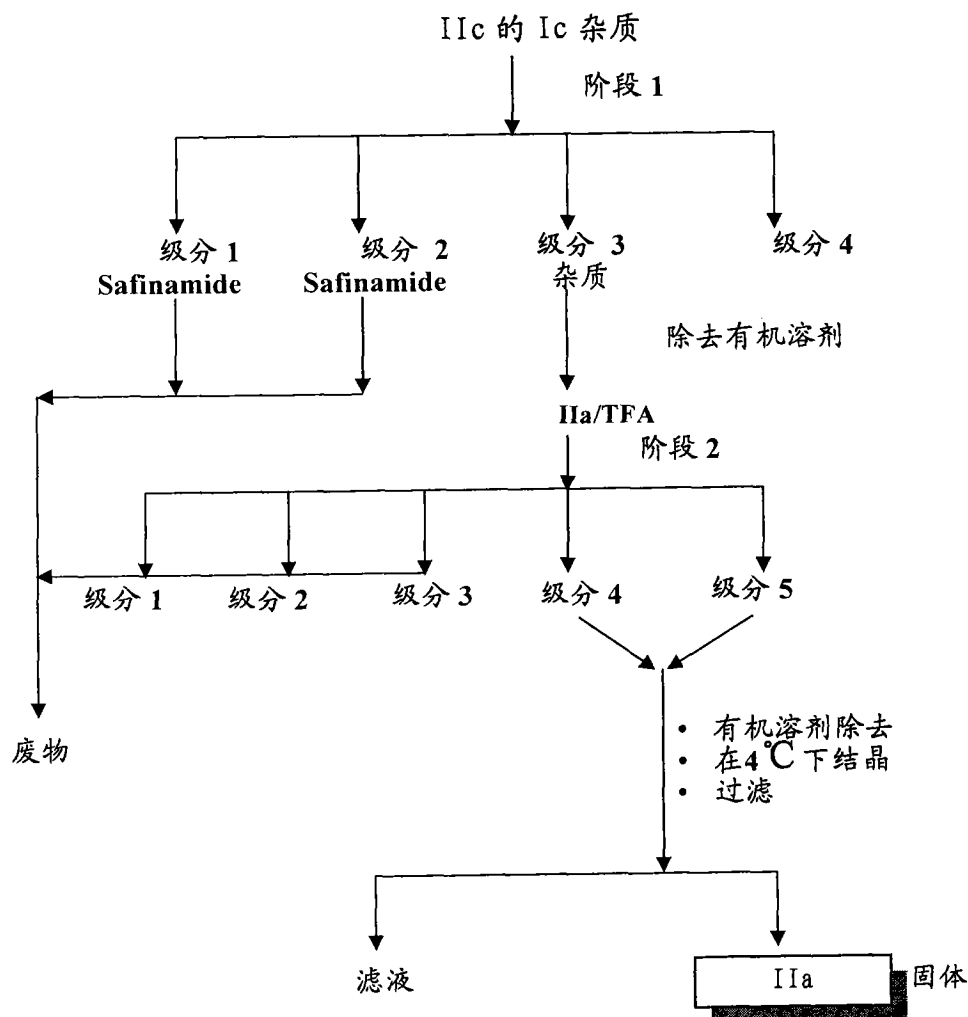
[0279] ¹³C-NMR (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm): 15.9 (CH₃); 35.5 (CH₂); 39.7 (CH₃SO₃H); 48.1 (CH₂NR); 54.4 (CH); 68.4 (OCH₂); 112.2 (芳族 CH); 112.7 (d, J_{C-F} = 22Hz, 芳族 CH); 113.8 (d, J_{C-F} = 22Hz, 芳族 CH); 114.5 (d, J_{C-F} = 22Hz, 芳族 CH); 115.2 (d, J_{C-F} = 22Hz, 芳族 CH); 123.2 (芳族 CH); 123.8; 124.6 (芳族 CH); 128.7 和 130.0 (d, J_{H-C-F} = 6Hz, 芳族 CH); 130.04 (芳族 CH); 130.3 (d, J_{C-F} = 6Hz, 芳族 CH); 132.6 (芳族 CH); 139.8 (d, J_{C-F} = 7Hz); 143.4 (d, J_{C-F} = 7Hz); 158.1, 160.5 和 163.7 (d, J_{C-F} = 240, C-F); 160.6 和 163.8 (d, J_{C-F} = 240, C-F); 170.5 (CON)。

[0280] 还通过制备型 HPLC, 从按照 J. Med. Chem., 1998, 41, 579, 方法 A 制备的 200g safinamide 甲磺酸盐 (Ic) 中样品分离 (90mg) (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺 (IIa), 它包含作为甲磺酸盐 (IIc) 的 0.12% 重量。

[0281] 按照下列方案的两阶段进行分离 (阶段 1 和阶段 2):

[0282] 通过制备型 HPLC 分离污染有 0.12% 重量的 IIc 的 safinamide 甲磺酸盐 (Ic)

[0283]



[0284] 阶段 1

[0285] 第一阶段的范围在于分离富含在 IIa/TFA(三氟乙酸)中的粗产物。

[0286] 将制备型 HPLC 条件报道如下：

[0287] 制备型 HPLC 条件：

[0288] 仪器：Waters Delta Prep 4000(往复式泵，具有低压混合器的梯度控制器)

[0289] Radial Compression Module Prep LC Base(Waters)

[0290] Jasco 7125 UV- 可变检测器，o. p. 0.2mm

[0291] Merk D2000 打印机 - 绘图仪

[0292] 柱：Delta Pak C18, 15 μm, 40x100mm(Waters)

[0293] 洗脱液 A：70/30, 水 / 乙腈 +0.1% TFA

[0294] 洗脱液 B：30/70, 水 / 乙腈 +0.1% TFA

[0295] 流速：27.0ml/min

[0296] 梯度：40min, 等度 100% A, 然后在 1 分钟内 100% B

[0297] 检测：UV 227nm

[0298] 注射：在 50ml 水中 5g(通过泵入口管线 D)

[0299] 阶段 2

[0300] 需要该阶段以便从 IIa/TFA 中消除 TFA 并且进一步纯化 IIa。

[0301] 使用如下给出的制备型 HPLC 条件对 IIa/TFA 进行色谱。

[0302] 将级分 4 和 5 彼此合并并且在 40℃下和真空中蒸发至完全除去乙腈。将残留水溶液保存在 4℃的冷藏箱内。通过过滤分离不溶性物质并且在室温下和真空中干燥而得到 IIa (90mg ;HPLC 纯度 100%)。

[0303] 制备型 HPLC 条件：

[0304] 仪器：Waters Delta Prep 4000 (往复泵，具有低压混合器的梯度控制器)

[0305] Jasco 7125 UV- 可变检测器，o. p. 0. 2mm

[0306] Merk D2000 打印机 - 绘图仪

[0307] 柱：Symmetry C18, 7 μ m, 20x250mm (Waters)

[0308] 洗脱液 A :70/30, 水 / 乙腈

[0309] 洗脱液 B :30/70, 水 / 乙腈

[0310] 流速：15. 0ml/min

[0311] 梯度：20min, 等度 100% A, 然后在 10 分钟内 100% B

[0312] 检测：UV 227nm

[0313] 注射：50ml 杂质“IIa/TFA”溶液 (通过泵入口管线 D)

[0314] 实施例 11

[0315] (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐 (IIId) 的制备

[0316] a) 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (Vb)

[0317] 按照实施例 10, 步骤 a) 的相同操作, 但使用 2- 氟苄基氯而不是 3- 氟苄基氯按照 1:10 的比例制备 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛。摩尔产率为 3%, 通过 GC 分析测定的纯度为 98. 1 (面积%, 参见实施例 16A)。该产物具有 m. p. 71℃ (毛细管)。

[0318] $^1\text{H-NMR}$: (CDCl₃, 300MHz, 298K) δ (ppm, 相对于 TMS) : 4. 06 (2H, s, CH₂) ; 5. 23 (2H, s, OCH₂) ; 6. 95-7. 40 (9H, m, 芳族 H) ; 7. 67 (1H, bd, J = 0. 9Hz, 芳族 H 邻位于 C = O 和 CH₂) ; 7. 76 (1H, dd, J₁ = 2. 1Hz, J₂ = 8. 3Hz, 位于 C = O 邻位的芳族 H 和芳族 CH) ; 9. 84 (1H, s, CHO)。

[0319] $^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl₃, 75. 4MHz, 298K) δ (ppm) : 29. 2 (CH₂) ; 64. 1 (OCH₂) ; 111. 4 (芳族 CH) ; 115. 4 (d, J_{C-F} = 22. 0Hz, 芳族 CH) ; 115. 5 (d, J_{C-F} = 21. 1Hz, 芳族 CH) ; 123. 3 (d, J_{C-F} = 14. 2Hz, 季芳族 C) ; 124. 1 (d, J_{C-F} = 2. 6Hz, 芳族 CH) ; 124. 5 (d, J_{C-F} = 3. 2Hz, 芳族 CH) ; 126. 6 (d, J_{C-F} = 15. 5Hz, 季芳族 C) ; 128. 2 (d, J_{C-F} = 8. 1Hz, 芳族 CH) ; 129. 6 (d, J_{C-F} = 6. 2Hz, 芳族 CH) ; 129. 6 (季芳族 C) ; 130. 0 (季芳族 C) ; 130. 2 (d, J_{C-F} = 8. 3Hz, 芳族 CH) ; 131. 1 (芳族 CH) ; 131. 3 (d, J_{C-F} = 4. 1Hz, 芳族 CH) ; 131. 8 (芳族 CH) ; 160. 5 (d, J_{C-F} = 246. 8Hz, 季芳族 C) ; 161. 2 (d, J_{C-F} = 245. 1Hz, 季芳族 C) ; 161. 3 (季芳族 C) ; 191. 1 (CHO)。

[0320] b) (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基)- 苄氨基] 丙酰胺 (IIb)

[0321] 按照实施例 10, 步骤 b) 的相同操作, 通过使用 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛而不是 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛制备 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基]- 丙酰胺。产率为 83% ; m. p. 161℃ (毛细管)。

[0322] $^1\text{H-NMR}$: (CDCl₃, 300MHz, 298K) δ (ppm, 相对于 TMS 而言) : 1. 32 (3H, d, J = 6. 7Hz, CH₃) ; 1. 97 (1H, bs, NH) ; 3. 22 (1H, q, J = 6. 7Hz, CH-CO) ; 3. 67 (2H, ABq, J = 12. 8Hz, NCH₂ 的非对映异位 H) ; 4. 03 (2H, s, CH₂) ; 5. 12 (2H, s, OCH₂) ; 5. 98 (1H, bs, NH₂) ; 6. 89 (1H, d, J_邻 =

8.3Hz, 位于 CH_2NH 邻位的芳族 H 和芳族 CH); 6.95–7.40 (10H, m, 芳族 H)。

[0323] ^{13}C -NMR: (CDCl_3 , 75.4MHz, 298K) δ (ppm): 19.6 (CH_3); 29.2 (CH_2); 52.0 (NHCH_2); 57.7 (H_2NCOCH); 63.8 (OCH_2); 111.7 (芳族 CH); 115.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 21.9\text{Hz}$, 芳族 CH); 115.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 21.3\text{Hz}$, 芳族 CH); 124.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.5\text{Hz}$, 芳族 CH); 124.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 2.9\text{Hz}$, 芳族 CH); 124.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 14.4\text{Hz}$, 季芳族 C); 127.5 (芳族 CH); 127.6 (d, $J_{\text{C-F}} = 15.0\text{Hz}$, 季芳族 C); 127.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 7.5\text{Hz}$, 芳族 CH); 128.8 (季芳族 C); 129.0–130.0 (m, 2 芳族 CH); 130.5 (芳族 CH); 131.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 4.6\text{Hz}$, 芳族 CH); 131.8 (季芳族 C); 155.6 (季芳族 C); 160.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 245.8\text{Hz}$, 季芳族 C); 161.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 244.6\text{Hz}$, 季芳族 C); 178.2 (CONH_2)。

[0324] c) (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐 (II d)

[0325] 按照实施例 10, 步骤 c) 的相同操作, 但使用 (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺作为原料制备 (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐。产率为 89%; m. p. 190°C (毛细管)。

[0326] ^1H -NMR: ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz, 298K) δ (ppm, 相对于 TMS 而言): 1.42 (3H, d, $J = 6.8\text{Hz}$, CH_3CH); 2.33 (3H, s, CH_3SO_3); 3.50–4.20 (5H, m, CH-CO , CH_2 , NCH_2 的非对映异位 H); 5.19 (2H, s, OCH_2); 6.95–8.00 (11H, m, 芳族 H); 9.02 (2H, bs, NH_2^+)。

[0327] ^{13}C -NMR: ($\text{DMSO}-d_6$, 75.4MHz, 298K) δ (ppm): 16.5 (CH_3); 28.8 (CH_2); 48.6 (NHCH_2); 54.9 (H_2NCOCH); 64.3 (OCH_2); 112.8 (芳族 CH); 115.0–117.0 (2 芳族 CH); 124.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 14.4\text{Hz}$, 季芳族 C); 124.4 (季芳族 C); 124.8 (芳族 CH); 125.0 (芳族 CH); 127.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 16.1\text{Hz}$, 季芳族 C); 128.6 (季芳族 C); 128.8 (芳族 CH); 129.0–133.0 (m, 5 芳族 CH); 156.9 (季芳族 C); 160.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 245.2\text{Hz}$, 季芳族 C); 160.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 243.5\text{Hz}$, 季芳族 C); 171.1 (CONH_2)。

[0328] 实施例 12

[0329] 由污染了 1% 重量的杂质 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (Va) 的 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (IVa) 制备 (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (safinamide) 甲磺酸盐 (Ic)

[0330] 向 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (10g; GC 纯度 98.8, 面积%) 中加入 1% 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛并且按照实施例 6 相同的操作将该混合物转化成 (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 safinamide 碱。产率为 84%, 且杂质 (IIa) 的含量为 0.84% (参见实施例 17B) 重量。

[0331] 按照实施例 7 相同的操作将游离碱 (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (Ia) 转化成相应的甲磺酸盐而得到甲磺酸盐 (Ic), 产率 98%, 而通过 HPLC 测定的杂质 (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐 (IIc) 的含量为 0.62% 重量 (参见实施例 17B)。

[0332] 实施例 13

[0333] 污染杂质 (IIc) 的 safinamide 甲磺酸盐 (Ic) 的结晶

[0334] 通过使用五种不同溶剂系统, 经在回流温度下溶解并且在室温下冷却使按照实施例 12 获得的通过 HPLC 测定的 (参见实施例 17B) 污染有 0.62% 重量 (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐 (IIc) 的 safinamide 甲磺酸盐结晶。

[0335] 将结果报道在下表 5 中。

[0336] 表 5

[0337]

测试序号	溶剂系统和量 (mL/g)	结晶后 IIc 在 Ic 中的 % w/w(*)	%摩尔产率
13a	2-PrOH/MeOH 2:1, 45	0.28	44.9
13b	EtOAc/MeOH 4:1, 50	0.15	29.6
13c	EtOH, 10	0.30	73.2
13d	丙酮/H ₂ O ~ 27:1, 40.5	0.08	20.6
13e	乙腈/H ₂ O 60:1, 30.5	0.09	69.3

[0338] (*) 按照实施例 17B 评估 % (w/w)。

[0339] 实施例 14

[0340] 按照现有技术中所述的方法制备 (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (safinamide, Ia) 甲磺酸盐 (Ic)

[0341] 14.1 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (IVa) 的制备

[0342] 14.1.a) US 6,335,354 B2 的实施例 1a 的操作

[0343] 通过 US 6,335,354 B2 的实施例 1a 中所述的操作制备 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (IVa)。

[0344] 因此,将 3-氟苄基氯 (2.86g, 19.80mmol) 4-羟基苯甲醛 (3.03g, 24.80mmol), K₂CO₃ (10.30g, 74.50mmol), NaI (137.1mg, 0.91mmol) 和乙醇 (40mL) 的混合物在 70 分钟内加热至回流并且保持在回流温度下 4 小时和 15 分钟。

[0345] 在后处理该反应混合物后,分离 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛,为黄色油状物,产率 95%。

[0346] 该产物具有的 GC 纯度为 97.6 (面积%, 参见实施例 16A), 且通过 GC 测定的 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (Va) 含量为 0.14% 重量 (参见实施例 16B)。

[0347] 14.1.b) J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979 的操作

[0348] 通过 J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979 中报道的操作制备 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (IVa)。

[0349] 因此,在搅拌下和氮气环境中向 4-羟基苯甲醛 (12.2g, 100mmol) 和 NaOH (4.0g, 100mmol) 在乙醇 (100mL) 中的溶液中加入 3-氟苄基氯 (14.5g, 100mmol)。

[0350] 将该混合物在 25 分钟内逐步加热至并且在回流温度下搅拌 6 小时和 20 分钟。过滤该反应混合物且然后在减压下浓缩至得到 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (23.43g), 为黄色固体残余物。向该残余物中加入二氯甲烷 (250mL), 过滤不溶性物质并且在减压下浓缩所得溶液而得到 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛, 为黄色固体, 产率 80.4%。

[0351] 该产物具有的 GC 纯度为 91.6 (面积%, 参见实施例 16A), 且通过 GC 测定的 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (Va) 含量为 0.13% 重量 (参见实施例 16B)。

[0352] 14.2 (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (Ia) 及其甲磺酸盐 (Ic) 的制备

[0353] 14.2.a) J. Med. Chem., 1998, 41, 579, 方法 A 的操作

[0354] 通过使如实施例 14.1.a. 中所述制备的 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛 (10mmol) 和 L-丙氨酰胺盐酸盐 (1.37g, 11mmol) 反应, 随后使用 NaBH₃CN (0.50g, 8mmol) 进行还原制备 (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (Ia)。在后处理该反应混合物并且通过快速色谱法纯化后, 分离 (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺, 为白色固体, 产率 68.7%。该产物具有的 HPLC 纯度为 96.2 (面积%, 参见实施例 17A), 且 (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟

苄氧基)-苄氨基]丙酰胺(IIa)含量为0.15%重量(参见实施例17B)。

[0355] 将(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(1.50g, 4.96mmol)和乙酸乙酯(40.2mL)的混合物加热至50℃,直到获得澄清溶液。在搅拌下和15分钟内向该溶液中加入甲磺酸(0.53g, 5.51mmol)并且在搅拌下和90分钟内将所得不均匀混合物冷却至20℃。在20℃下30分钟后,通过过滤收集固体,用乙酸乙酯(6mL)洗涤并且在50℃和减压下干燥15hrs而得到(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐(Ic),为白色固体,产率96.1%。该产物具有的HPLC纯度为98.6(面积%,参见实施例17A),且通过HPLC测定的(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐(IIc)含量为0.10%重量(参见实施例17B)。

[0356] 14.2.b) J. Med. Chem., 1998, 41, 579, 方法A的操作

[0357] 按照实施例14.2.a,由如实施例14.1.b.中所述制备的4-(3-氟苄氧基)苯甲醛(10mmol)和L-丙氨酸盐酸盐(1.37g, 11mmol),随后使用NaBH₃CN(0.50g, 8mmol)还原制备(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(Ia)。

[0358] 分离(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(Ia),为白色固体,产率66.5%。该产物具有的HPLC纯度为88.5(面积%,参见实施例17A),且通过HPLC测定的(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺(IIa)含量为0.064%重量(参见实施例17B)。按照实施例14.2.a,通过用甲磺酸处理将(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(Ia)转化成相应的甲磺酸盐(Ic),产率88.9%。该产物具有的HPLC纯度为97.7(面积%,参见实施例17A),且通过HPLC测定的(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐(IIc)含量为0.05%重量(参见实施例17B)。

[0359] 实施例15

[0360] 按照现有技术中所述方法制备(S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(ralfinamide, Ib)甲磺酸盐(Id)

[0361] 15.1 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛(IVb)的制备

[0362] 15.1.a) US 6,335,354 B2 的实施例1a的操作

[0363] 按照实施例14.1.a),由2-氟苄基氯(14.3g, 98mmol), 4-羟基苯甲醛(15.1g, 123mmol), K₂CO₃(51g, 369mmol), NaI(500mg, 3.3mmol) 乙醇75mL制备4-(2-氟苄氧基)苯甲醛(IVb)。

[0364] 将该混合物保持在回流状态下12hrs。在后处理该反应混合物,获得4-(2-氟苄氧基)苯甲醛,产率75%,为黄色油状物。该产物具有的GC纯度为92.1(面积%,参见实施例16A),且通过GC测定的3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苯甲醛含量为0.25%重量(参见实施例16B)。

[0365] 15.1.b) J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979 的操作

[0366] 按照实施例14.1.b,由2-氟苄基氯(18.0g, 123mmol), 4-羟基-苯甲醛(15.3g, 125mmol), NaOH(5.0g, 12mmol)和乙醇(125mL)制备4-(2-氟苄氧基)苯甲醛(IVb)。

[0367] 将该混合物在25分钟内加热至回流并且在搅拌下保持在回流温度下12小时。

[0368] 在按照实施例14.1.b后处理该反应混合物后,获得4-(2-氟苄氧基)苯甲醛,为黄色固体,产率90.0%。该产物具有的GC纯度为90.4(面积%,参见实施例16A),且通过G.C.测定的3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苯甲醛(Vb)含量为0.14%重量(参见实施

例 16B)。

[0369] 15.2 (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (Ib) 及其甲磺酸盐 (Id) 的制备

[0370] 15.2. a) J. Med. Chem, 1998, 41, 579, 方法 A 的操作

[0371] 按照实施例 14.2. a 的操作, 通过使用 4-(2-氟苄氧基) 苯甲醛 (10 mmol, 如实施例 15.1a 中所述制备) 而不是 4-(3-氟苄氧基) 苯甲醛制备 (S)-2-[4-(2-氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (Ib)。

[0372] 获得 (S)-2[4-(2-氟苄氧基)(苯亚甲基氨基)] 丙酰胺, 产率 67.3%, 为白色固体。该产物具有的 HPLC 纯度为 86.7 (面积%, 参见实施例 17A), 且通过 HPLC 测定的 (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)-苄氨基] 丙酰胺 (IIb) 含量为 0.22% 重量 (参见实施例 17B)。

[0373] 将 (S)-2[4-(2-氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (1.50g, 4.96mmol) 和 丙-2-醇 (10.5mL) 的混合物加热至 50°C 并且保持在该温度下, 直到获得澄清溶液。在搅拌下和 15 分钟内加入甲磺酸 (0.48g, 5.01mmol)。

[0374] 然后在搅拌下和 2 小时内将该不均匀混合物冷却至 20°C。在 20°C 下 1 小时后, 通过过滤收集固体, 在减压下干燥而得到 (S)-2[4-(2-氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐, 为白色固体, 产率 89.1%。该产物具有的 HPLC 纯度为 96.9 (面积%, 参见实施例 17A), 且通过 HPLC 测定的 (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐 (IIId) 含量为 0.14% 重量 (参见实施例 17B)。

[0375] 15.2. b) J. Med. Chem. 1998, 41, 579, 方法 A 的操作

[0376] 按照实施例 14.2. b, 通过使用 4-(2-氟苄氧基) 苯甲醛 (10mmol, 按照实施例 15.1. b 制备) 而不是 4-(3-氟苄氧基) 苯甲醛制备 (S)-2-[4-(2-氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (Ib)。

[0377] 获得 (S)-2-[4-(2-氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺, 为白色固体, 产率 58.8%。该产物具有的 HPLC 纯度为 83.8 (面积%, 参见实施例 17A), 且通过 HPLC 测定的 (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)-苄氨基] 丙酰胺 (IIb) 含量为 0.15% 重量 (参见实施例 17B)。

[0378] 将 (S)-2-[4-(2-氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (Ib) 转化成相应的甲磺酸盐 (Id), 产率 89.4%, 为白色固体。该产物具有的 HPLC 纯度为 95.2 (面积%, 参见实施例 17A), 且通过 HPLC 测定的 (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)-苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐含量为 0.11% 重量 (参见实施例 17B)。

[0379] 实施例 16A

[0380] 4-(3-氟苄氧基) 苯甲醛和 4-(2-氟苄氧基) 苯甲醛纯度的 GC 测定

[0381] 测试制品

[0382] 将约 100mg 样品溶于 10ml 二氯甲烷。

[0383] 色谱条件

[0384] 通过使用如下条件与如下温度程序进行色谱操作:

[0385] -60m 长和 0.32mm 内径的熔融石英毛细管柱。RTX 35 (35% 二苯基-65% 二甲基聚硅氧烷) 薄膜厚度 = 0.25 μ m;

[0386] -在 150kPa 压力下作为载气的氮;

[0387] -25ml/min 的分流;

- [0388] - 注射温度 290℃ ;
 [0389] - 检测器 (FID) 温度 290℃ ;
 [0390]

时间 (min)	温度 (℃)	速率 (℃ /min)	注解
0-5	150	-	等温线
5-11	150 → 240	15	线性梯度
11-19	240	-	等温线
19-20.7	240 → 290	30	线性梯度
20.7-40	290	-	等温线

- [0391] 操作
 [0392] 注射 1 μl 测试制品。记录色谱图并且根据面积百分比计算来计算产物纯度。

[0393] 杂质鉴定

- [0394] 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVa) ;

[0395] 保留时间:

- [0396] 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛保留时间约为 17。
 [0397] 4- 羟基苯甲醛相对保留时间约为 0.52。
 [0398] 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛相对保留时间约为 0.98。
 [0399] 4-(4- 氟苄氧基) 苯甲醛相对保留时间约为 1.01。

- [0400] 4- 苄氧基苯甲醛相对保留时间约为 1.02。

- [0401] 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛相对保留时间约为 1.78。

- [0402] 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVb) ;

[0403] 保留时间:

- [0404] 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛保留时间约为 17。
 [0405] 4- 羟基苯甲醛相对保留时间约为 0.53。
 [0406] 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛相对保留时间约为 1.02。
 [0407] 4-(4- 氟苄氧基) 苯甲醛相对保留时间约为 1.03。

- [0408] 4- 苄氧基苯甲醛相对保留时间约为 1.04。

- [0409] 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛相对保留时间约为 1.81。

[0410] 实施例 16B

- [0411] 在 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVb) 中的 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛 (Vb) 和在 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (IVa) 中的 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛 (Va) 的含量的 GC 测定

- [0412] 考虑到 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛的已知相关物质为 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛并且对 4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛而言为 3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苯甲醛。按照下列条件进行测定:

[0413] 内标溶液

- [0414] 制备具有在二氯甲烷中 1.5mg/ml 浓度的 3,4,5- 三甲氧基苯甲醛溶液 (IS)。

- [0415] 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛中的 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛测定的参比溶液:

- [0416] 将约 20mg 3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛参比标准品和 20mg 4-(2- 氟苄氧基) 苯甲醛参比标准品精确称入 20mL 容量瓶, 溶解并且使用稀释剂稀释至体积; 将

500 μ L 该溶液转入 5mL 容量瓶,加入 500 μ L IS 溶液并且使用稀释剂稀释至体积而得到含约 100 μ g/mL (相当于约 0.10%) 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苯甲醛和 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛的溶液。

[0417] 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛中的 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛测定的参比溶液:

[0418] 将约 20mg 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛参比标准品和 20mg 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛参比标准品精确称入 20mL 容量瓶,溶解并且使用稀释剂稀释至体积;将 500 μ L 该溶液转入 5mL 容量瓶,并且加入 500 μ L IS 溶液并且使用稀释剂稀释至体积而得到含约 100 μ g/mL (相当于约 0.10%) 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛和 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛的溶液。

[0419] 测试溶液:

[0420] 将约 500mg 测试产物精确称入 5mL 容量瓶,并且加入 500 μ L IS 溶液并且使用稀释剂稀释至体积而得到具有约 100mg/mL 已知浓度的溶液。

[0421] 色谱条件:

[0422] 通过使用如下条件进行色谱操作:

[0423] - 柱:熔融石英毛细管柱 RTX 35(35%二苯基-65%二甲基聚硅氧烷)60m 长, 0.32mm I.D., 薄膜厚度 0.25 μ m;

[0424] 在 150kPa 压力下的载体(氦);

[0425] - 分流 25mL/min;

[0426] - 注射温度 290°C;

[0427] - 检测器(FID)温度 290°C;

[0428] - 温度程序:在 150°C 等温线 0-5min,从 150°C 到 240°C 以 15°C/min 的速率线性 5-11min,在 240°C 等温线 11-19min,从 240°C 到 290°C 以 30°C/min 的速率线性 19-21min,在 290°C 等温线 21-40min;

[0429] - 稀释剂:二氯甲烷

[0430] - 注射体积 1 μ L。

[0431] 操作:

[0432] 注射空白溶液(稀释剂),参比溶液,测试溶液并且记录色谱图。

[0433] 在参比色谱图中验证了:

[0434] 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛保留时间约为 18min;

[0435] 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苯甲醛相对保留时间约为 1.7;

[0436] 或

[0437] 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛保留时间约为 18min;

[0438] 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛相对保留时间约为 1.7。

[0439] 3,4,5-三甲氧基苯甲醛(IS)相对保留时间约为 0.7

[0440] 计算通过内标计算检验的 3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苯甲醛在 4-(2-氟苄氧基)苯甲醛中的百分比含量或 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苯甲醛在 4-(3-氟苄氧基)苯甲醛中的百分比含量。

[0441] (3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苯甲醛和 3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)

苯甲醛的定量限 (LOQ) 值为 0.005 % 重量。对两者考虑到的杂质的检测限 (LOD) 值为 0.0025 % 重量。

[0442] 实施例 17A

[0443] (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (safinamide Ia), 其甲磺酸盐 (Ic), (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (ralfinamide Ib) 及其甲磺酸盐 (Id) 纯度的 HPLC 测定 (基)-4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (游离碱和甲磺酸盐) 的百分比含量。

[0444] 下列色谱操作适合于产物的游离碱形式 (Ia, Ib) 和甲磺酸盐 (Ic, Id)。

[0445] 稀释剂

[0446] 流动相。

[0447] 测试溶液

[0448] 将约 25mg 测试产物精确称入 25mL 容量瓶, 溶解并且使用稀释剂稀释至体积而得到具有约 1.0mg/ml 已知浓度的溶液。

[0449] 色谱条件

[0450] 通过使用如下条件进行色谱操作:

[0451] - 柱: Waters Symmetry C8, 150x4.6mm, 5 μ ;

[0452] - 检测: UV 220nm ;

[0453] - 柱温: 30°C

[0454] - 流动相: 40 % 溶剂 A+10 % 溶剂 B+50 % 溶剂 C, 含 1.0g/l 辛硫酸钠 (sodium octansulphonate) ;

[0455] 溶剂 A: 缓冲溶液 = KH_2PO_4 0.05M ;

[0456] 溶剂 B: 乙腈 ;

[0457] 溶剂 C: 甲醇 ;

[0458] - 等度洗脱, 运行时间: 60 分钟 ;

[0459] - 流速: 1.0ml/min ;

[0460] - 注射体积: 10 μ l。

[0461] 操作

[0462] 注射测试溶液, 记录色谱图并且根据面积百分比计算来计算产物纯度。

[0463] (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (safinamide) 和相关杂质的鉴定

[0464] 保留时间:

[0465] (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺保留时间约为 5.5min。

[0466] (S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酸相对保留时间约为 0.73。

[0467] (S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺相对保留时间约为 4.08。

[0468] (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺 (ralfinamide) 和相关杂质的鉴定

[0469] 保留时间:

[0470] (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺保留时间约为 5.5min。

[0471] (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酸相对保留时间约为 0.73。

[0472] (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)-苄氨基]丙酰胺相对保留时间约为 4.08。

[0473] 实施例 17B

[0474] 在 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (游离碱, Ib 和甲磺酸盐, Id) 中的 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (游离碱, IIb 和甲磺酸盐, IIId) 和在 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (游离碱, Ia 和甲磺酸盐, Ic) 中的 (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (游离碱 IIa 和甲磺酸盐, IIc) 的 HPLC 测定

[0475] 在 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (游离碱和甲磺酸盐) 样品中的 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (游离碱和甲磺酸盐) 和在 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (游离碱和甲磺酸盐) 样品中的 (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (游离碱和甲磺酸盐) 的测定按照下列条件进行:

[0476] 用于在 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺中的 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺测定的参比溶液:

[0477] 将约 30mg (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐参比标准品和 20mg (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺参比标准品精确称入 50mL 容量瓶, 溶解并且使用稀释剂稀释至体积; 使用稀释剂将 1.0mL 该溶液稀释至 20mL (第 1 次稀释); 使用稀释剂将 1.0mL 最终溶液稀释至 20mL (第 2 次稀释), 从而得到含约 1.20 μ g/mL 2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (约 0.12%) 和约 1.00 μ g/mL (约 0.10%) (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐的溶液。

[0478] (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐中的 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐测定的参比溶液:

[0479] 将约 30mg (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐参比标准品和 20mg (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐参比标准品精确称入 50mL 容量瓶, 溶解并且使用稀释剂稀释至体积; 使用稀释剂将 1.0mL 该溶液稀释至 20mL (第 1 次稀释); 使用稀释剂将 1.0mL 最终溶液稀释至 20mL (第 2 次稀释), 从而得到含约 1.20 μ g/mL 2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (约 0.15% 甲磺酸盐) 和约 1.00 μ g/mL (约 0.10%) (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐的溶液。

[0480] 在 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺中的 (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺的参比溶液:

[0481] 将约 24mg (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺参比标准品和 20mg (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺参比标准品精确称入 50mL 容量瓶, 溶解并且使用稀释剂稀释至体积; 使用稀释剂将 1.0mL 该溶液稀释至 20mL (第 1 次稀释); 使用稀释剂将 1.0mL 最终溶液稀释至 20mL (第 2 次稀释), 从而得到含约 1.20 μ g/mL 2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (约 0.12%) 和约 1.00 μ g/mL (约 0.10%) (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐的溶液。

[0482] 在 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐中的 (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐的参比溶液:

[0483] 将约 24mg (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺参比标准品

和 20mg(S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐参比标准品精确称入 50mL 容量瓶, 溶解并且使用稀释剂稀释至体积; 使用稀释剂将 1.0mL 该溶液稀释至 20mL(第 1 次稀释); 使用稀释剂将 1.0mL 最终溶液稀释至 20mL(第 2 次稀释), 从而得到含约 1.20 μ g/mL 2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺(约 0.15%, 为甲磺酸盐)和约 1.00 μ g/mL(约 0.10%)(S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺甲磺酸盐的溶液。

[0484] 试验溶液:

[0485] 将约 25mg 测试产物精确称入 25mL 容量瓶, 溶解并且使用稀释剂稀释至体积而的具有约 1.0mg/mL 已知浓度的溶液。

[0486] 色谱条件:

[0487] 通过使用下列条件进行色谱操作:

[0488] - 柱: Waters Symmetry C8 150x4.6mm, 5 μ , 或等效物

[0489] - 柱温: 30°C

[0490] - 流动相: 40% 溶剂 A: 10% 溶剂 B: 50% 溶剂 C 的混合物, 含 1g/1t 辛磺酸钠

[0491] 溶剂 A: 缓冲溶液 0.05M KH_2PO_4 ;

[0492] 溶剂 B: 乙腈;

[0493] 溶剂 C: 甲醇;

[0494] - 等度洗脱;

[0495] - 运行时间: 60min;

[0496] - 流速: 1.0mL/min;

[0497] - 检测: UV 220nm;

[0498] - 注射体积: 100 μ l;

[0499] - 稀释剂: 流动相。

[0500] 操作:

[0501] 注射空白溶液(稀释剂), 参比溶液, 测试溶液并且记录色谱图。

[0502] 在参比色谱图中验证下列系统适用性参数:

[0503] (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺保留时间约为 5.2 分钟;

[0504] (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺峰的 USP 拖尾在 0.8-1.5 的范围;

[0505] (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺相对保留时间约为 5.1;

[0506] 或

[0507] (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺保留时间约为 5.5 分钟;

[0508] (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺峰的 USP 拖尾在 0.8-1.5 范围;

[0509] (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺相对保留时间约为 4.1。

[0510] 调整流动相以便获得系统适用性。

[0511] 通过外标计算在检验的 (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺(游离碱和甲磺酸盐)样品中的 (S)-2-[3-(2- 氟苄基)-4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺(游离碱和甲磺酸盐)和在检验的 (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺(游离碱和甲磺酸盐)样品中的 (S)-2-[3-(3- 氟苄基)-4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺(游离碱和甲磺酸盐)的百分比含量。

[0512] (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺和(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺在相应(S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺和(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺中的定量限(LOQ)值为0.004%重量。

[0513] (S)-2-[3-(2-氟苄基)-4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐和(S)-2-[3-(3-氟苄基)-4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐在相应(S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐和(S)-2-[4-(3-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐中的定量限(LOQ)值为0.005%重量。所有考虑到的杂质的检测限值均为0.001%重量。

[0514] 实施例 18

[0515] (S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺(ralfinamide)甲磺酸盐(Id)对映体纯度的HPLC测定

[0516] 通过HPLC评价样品的对映体纯度。按照下列条件进行测定：

[0517] 标准溶液 1：

[0518] 将约 5.3mg(R)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐参比标准品溶于25mL流动相。

[0519] 标准溶液 2：

[0520] 将约 8.0mg(S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐参比标准品和0.2mL标准溶液1溶于50mL流动相。

[0521] 相对于(S)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐浓度而言计算的(R)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐浓度约为0.5%。

[0522] 测试溶液 1 和 2：

[0523] 在一式两份实验中,将约 8.0mg 测试产物溶于 50mL 流动相。

[0524] 色谱条件：

[0525] - 柱:Chiralpak WH 250mm x 4.6mm, I.D. 5 μ m；

[0526] - 柱温:45°C；

[0527] 流动相:0.25mM CuSO₄(将约 40mg CuSO₄精确称入 1000mL 水)/MeOH 60/40；

[0528] - 等度洗脱；

[0529] - 流速:1.0mL/min；

[0530] - 检测:UV 230nm；

[0531] - 注射体积:10 μ l；

[0532] - 运行时间:15 分钟。

[0533] 操作：

[0534] 分析空白溶液(流动相)一次,标准溶液2两次,测试溶液1和2一次并且验证：

[0535] - 就标准注射液而言,(R)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐面积百分比的RSD%低于2.0%；

[0536] - 就标准和样品溶液而言,每次注射包括的最大峰面积百分比在平均值 $\pm$ 0.1%之间。

[0537] 将(R)-2-[4-(2-氟苄氧基)苄氨基]丙酰胺甲磺酸盐含量(百分比面积)计算为两次测定的平均值。

[0538] 保留时间：

[0539] (S)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺保留时间约为 5.7min。

[0540] (R)-2-[4-(2- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺相对保留时间约为 1.7。

[0541] 实施例 19

[0542] (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺 (safinamide) 甲磺酸盐 (Ic) 对映体纯度的 HPLC 测定

[0543] 通过 HPLC 评估样品的对映体纯度。按照下列条件进行测定：

[0544] 试验溶液：

[0545] 将约 10mg 测试样品溶于 10mL 流动相。

[0546] 色谱条件：

[0547] - 柱:Chiralpak WH 250mm x 4.6mm, I. D. 10 μ m；

[0548] - 柱温:50℃；

[0549] 流动相:0.25mM CuSO₄

[0550] - 等度洗脱；

[0551] - 流速:1.0mL/min；

[0552] - 检测:UV 200nm；

[0553] - 注射体积:10 μ l；

[0554] - 运行时间:30 分钟。

[0555] 操作：

[0556] 注射测试溶液并且将对映体峰响应值计算为面积百分比。

[0557] (S)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺保留时间约为 9.2min。

[0558] (R)-2-[4-(3- 氟苄氧基) 苄氨基] 丙酰胺相对保留时间约为 1.9。

[0559] 实施例 20

[0560] 细胞色素 P450 测定

[0561] 使用在 CYP 代谢时变成荧光 (Gentest Kit 测定法) 的特异性底物测定涉及药物代谢的五种最重要细胞色素 P450 同种型 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 和 CYP3A4) 的抑制。

[0562] 在含孵育 /NADPH 再生缓冲液的 96- 孔平板中测试化合物。加入特异性人重组同工酶和底物并且在 37℃ 下就 CYP1A2/CEC 而言孵育 15 分钟,就 CYP2E1/MFC 而言孵育 40 分钟,就 CYP2C9/MFC 而言孵育 45 分钟并且就其它 CYP450 而言孵育 30 分钟。

[0563] 特异性底物如下:3- 氰基 -7- 乙氧基香豆素 (CYP2C19 和 CYP1A2),

[0564] 7- 甲氧基 -4- 三氟甲基香豆素 (CYP2C9), 3[2(N, N- 二乙基 -N- 甲氨基) 乙基]-7- 甲氧基 -4- 香豆素 (CYP2D6), 苄基苯基香豆素 (CYP3A4)。

[0565] 用 Victor 平板读出器 (Perkin Elmer) 在适当发射 / 激发波长处读取平板并且测定 IC₅₀ (抑制达 50% 酶活性的浓度)。将结果报道在表 1 和 2 中。

[0566] 实施例 21

[0567] 人神经母细胞瘤细胞系 SH-SY-5Y 中的细胞毒性测定

[0568] 在 0 时,将细胞以 1. 10⁴/cm² 接种在 96 孔平板的 DMEM 生长培养基 +10% 热灭活的 FBS+2mM L 谷氨酰胺 +100U/mL-100 μ g/mL 青霉素 / 链霉素中。

[0569] 在亚融合生长期时 72 小时后,除去培养基并且将细胞在 37℃ 下和含或不含测试

化合物 (20 μ l, 至少 5 个浓度, 一式三份) 的 180 μ l 神经基础培养基 +2mM L-谷氨酰胺 (Life Technologies) 中孵育 24 小时。

[0570] 在孵育结束时, 将 20 μ l Alamar Blue 染料 (AlamarBlue™ AssayKit, Promega) 直接加入到细胞培养基中。

[0571] 4 小时后, 通过使用 Tecan Spectrafluor 平板读出器测定在 530nm 激发和 595nm 发射时的荧光评价细胞毒性。

[0572] 在处理前和结束时, 用与图像分析仪 (Image Pro Plus, 5.1) 配对的 Olympus IX70 倒置光学显微镜以显微方式监测培养物以便评价细胞形态。

[0573] 将结果在表 1 中表示为诱导 50% 死亡率的浓度。

[0574] 实施例 22

[0575] 转染 CHO 细胞系中的 HERG 电流

[0576] 测试在稳定表达重组 HERG 通道的 CHO 细胞中的 HERG 电流抑制。

[0577] 为了评价测试化合物对 HERG 电流的作用, 在 -80mV 下固定细胞, 去极化至 0mV 5 秒, 从而激活 HERG 电流并且在 5 秒过程中复极化至 -50mV, 以使 HERG 尾电流失活。以 0.06Hz 的频率重复该操作。在接触测试化合物前和之后测定复极化 (HERG 尾电流) 时的电流振幅。

[0578] 将电流抑制率计算为在外部浴灌注期结束时测定的 HERG 尾电流振幅与在测试化合物灌注期 (达到稳态自由时) 结束时测定的 HERG 尾电流振幅之差除以对照组 HERG 尾电流。

[0579] 通过绘制紧张性阻滞与药物浓度的示意图获得药物浓度 - 抑制曲线。按照逻辑方程使剂量 - 响应曲线与紧张性阻滞数据拟合: $y = A_2 + (A_1 - A_2) / [1 + (x / IC_{50})^p]$ 。A1 和 A2 为相当于 0 和 100% 电流抑制率的 0 和 1 值, x 为药物浓度, IC_{50} 为导致 50% 电流抑制率的药物浓度, 且 p 为相应的斜率因子。将结果报道在表 1 中。

[0580] 实施例 23

[0581] 小鼠的最大电休克试验 (MES)

[0582] 最大电休克试验 (MES) 常用于在啮齿动物模型中筛选抗癫痫药。

[0583] 动物和设备: 使用体重为 25g 的雄性 CD1 小鼠。遵循 White 等 (White H. S., Woodhead J. H., Franklin M. R., Swinyard E. A. 和 Wolf H. H. Antiepileptic Drugs (1995) 4th ed. :99-110, Raven Press, Ltd., New York) 所述的操作。使用 Ugo Basile 电惊厥发生器 (Model ECT UNIT 7801) 递送足以在至少 97% 对照组动物中产生后肢紧张性伸肌应答的电刺激。通过夹钳电极经耳部在小鼠中递送刺激 (0.7 秒 40mA 电击, 其中脉冲串 80Hz, 具有的脉冲持续时间为 0.4ms)。检验在 MES 诱导前 15-60 分钟通过腹膜内或口服给予的化合物的急性作用并且与载体对照组比较。每组研究 10 只小鼠。将癫痫发作的后肢紧张性伸肌部分的完全抑制视为抗惊厥活性的证据。

[0584] 以 3-30mg/kg 的剂量通过口服或腹膜内给予本发明的化合物。

[0585] 在表 3 和 4 中将结果表示为保护%。