

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 527 437**

51 Int. Cl.:

C07C 231/12 (2006.01)

C07C 231/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.06.2007 E 07764601 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.11.2014 EP 2029524**

54 Título: **Procedimiento para la producción de 2-[4-(3- y 2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamidas**

30 Prioridad:

19.06.2006 EP 06012565

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

26.01.2015

73 Titular/es:

**NEWRON PHARMACEUTICALS S.P.A. (100.0%)
VIA ARIOSTO, 21
20091 BRESSO (MI), IT**

72 Inventor/es:

**BARBANTI, ELENA;
CACCIA, CARLA;
SALVATI, PATRICIA;
VELARDI, FRANCESCO;
RUFFILLI, TIZIANO y
BOGOGNA, LUIGI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 527 437 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

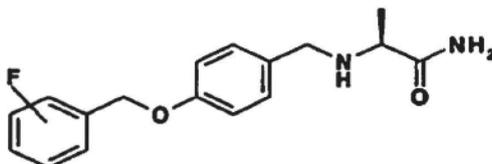
DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la producción de 2-[4-(3- y 2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamidas

Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere a un nuevo procedimiento para la producción de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida, es decir, safinamida (Ia) y (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida, es decir, ralfinamida (Ib) y sus sales, con altos rendimientos y con una pureza química y enantiómera muy altas.

Este método es también muy útil para su producción en grandes cantidades.



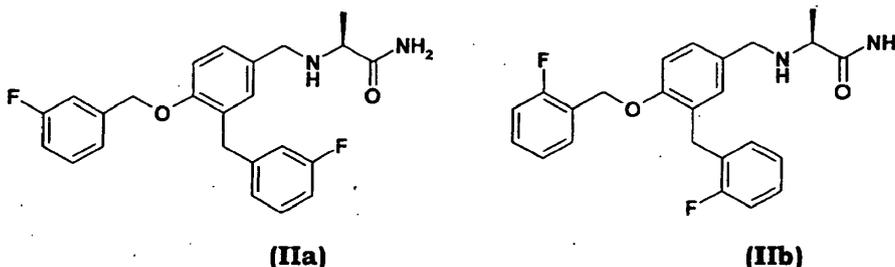
safinamida (Ia): 3-F
ralfinamida (Ib): 2-F

10 La safinamida (NW-1015, FCE-26743A, PNU-151774E) es un agente bloqueador de los canales del sodio, un agente modulador de los canales del calcio, un agente inhibidor de la monoamino oxidasa B (MAO-B), un agente inhibidor de la liberación del glutamato y un agente modulador del metabolismo de la dopamina.

La safinamida es útil en el tratamiento de trastornos del SNC, en particular de la epilepsia, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la depresión, el síndrome de las piernas inquietas y la migraña (WO 90/14334, WO 04/089353, WO 05/ 102300, WO 04/062655).

15 La ralfinamida (NW-1029, FCE-26742A, PNU-0154339E) es un agente bloqueador de los canales del sodio útil en el tratamiento de afecciones del dolor, que incluyen el dolor crónico y el dolor neuropático, la migraña, los trastornos bipolares, depresiones, trastornos cardiovasculares, inflamatorios, urogenitales, metabólicos y gastrointestinales (WO 99/35125, WO 03/020273, WO 04/062655, WO 05/018627, WO 05/070405, WO05/102300, WO 06/027052).

20 Ahora, se ha descubierto que las preparaciones a gran escala de safinamida y ralfinamida según los métodos descritos en la técnica anterior contienen dos impurezas no deseadas, es decir, respectivamente, (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIa) y (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIb), y sus sales, en particular los respectivos metanosulfonatos (IIc) y (IId)



25 Este hecho es de particular relevancia debido a la muy alta toxicidad de las dos impurezas nombradas anteriormente.

Muchos de los candidatos a fármacos fracasan en las pruebas clínicas debido a efectos imprevistos sobre el metabolismo humano, o por toxicidad, debido a impurezas no deseadas y, por lo tanto, la eliminación de tales impurezas en la fase preclínica temprana es importante y muy deseable.

30 A nivel preclínico, la "capacidad de ser un fármaco" de nuevos compuestos puede evaluarse usando una batería muy bien establecida de ensayos in vitro, tales como la interacción con enzimas que metabolizan los fármacos, citotoxicidad, estabilidad y perfil metabólico, permeabilidad por las membranas, aclaramiento intrínseco y el bloqueo del canal del gen humano relacionado con éter-a-go-go (HERG), etc.

35 El sistema citocromo P450 (CYP 450) es el sistema enzimático principal del metabolismo de xenobióticos lipófilos, que incluyen fármacos, carcinógenos, y contaminantes medioambientales. CYP 450 es un sistema multienzimático, enlazado a la membrana, que contiene heme, que está presente en muchos tejidos pero está presente a la más alta concentración en el hígado. Se estima que en el hígado humano hay 15 a 20 formas diferentes de CYP 450 que

metabolizan los xenobióticos. Hasta ahora, en los mamíferos se han identificado más de catorce familias de genes CYP. A pesar de que existe una alta homología, estudios extensivos han revelado que cada familia y subfamilia de CYP tiene distintos papeles en el metabolismo de xenobióticos. Tres familias de CYP, CYP1, CYP2 y CYP3 justifican aproximadamente 70% de los CYPs de microsomas hepáticos humanos, justificando CYP3 aproximadamente 30%. Estos CYPs son los principales responsables del metabolismo de la mayor parte de los fármacos comercializados.

La familia CYP1 contiene varios miembros que incluyen CYP1A1, CYP1A2 y CYP1B1 y están implicados en el metabolismo de acetaminofeno, clomipramina e imipramina.

La familia CYP2 contiene varias subfamilias que incluyen CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D y CYP2E. La subfamilia CYP2C contiene al menos siete miembros. CYP2C9 es responsable del metabolismo de ibuprofeno, diclofenac, tolbutamida y torsemida. CYP2C19 es la principal isoenzima que metaboliza diazepam y omeprazol. Se ha mostrado que CYP2D6 es responsable de metabolizar más del 30% de los fármacos del mercado, incluyendo fármacos antidepresivos y cardiovasculares y anti-psicóticos.

En la familia CYP3 se han identificado tres isoformas en el hígado de ser humano. Se ha reconocido que CYP3A4 de ser humano es el más importante isoformo en el metabolismo de fármacos. Hasta la fecha, el metabolismo catalizado por CYP3A4 es la principal ruta de eliminación de casi el 50% de los fármacos comercializados.

Debido a su importancia en el metabolismo de los fármacos, tanto CYP3A4 como CYP2D6 están con frecuencia implicados en las interacciones fármaco-fármaco y se han identificados varios compuestos usados clínicamente como potentes agentes inhibidores de estos isomorfos CYP 450 tales como cetoconazol, terfenadina, eritromicina, miconazol, propranolol y quinidina, respectivamente. Esto impone una clara limitación sobre el uso de estos fármacos.

Otro problema, que consiste en muerte súbita como efecto secundario de la acción de fármacos no antiarrítmicos, es una preocupación principal de seguridad farmacológica con la que se enfrenta la industria farmacéutica y las autoridades sanitarias. En los últimos años, al menos cinco fármacos de gran impacto comercial (astemizol, sertindol, terfenadina, cisaprida, grepafloxacina) han sido retirados del mercado debido a informes de muerte súbita. En todos los casos estuvo implicado el síndrome de QT largo (LQTS), una anomalía de la repolarización del músculo cardiaco que se caracteriza por la prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma, como un factor que predispone a "torsades de pointes", una taquicardia ventricular polimórfica que puede espontáneamente degenerar en fibrilación ventricular y provocar la muerte súbita. Puede seguirse la trazabilidad del LQTS a varias posibles mutaciones que dan lugar a defectos en los canales del sodio, y a dos canales diferentes del potasio: el rectificador retardado de activación rápida (I_{Kr}) y el rectificador retardado de activación lenta (I_{Ks}). Es importante destacar que virtualmente cada caso de una duración prolongada del potencial de acción cardiaco relacionado con la exposición a los fármacos (LQTS adquirido) puede trazarse a un mecanismo específico: bloqueo de la corriente I_{Kr} en el corazón. Esta corriente, contribuyente principal a la repolarización de la fase 3 al final del intervalo QT, es transportada por poros tetrámeros, con las subunidades individuales codificadas por HERG. Con el bloqueo de los canales HERG K^+ ampliamente considerado como la causa predominante de la prolongación QT inducida por los fármacos, la detección temprana de compuestos con este efecto secundario ha llegado a ser un importante objetivo en la industria farmacéutica.

Los compuestos con fuerte inhibición de las enzimas que metabolizan los fármacos, en particular las enzimas CYP 450, y las propiedades bloqueantes de los canales HERG tienen una alta probabilidad de ser tóxicos y de que su desarrollo tenga que pararse en una etapa temprana.

Como se muestra en la Tabla 1 las impurezas (IIa y IIb), como la sal de metanosulfonato (IIc y IId), inhiben fuertemente en el intervalo micro- y submicro-molar las corrientes de CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 y HERG y son muy citotóxicas, comparadas con el metanosulfonato de safinamida (Ic) y metanosulfonato de ralfinamida (Id) con altos grados de pureza, sintetizados usando el procedimiento de esta invención.

Tabla 1

Compuesto	HERG	Citotoxicidad	CYP3A4	CYP2D6	CYP2C 19	CYP2C9	CYP1A2
	IC ₅₀ , μM						
Impureza IIc	1,20	6,70	0,05	0,77	0,42	7,29	>40
Metanosulfonato de safinamida	27,0	248,0	>40	>40	23,85	>40	>40
Impureza IId	2,66	15,00	0,05	0,92	1,89	8,01	>40
Metanosulfonato de ralfinamida	18,0	>300	>40	>40	>40	>40	>40

La Tabla 2 muestra los resultados comparativos (IC₅₀) acerca de la inhibición del citocromo CYP3A4 usando metanosulfonato de safinamida y de ralfinamida muy puros, sintetizados usando el nuevo procedimiento de esta invención, obteniéndose la safinamida y la ralfinamida con el mismo procedimiento en presencia de 0,3% de la impureza IIc y II d, respectivamente.

- 5 Cuando se añade 0,3% de las impurezas IIc y II d a metanosulfonato de safinamida y de ralfinamida muy puros se observa en ambos casos un descenso significativo de IC₅₀ sobre CYP3A4 lo que significa que las impurezas contribuyen a una fuerte inhibición de la actividad de la enzima.

Tabla 2

Compuesto	CYP3A4 IC ₅₀ , μM
Metanosulfonato de safinamida	>40
Metanosulfonato de safinamida más 0,3% de impureza IIc	18
Metanosulfonato de ralfinamida	>40
Metanosulfonato de ralfinamida más 0,3% de impureza II d	7,76

- 10 Como se muestra en la Tabla 3 la impureza (IIc) aumenta, partiendo de 3 mg/kg ip, la mortalidad en el ensayo de Electrochoque Máximo en ratones (MES) sin ninguna actividad farmacológica, es decir, protección de las convulsiones.

Tabla 3

Compuesto	MES					
	3 mg/kg ip		10 mg/kg ip		30 mg/kg ip	
	Protección (%)	Muertos/Vivos	Protección (%)	Muertos/Vivos	Protección (%)	Muertos/Vivos
Metanosulfonato de safinamida	50	0/10	100	0/10	100	0/10
impureza IIc	0	5/10	0	4/10	0	4/10

- 15 La Tabla 4 informa que, cuando la impureza II d se da p.o. a 10 y 20 mg/kg, en el ensayo del Electrochoque Máximo (MES) no protege a los ratones de las convulsiones si se compara con las mismas dosis de metanosulfonato de ralfinamida.

Tabla 4

Compuesto	MES			
	10 mg/kg p.o.		20 mg/kg p.o.	
	Protección (%)	Muertos/Vivos	Protección (%)	Muertos/Vivos
Metanosulfonato de ralfinamida	60%	0/10	90%	0/10
Impureza II d	0 %	0/10	0 %	0/10

- 20 Sobre la base de todos estos datos, las impurezas IIc y II d, presentes en safinamida y ralfinamida, respectivamente, sintetizadas con el procedimiento descrito en WO 90/14334 y por Pevarello et al en J. Med. Chem, 1998, 41, 579-590 muestran in vitro algunos rasgos no deseables, tales como toxicidad celular, fuerte inhibición de algún isoformo de CYP 450, bloqueo de los canales HERG y ninguna actividad protectora en un modelo "in vivo" de la epilepsia.

Uno de los aspectos importantes de CYP es la variación entre diferentes grupos de población. Las variaciones en el metabolismo de los fármacos son de gran importancia en estudios clínicos. Se ha demostrado una variación considerable de la actividad enzimática de CYP3A4 y CYP2D6 entre diferentes grupos étnicos e incluso entre diferentes individuos del mismo grupo étnico. La diferencia en la actividad de CYP entre individuos varía

significativamente, dependiendo de las diferentes isoenzimas. Cambios en el nivel de expresión de CYP de diferentes individuos pueden provocar variaciones en el metabolismo de los fármacos. Más importantemente, el polimorfismo también puede dar lugar a variantes de la enzima CYP con menor o mayor actividad enzimática que conduce a variaciones en el metabolismo de los fármacos. El polimorfismo de CYP2D6 es un tema bien estudiado en metabolismo de los fármacos. En estudios clínicos, se encontró en primer lugar variaciones pronunciadas entre individuos en el metabolismo de fármacos antihipertensores y antiepilépticos. La eliminación de fármacos metabolizados por CYP2D6 es más lenta en aquellos individuos que portan alelos CYP2D6 defectuosos. Los individuos con metabolismo lento son clasificados como malos metabolizadores (PM), mientras que los individuos catalíticamente competentes son llamados metabolizadores extensivos (EM): La incidencia del fenotipo PM en la población de diferentes orígenes raciales varía: aproximadamente 5 a 10% de caucasianos son del fenotipo PM, pero sólo 1% en la población de Asia. CYP2C19 es otro isomorfo polimórfico importante que tiene implicaciones clínicas.

Teniendo en cuenta estas observaciones, un compuesto que no interfiera con isomorfos de CYP450 (ni inhibición ni inducción) tiene un riesgo muy bajo de interacciones fármaco-fármaco en la práctica clínica y puede ser recetado por los médicos simple y seguramente.

En particular, los fármacos que no interfieren con los citocromos del sistema CYP450 están particularmente indicados para el tratamiento terapéutico de individuos que están clasificados como malos metabolizadores (PM) o para el tratamiento terapéutico de pacientes que asumen concomitantemente otros fármacos que se sabe interaccionan con dichos citocromos, tales como cetoconazol, terfenadina, eritromicina, miconazol, propanolol y quinidina, y/o se sabe que tienen propiedades bloqueantes de los canales HERG.

Según la práctica clínica común, los metanosulfonatos de safinamida y de ralfinamida (Ic e Id) son usualmente administrados al paciente que los necesita durante un largo período de tiempo, subdivididos en varias dosis diarias. Este es particularmente el caso de aplicaciones terapéuticas en las que la enfermedad a tratar es: la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y el síndrome de las piernas inquietas (para el uso de safinamida) o el dolor crónico o neuropático, los trastornos cardiovasculares o inflamatorios (para el uso de ralfinamida). Aunque la dosificación diaria puede variar según las afecciones y necesidades específicas de los pacientes, la dosificación diaria de metanosulfonato de safinamida puede usualmente variar de 10 mg/día a 800 mg/día, mientras que la dosificación diaria de metanosulfonato de ralfinamida puede usualmente variar de 10 mg/día a 1 g/día. En estas condiciones, y en consideración a los datos dados anteriormente, es muy aconsejable mantener la concentración de impurezas (IIa) y (IIb) o de las sales de las mismas, en particular las sales de metanosulfonato (IIc) y (IId) en las formas de dosificación farmacéuticas de safinamida y ralfinamida o de sus sales, tan baja como sea posible, en cualquier caso menor que 0,03%, preferiblemente menor que 0,01% en peso con respecto a la cantidad de, respectivamente, safinamida y ralfinamida o sus sales, en particular las sales de metanosulfonato.

Las investigaciones y estudios experimentales llevados a cabo por los inventores han mostrado que la safinamida y la ralfinamida y las respectivas sales con ácidos farmacéuticamente aceptables preparados según los métodos de la técnica anterior contienen una cantidad de las respectivas impurezas (IIa) y (IIb) o las respectivas sales con ácidos farmacéuticamente aceptables, tales como (IIc) y (IId), que es mayor que 0,03% en peso. Por lo tanto, los productos anteriormente mencionados no son adecuados para aplicaciones terapéuticas seguras. En particular, las preparaciones farmacéuticas que contienen safinamida o ralfinamida o sus sales con ácidos farmacéuticamente aceptables, donde el contenido de impurezas (IIa), (IIb), y las respectivas sales con ácidos farmacéuticamente aceptables, no es menor que 0,03%, preferiblemente que 0,01% en peso con respecto a las sustancias activas anteriormente mencionadas, no son adecuadas como medicamentos.

En esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, los valores de los límites anteriormente indicados, a menos que se especifique otra cosa, han de interpretarse como que expresan la relación porcentual en peso de las "sustancias activas", es decir, el contenido efectivo de la impureza biológicamente activa (IIa, IIb) con respecto al contenido efectivo de la sustancia terapéuticamente activa (Ia, Ib).

El procedimiento descrito en esta invención conduce, reduciendo notablemente las impurezas, a productos con alta pureza química y perfil biológico más seguro. Otras impurezas, apenas detectables, proceden de las muy pequeñas cantidades de cloruro de 2- y 4-fluorobencilo y de cloruro de 3- y 4-fluorobencilo los cuales están contenidos en el cloruro de 3-fluorobencilo y el cloruro de 2-fluorobencilo comercialmente disponibles, respectivamente, usados para la síntesis de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) y 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) compuestos intermedios para la preparación de, respectivamente, los compuestos (Ia) y (Ib).

Según el procedimiento descrito en la presente invención, la safinamida y la ralfinamida se obtienen con altos rendimientos y alta pureza cuando el contenido de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]-propanamida (IIa) y de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]-propanamida (IIb), y sus sales, en particular con ácido metanosulfónico (genéricamente denominados "dibencil derivados") en safinamida y ralfinamida o en las sales de los mismos, en particular con ácido metanosulfónico, es menor que o igual a 0,03%, preferiblemente 0,01% (en peso).

El procedimiento objeto de la presente invención parte de 4-hidroxibenzaldehído y comprende las tres etapas siguientes:

a) O-bencilación de 4-hidroxibenzaldehído con derivados de la siguiente fórmula general 3- ó 2- F-C₆H₄-CH₂-Y, en la que Y es un grupo saliente (Cl, Br, I, OSO₂CH₃ etc.); esta O-bencilación se lleva a cabo en condiciones que son muy selectivas para la O-alkilación y da 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído y 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído de alta pureza;

b) Alquilación reductora de L-alaninamida, base o sal, con 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído y 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído, en la que el sistema reductor es hidrógeno gas y un catalizador heterogéneo, para obtener, después de cristalizar, safinamida y ralfinamida, respectivamente, con una pureza química y enantiómera muy altas;

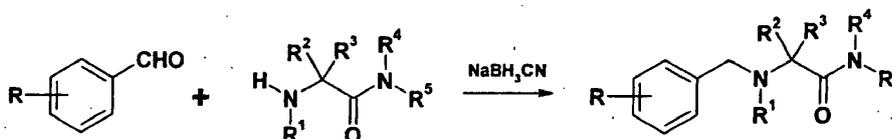
c) Preparación de sales de safinamida y ralfinamida con un ácido farmacéuticamente aceptable por salificación de safinamida y ralfinamida, respectivamente, obtenidas en la etapa precedente. Los ácidos farmacéuticamente aceptables se, por ejemplo, seleccionan de los ácidos nítrico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, perclórico, fosfórico, metanosulfónico, p-toluenosulfónico, acético, trifluoroacético, propiónico, glicólico, láctico, oxálico, malónico málico, maleico, tartárico, cítrico, benzoico, cinámico, mandélico y salicílico.

Técnica anterior

En el documento WO 90/14334, y en el artículo de Pevarello et al. en J. Med. Chem., 1998, 41, 579-590, se describen un procedimiento de tres etapas para la preparación de benciloxibencilamino-alcanamidas:

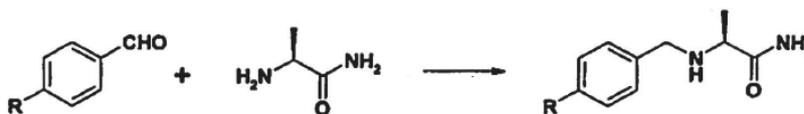
a) Síntesis de los compuestos intermedios 4-benciloxibenzaldehídos por O-bencilación de los correspondientes 4-hidroxibenzaldehídos con los cloruros de bencilo adecuados

b) Alquilación reductora de α-amino-amidas con 4-benciloxibenzaldehídos usando cianoborohidruro de sodio como agente reductor como se muestra esquemáticamente en la presente memoria a continuación



en las que R representa, entre otros sustituyentes, 3-F y 2-F; R¹ representa, entre otros sustituyentes, hidrógeno; R² representa, entre otros sustituyentes, hidrógeno; R³ representa, entre otros sustituyentes, CH₃; tanto R⁴ como R⁵ representan, entre otros sustituyentes, hidrógeno.

En particular, en cuanto a la preparación de safinamida y ralfinamida se refiere, la alquilación reductora es la alquilación reductora de L-alaninamida con 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído y 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído, respectivamente, como se muestra en la presente memoria a continuación



R = 3-F-benciloxi = safinamida (Ia)

R = 2-F-benciloxi = ralfinamida (Ib)

En J. Med. Chem. (Pevarello et al.), 1998, 41, 579-590 se informa de rendimientos de 45% y 60% para la preparación de metanosulfonato de safinamida y de ralfinamida, respectivamente, partiendo de los correspondientes (fluorobenciloxi)benzaldehídos.

El procedimiento descrito en el documento WO 90/14334 y en el artículo anteriormente citado es el mismo y proporciona un sistema en un solo reactor en el que la iminoalquilación y la reducción se hacen en el mismo reactor. El aldehído adecuado se añade todo a la vez a una mezcla de hidrocloreto de L-alaninamida, cianoborohidruro de sodio, metanol y tamices moleculares en polvo.

Según Pevarello et al., en Org. Prep. Proc. Int. 1996, 28, 179-183 (en el que se describe la síntesis de algunos α-bencilaminoamida derivados por alquilación reductora), el uso de una α-aminoamida como hidrocloreto es importante para la formación del ion iminio en lugar de la correspondiente imina, ya que el ion iminio reacciona más fácilmente con el cianoborohidruro de sodio que con el grupo carbonilo del aldehído.

Según los autores anteriores, el procedimiento en un solo reactor parece evitar problemas de racemización con la base de Schiff y los tamices moleculares aceleran la reacción (aunque los rendimientos son malos).

5 El cianoborohidruro es el único agente reductor utilizado, y parece que esta selección es debida a su baja reactividad y a su selectividad (véase la revisión "Sodium Cyanoborohydride- A Highly Selective Reducing Agent for Organic Functional Groups" - C.F. Lane, Synthesis 1975, 132-146), lo cual le hace capaz de distinguir entre la base de Schiff protonada y el aldehído de partida.

10 La síntesis descrita en el artículo de Pevarello et al. proporciona el aislamiento de los productos por cromatografía en columna, seguido por conversión en las correspondientes sales por tratamiento con ácidos. No se da ninguna información acerca de la pureza enantiómera y/o química tanto de la safinamida como de la ralfinamida y/o de sus sales.

El método descrito en la técnica anterior padece de muchos inconvenientes, que limitan su uso a gran escala; a continuación, en la presente memoria se listan algunos ejemplos de dichos inconvenientes:

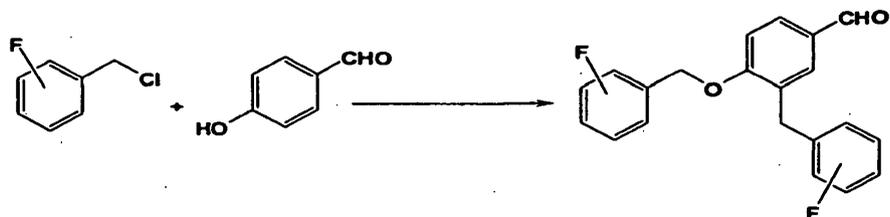
- Formación de cianuros;
- Formación de boro derivados, difíciles de separar de los principios activos;
- 15 • Uso de tamices moleculares en polvo los cuales cambian físicamente y son caros;
- Bajos rendimientos;
- Baja concentración final de producto en la mezcla de reacción de la alquilación reductora (aproximadamente 2-3% peso/volumen);
- 20 • Aislamiento de los productos por cromatografía en columna, la cual es considerada un método de purificación problemático y caro cuando están implicadas preparaciones a gran escala de agentes activos por medio de síntesis química.

25 Por otra parte, como se muestra en los ejemplos que siguen a esta descripción, los productos obtenidos según los métodos descritos en la técnica anterior contienen una cantidad de impurezas (IIa), (IIb), (IIc) o (IId) que es mayor que 0,03% en peso con respecto a la respectiva sustancia activa (Ia), (Ib), (Ic) o (Id). Además, se ha mostrado que es difícil eliminar dichas impurezas del producto final safinamida y ralfinamida o de sus sales usando métodos de purificación comúnmente conocidos tales como cristalización en disolventes o cromatografía, los cuales en cualquier caso implican una reducción de rendimientos.

Síntesis de los compuestos intermedios 4-(fluorobenciloxi)-benzaldehído

30 Según los métodos conocidos, los compuestos intermedios fluorobenciloxi-benzaldehído para la síntesis de safinamida y ralfinamida se obtienen por bencilación de 4-hidroxibenzaldehído en un medio básico, esto es por bencilación de sales de fenol las cuales, siendo nucleófilos ambidentados, dan dos productos diferentes, es decir, los derivados O-alquilados deseados y los derivados C-alquilados no deseados.

35 Efectivamente, se ha encontrado que la fluorobencilación de 4-hidroxibenzaldehído con cloruro de 3-fluorobencilo, realizada según la técnica anterior, da el 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) como el producto principal junto con 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (Va) que deriva de la alquilación tanto del grupo hidroxilo en posición 4 como del átomo de carbono en posición 3 del 4-hidroxibenzaldehído. Lo mismo ocurre en la fluorobencilación de 4-hidroxibenzaldehído con cloruro de 2-fluorobencilo según el siguiente esquema:



(IIIa₁): 3-F

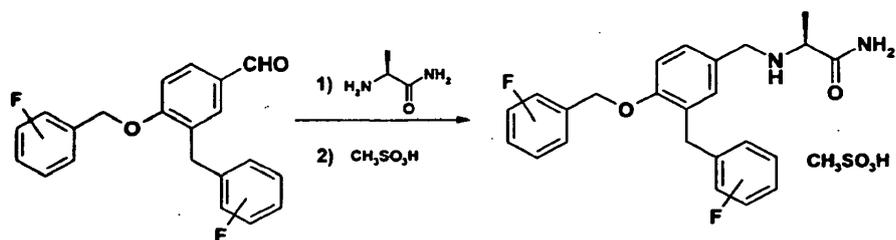
(IIIb₁): 2-F

(Va): 3-F

(Vb): 2-F

40 La alquilación reductora de L-alaninamida con un aldehído que contiene la impureza di-alquilada da un producto final safinamida o ralfinamida que también es impuro del respectivo compuesto di-alquilado, el di-bencil derivado, ya

como una base libre (IIa) o (IIb) o ya como compuestos salificados, preferiblemente con ácido metanosulfónico (IIc) o (IId), como se muestra en el siguiente esquema:



(Va): 3-F

(Vb): 2-F

(IIc): 3-F

(IId): 2-F

5 Otros ácidos farmacéuticamente aceptables, por ej. ácido nítrico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, perclórico, fosfórico, metanosulfónico, p-toluenosulfónico, acético, trifluoroacético, propiónico, glicólico, láctico, oxálico, malónico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzoico, cinámico, mandélico y salicílico pueden usarse en lugar del ácido metanosulfónico preferido.

10 El derivado mono-alquilado (safinamida o ralfinamida) y las correspondientes impurezas di-alquiladas tienen propiedades físico-químicas similares y esto hace difícil la purificación de safinamida y ralfinamida con métodos tradicionales.

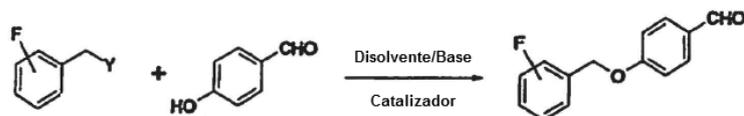
Además, los métodos conocidos padecen de estos inconvenientes adicionales:

1) El uso de un alcohol inferior como disolvente; en condiciones básicas, el disolvente, por ejemplo metanol, puede en sí mismo actuar como un reactivo nucleófilo y da, con cloruro de 3- ó 2-fluorobencilo una cierta cantidad de metil-fluorobencil-éter;

15 2) La extracción del producto final con un disolvente orgánico inmiscible con agua es posible sólo después de que el disolvente alcohólico de reacción haya sido eliminado de la mezcla de reacción.

Se ha encontrado que usando los anteriormente dichos métodos de la técnica anterior, con el fin de obtener un producto final de fórmula (Ia) o (Ib) donde el contenido de la respectiva impureza (IIa) o (IIb) sea menor que 0,03% (en peso), es necesario purificar drásticamente el compuesto intermedio 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) ó 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) para reducir el contenido de las respectivas impurezas de fórmula (Va) y (Vb). Dicha purificación se lleva preferiblemente a cabo enviando los productos de reacción a cristalización, más preferiblemente añadiendo a una disolución del compuesto bruto (IVa) o (IVb) en un disolvente orgánico inerte un no disolvente orgánico miscible inerte. El disolvente orgánico inerte se selecciona preferiblemente de hidrocarburos aromáticos y, más preferiblemente, es tolueno. El no disolvente orgánico miscible inerte se selecciona preferiblemente de hidrocarburos alifáticos inferiores, más preferiblemente es n-hexano. Un procedimiento adicional de cristalización puede consistir en disolver los compuestos anteriormente dichos (IVa) o (IVb) en un disolvente caliente, por ej. ciclohexano o un di(C₃-C₄)alquil éter, tal como diisopropil éter a reflujo, y luego enfriar la disolución a temperatura ambiente, preferiblemente a 10-15°C, lo más preferiblemente con inducción de la cristalización por adición de cristales puros del compuesto puro (IVa) o (IVb).

20 Según un aspecto de esta invención, ahora, sorprendentemente se ha encontrado que cuando la reacción entre un agente alquilante de fórmula (IIIa) o (IIIb) (véase el esquema siguiente en el que el átomo de F está en posición 2 ó 3 e Y es un grupo saliente tal como, por ejemplo, Cl, Br, I, OSO₂CH₃, OSO₂C₆H₄-pCH₃, etc.) y 4-hidroxibenzaldehído se lleva a cabo en condiciones de transferencia de fase, se obtienen los correspondientes 4-(fluorobenciloxi)benzaldehídos con altos rendimientos y con muy baja concentración de impurezas C,O-bis-alquiladas.



(IIIa): 3-F

(IIIb): 2-F

(IVa): 3-F

(IVb): 2-F

Esta nueva fluorobencilación de 4-hidroxibenzaldehído en condiciones de transferencia de fase puede hacerse tanto en un sistema sólido/líquido, en el que en la fase orgánica líquida, los reactivos y el catalizador de transferencia de fase están disueltos y la fase sólida está constituida por la base inorgánica o la sal de 4-hidroxibenzaldehído (posiblemente generada in situ a partir de 4-hidroxibenzaldehído y la base inorgánica en sí misma), como en un sistema líquido/líquido orgánico/acuoso en el que la base inorgánica está disuelta en la fase acuosa.

Un sistema preferido es el sistema sólido/líquido en el que la base inorgánica se selecciona de Na_2CO_3 , K_2CO_3 , KOH, NaOH.

Los disolventes orgánicos usados en la reacción, tanto en el caso del sistema líquido/líquido como del sistema sólido/líquido, pueden ser éteres de dialquilo tales como, por ejemplo, di-terc-butil éter, etil-terc-butil éter, o hidrocarburos aromáticos tales como, por ejemplo, tolueno, etilbenceno, isopropilbenceno y xilenos. Todos estos disolventes pueden recuperarse fácilmente por destilación.

Los catalizadores de transferencia de fase empleados pueden ser sales de amonio o fosfonio cuaternario tales como, por ejemplo, bromuro de tetrabutil amonio, bromuro de tetradeciltrimetil amonio, bromuro de hexadeciltributil fosfonio, cloruro de tricaprilmetil amonio (Aliquat), cloruro de metiltrialquil ($\text{C}_8\text{-C}_{10}$)amonio (Adogen), siendo el bromuro de tetradeciltrimetil amonio el preferido.

Como catalizadores de transferencia de fase también pueden usarse polietilenglicoles de bajo peso molecular tales como, por ejemplo, PEG-200 (CAS 25322-68-3) o PEG-400 (CAS 25322-68-3).

La cantidad de catalizador de transferencia de fase usada está entre 0,02-1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldehído, preferiblemente entre 0,1-1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldehído ya que, en estas condiciones, la cantidad de las impurezas C,O-bis-fluorobenciladas puede resultar ser menos que 0,03%, preferiblemente igual a 0,01% o menos en peso.

La relación entre los agentes alquilantes de fórmula (IIIa) o (IIIb) y 4-hidroxibenzaldehído está comprendida entre 0,6 y 1,5, estando la preferida entre 0,9 y 1,1.

La temperatura de reacción está comprendida entre 60°C y 160°C , estando el intervalo preferido entre 80°C y 120°C .

El tiempo de reacción está en general comprendido entre 4 y 8 horas.

Los rendimientos de reacción son muy altos, en general más que 90%.

La productividad de la reacción, es decir, la concentración de los productos de reacción en la mezcla de reacción, es muy alta en las condiciones de reacción descritas, normalmente es más o igual que 25% (peso/volumen).

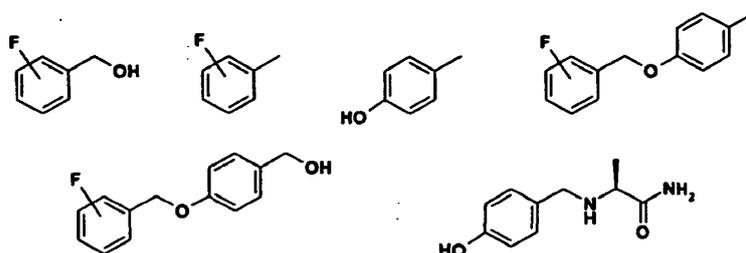
30 Síntesis de safinamida y ralfinamida por alquilación reductora de α -aminoamidas

El estado de la técnica sugiere al experto en el campo que la alquilación reductora de α -amino-amidas con 4-(3- ó 2-fluorobenciloxi)benzaldehydos usando hidrógeno y un catalizador heterogéneo como agente reductor, no debe ser adecuada para la preparación de safinamida y ralfinamida debido a la incompatibilidad entre los reactivos y los productos finales y las condiciones de reducción.

35 De hecho, es bien conocido cuán fácilmente los benzaldehídos son reducidos a alcoholes bencilicos o incluso a los correspondientes hidrocarburos, así como es conocido que las condiciones que deben usarse para realizar una alquilación reductora con hidrógeno y un catalizador heterogéneo, son normalmente las mismas condiciones usadas para romper los enlaces entre un átomo de carbono bencilico y heteroátomos como nitrógeno u oxígeno, la clase de enlaces que están presentes tanto en la safinamida como en la ralfinamida y en sus precursores.

40 De hecho, el grupo bencilico se emplea normalmente como grupo protector de fenoles o aminas (véase "Protective Groups in Organic Synthesis", T.W. Greene and P.G.M. Wuts, 3ª Edición, 1999, John Wiley & Sons, Inc.) debido a la facilidad de su introducción y sucesiva separación por reducción catalítica.

En la alquilación reductora para obtener safinamida y ralfinamida, podría esperarse la formación de muchos subproductos, de algunos de los cuales se informa en la presente memoria a continuación:



45

El hecho de que la safinamida y la ralfinamida se hayan obtenido con muy altos rendimientos y pureza por alquilación reductora de L-alaninamida, con 4-(3- ó 2-fluorobenciloxi)benzaldehído, usando hidrógeno y un catalizador heterogéneo como sistema reductor, es un aspecto sorprendente e innovador de este procedimiento sintético.

- 5 Por otra parte, las condiciones de reacción que se usan según este procedimiento son fácilmente aplicables a la producción en masa.

La alquilación reductora, objeto de la presente invención, se realiza en dos etapas:

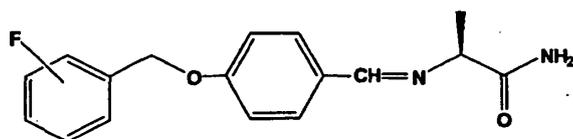
- a) Formación de la base de Schiff
- b) Reducción catalítica de la base de Schiff

- 10 Las dos etapas pueden realizarse sucesivamente en el mismo reactor (reacción en un solo reactor) con, o sin, aislamiento de la base de Schiff, en ambos casos con altos rendimientos.

En el caso de aislamiento de la base de Schiff, las condiciones experimentales aplicadas para su formación permiten obtener la base de Schiff aislada en forma de un precipitado con altos rendimientos y forma muy pura.

- 15 La preparación de la base de Schiff se realiza convenientemente en un disolvente orgánico prótico, que puede ser inerte frente a los reactivos y los productos y también inerte frente a las condiciones de reducción del doble enlace imínico, tal como por ejemplo, un alcohol de (C₁-C₅) inferior, preferiblemente metanol, etanol e isopropanol.

La formación de la base de Schiff tiene que ser completa y este es un factor relevante por tener altos rendimientos en la etapa subsiguiente de reducción catalítica. Es por lo tanto preferible aislar las bases de Schiff (VIa) y (VIb) antes de realizar la reducción del doble enlace imínico.



(VIa):3-F

(VIb):2-F

- 20 Los imino compuestos aislados (VIa) y (VIb) son compuestos intermedios útiles para la preparación de safinamida y ralfinamida, respectivamente, según esta invención.

- 25 Alternativamente puede favorecerse la finalización de la reacción de iminoalquilación trabajando en condiciones tales que causen la precipitación de los imino compuestos (VIa) y (VIb) y enviar a la reducción catalítica la suspensión que contenga el compuesto intermedio imino derivado.

La relación entre L-alaninamida (base o sal) y 4-(3- ó 2-fluorobenciloxi)benzaldehído puede ser 1:1 pero también puede usarse ventajosamente un exceso de 10% de L-alaninamida.

- 30 La L-alaninamida puede introducirse como una base libre o como una de sus sales de adición de ácidos. Preferiblemente, se introduce en la mezcla de reacción como una sal, lo más preferiblemente como sal de hidrocloreuro, junto con la cantidad estequiométrica de una base, preferiblemente una amina terciaria tal como, por ejemplo, trietilamina o diisopropiletilamina.

La temperatura de reacción en la preparación de la base de Schiff está comprendida entre 0°C y 60°C, preferiblemente entre 20°C y 30°C.

Los tiempos de reacción están comprendidos entre 1 hora y 15 horas, preferiblemente entre 4 horas y 6 horas.

- 35 La reducción de la base de Schiff con hidrógeno y un catalizador heterogéneo se inicia sólo cuando la formación de la base de Schiff ha finalizado: si se inicia antes, las reacciones secundarias llegan a ser importantes, algunas veces prevalentes, con pérdida de rendimientos y pureza. Una de estas reacciones secundarias, la más importante, causa la formación de alcoholes bencilicos por reducción del grupo carbonilo del (fluorobenciloxi)benzaldehído escogido.

- 40 Los catalizadores heterogéneos preferidos son catalizadores de níquel, rodio, paladio o platino, sobre un soporte inerte tal como, por ejemplo, carbón, alúmina y sílice, preferiblemente carbón y alúmina, y se usan en una cantidad comprendida entre 2% y 20% del 4-(3- ó 2-fluorobenciloxi)benzaldehído, preferiblemente entre 5% y 10%.

Los catalizadores de platino y paladio son los más preferidos.

5 Platino sobre carbón activado, en particular, da excelentes resultados tanto en términos de rendimientos, los cuales son casi cuantitativos, como de selectividad, ya que sólo se reduce el doble enlace imino mientras que el enlace entre el átomo de carbono bencílico y los heteroátomos permanecen inalterados. Se encontró que la safinamida y la ralfinamida son sorprendentemente estables en las condiciones de la reacción de reducción y esto es un importante elemento en la producción industrial de grandes cantidades de safinamida o ralfinamida, ya que la prolongación incidental del tiempo de reacción no dañaría a los productos finales.

10 Los mejores resultados se obtuvieron con Pt al 5%/C húmedo (50% H₂O) y en particular con Pt al 5% sobre polvo de carbono de Engelhard S.r.l., Roma, Italia. La reacción de hidrogenación se realiza normalmente a una presión de hidrógeno comprendida entre 1 bar y 10 bares, preferiblemente entre 3 bares y 6 bares y a una temperatura comprendida entre 10°C y 70°C, preferiblemente entre 25°C y 40°C.

Los tiempos de reducción pueden variar de 1 hora a 20 horas, según temperatura, presión, concentración, turbulencia, etc., factores todos bien conocidos por los expertos en la técnica.

Los mejores resultados se obtuvieron con tiempos de reacción de 4-6 horas.

15 Al final de la reacción el catalizador se recupera por filtración y se reutiliza o regenera: el disolvente de reacción se destila a presión reducida, el residuo se disuelve en un disolvente orgánico inmiscible con el agua y las sales inorgánicas se separan por lavado con agua.

La safinamida o ralfinamida final bruta se recuperan separando por destilación el disolvente orgánico en el que están disueltas.

20 A continuación, la safinamida o ralfinamida bruta se purifican por cristalización. La cristalización se lleva preferiblemente a cabo añadiendo a una disolución del respectivo compuesto bruto de fórmula (Ia) o (Ib) en un disolvente orgánico inerte un no-disolvente orgánico miscible inerte. El disolvente orgánico inerte se selecciona preferiblemente de hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno, dimetil benceno y etilbenceno y acetatos de alquilo inferior y, más preferiblemente, es acetato de etilo. El no disolvente orgánico miscible inerte se selecciona preferiblemente de los hidrocarburos alifáticos inferiores, tales como hexano y heptano, y ciclohexano, más preferiblemente es n-hexano.

25 Las bases se transforman a continuación en las sales deseadas según métodos conocidos, en particular se transforman en la sal de metanosulfonato, la cual tiene las propiedades físicas/químicas (estabilidad, granulometría, fluencia, etc.) adecuadas para la subsiguiente formulación en una preparación farmacéutica para su uso como medicamento.

30 **Ejemplo 1**

Preparación de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) purificado por catálisis de transferencia de fase.

35 Una mezcla de cloruro de 2-fluorobencilo (5 kg, 34,58 moles), 4-hidroxibenzaldehído (3,9 kg, 31,94 moles), carbonato de potasio (4,3 kg, 31,11 moles) y bromuro de tetradecil trimetilamonio (0,41 kg, 1,22 moles) en tolueno (9,5 kg) se lleva lentamente, con agitación y en presencia de nitrógeno, a la temperatura de reflujo y se mantiene a reflujo durante 6 h.

A continuación, la disolución se concentra a presión ambiente, se añaden 3 kg de tolueno y se separan por destilación y este procedimiento se repite una vez más.

40 A continuación, la mezcla heterogénea se enfría a temperatura ambiente y el sólido se elimina por filtración. El disolvente residual se elimina a continuación a presión reducida y al residuo oleoso se añaden 1,2 kg de tolueno. La mezcla se calienta a aproximadamente 40°C y se siembra con unos pocos gramos de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído puro.

45 La mezcla heterogénea se agita durante 15 minutos a 35-40°C y a continuación se adiciona n-hexano (9 kg) a esta temperatura en 30 minutos. Después de enfriar a 0-5°C y agitar durante una hora más a esta temperatura el sólido se recoge y se seca a presión reducida para dar 6,5 kg (87,6% de rendimiento) de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído; p.f. 56,7°C (DSC, 5°C/min).

50 La reacción anterior se repite a una escala 1:100 usando 39 g (0,319 moles) de 4-hidroxibenzaldehído como material de partida y siguiendo el procedimiento anteriormente descrito, con la excepción que, después de la eliminación del disolvente de reacción y la adición de tolueno al residuo oleoso la mezcla obtenida se calienta a aproximadamente 30-35 (en lugar de 40°C) y, después de sembrar con una pequeña cantidad de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído puro, la mezcla heterogénea se agita durante 15 minutos a 30°C (en lugar de 35-40°C) antes de añadir n-hexano.

El rendimiento es 66,8 g (90%) de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído, p.f. 56,7°C (DSC, 5°C/min), que tiene una pureza por GC de 92,2 (% de área, véase el ejemplo 16A) y un contenido de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,01% en peso determinado por GC (véase el ejemplo 16B)

(*) Los rendimientos dados en este y en los siguientes ejemplos, cuando no se especifique otra cosa, se dan como rendimientos molares.

1.1 Purificación adicional de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído por cristalización

5 Se disuelve un kilogramo del producto preparado según el procedimiento descrito en el ejemplo 1 en 2 kg de diisopropil éter a reflujo con agitación.

La disolución se enfría a 50-55°C en 10-15 minutos y se siembra con unos pocos gramos de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído puro.

La suspensión se enfría a 10-15°C durante 45-60 minutos y se agita durante una hora adicional.

10 El precipitado se recoge finalmente por filtración, se lava con diisopropil éter frío (0,2 Kg) y se seca a presión reducida para dar 0,93 kg de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído con una pureza GC de 99,8 (% de área, véase el ejemplo 16A) y un contenido de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (Vb) de 0,005% en peso determinado por GC según el ejemplo 16B.

1.2 Preparación de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) por catálisis de transferencia de fase (PTC) usando diferentes catalizadores.

15 Se prepara 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído por alquilación de 4-hidroxibenzaldehído (0,39 g) con cloruro de 2-fluorobencilo siguiendo el mismo procedimiento del ejemplo 1, pero usando tres catalizadores de transferencia de fase diferentes.

Los resultados se presentan en la Tabla 4 siguiente.

Tabla 4

Experimento	Catalizador de transferencia de fase PCT	% Vb **	Rendimiento %
1.2 (a)	Bromuro de tetrabutilfosfonio	0,03	85,0
1.2 (b)	Aliquat 336*	0,03	88,8
1.2 (c)	PEG 400	0,14	96,0
Aliquat 336* Cloruro de tricaprilmetilamonio			
** % Vb: contenido de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (% en peso)			

20 El contenido de Vb se determina por GC según el ejemplo 16B.

1.3 Preparación de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) por catálisis de transferencia de fase (PTC) en xileno.

25 Se prepara 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído con un rendimiento de 86,6% con un contenido de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,02% en peso determinado por GC (véase el ejemplo 16B) haciendo reaccionar 4-hidroxibenzaldehído (0,39 g) con cloruro de 2-fluorobencilo según el mismo procedimiento del ejemplo 1, pero reemplazando tolueno con xileno como disolvente.

1.4 Preparación de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) por catálisis de transferencia de fase usando hidróxido de potasio como base

Se prepara 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído con un rendimiento de 86,7% con un contenido de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,51% en peso determinado por GC (véase el ejemplo 16B) haciendo reaccionar

4-hidroxibenzaldehído (0,39 g) con cloruro de 2-fluorobencilo según el mismo procedimiento del ejemplo 1 pero usando hidróxido de potasio (0,35 moles) en lugar de carbonato de potasio.

Este producto puede purificarse adicionalmente por cristalización según el ejemplo 1.1.

5 1.5 Preparación de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) por catálisis de transferencia de fase usando bromuro de 2-fluorobencilo

Se prepara 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído con un rendimiento de 88,6% con un contenido de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,07% en peso, determinado por GC (véase el ejemplo 16B), haciendo reaccionar 4-hidroxibenzaldehído (15,6 g) con bromuro de 2-fluorobencilo en lugar de cloruro de 2-fluorobencilo según el mismo procedimiento del ejemplo 1.

10 **Ejemplo 2**

Preparación de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (ralfinamida, Ib) de alto grado de pureza (reacción en un solo reactor)

15 Se carga un autoclave con 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (2,0 kg, 8,69 moles) preparado según el ejemplo 1, y a continuación se añade al mismo una disolución preparada aparte de hidrocloreto de L-alaninamida (1,2 kg, 9,63 moles) y trietilamina (0,97 kg, 9,63 moles) en metanol (9,5 kg).

La mezcla se agita a 20-25°C durante aproximadamente 1 hora y luego, después de sembrarla con unos pocos gramos de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilidenoamino]propanamida, se continúa la agitación durante 15 minutos adicionales. A continuación, a la mezcla heterogénea agitada se añaden a 20-25°C metanol (1,6 kg) y Pt al 5%/C húmedo (50% de H₂O) (Engelhard cod.Escat 22, Engelhard S.r.l., Roma, Italia) (0,28 kg).

20 Se purga el aire del autoclave con nitrógeno y luego se introduce hidrógeno a 5,0 bares y la presión se mantiene en este valor durante el curso de la hidrogenación.

Después de 5 horas a 30-35°C, la mezcla de reacción se enfría a 15°C y, después de la adición de metanol (4,8 kg) y calentar a 40-45°C la suspensión se filtra y el sólido se lava con metanol (1,6 kg).

25 El disolvente se elimina a presión reducida a aproximadamente 30°C y al residuo se añade agua (5 L) a 20-25°C con enfriamiento y con agitación, ya que la adición de agua es un proceso exotérmico. La mezcla heterogénea se enfría más hasta 15-20°C, se mantiene a esta temperatura durante 1 hora y luego se filtra. El sólido recogido se lava con agua fría (4 L) y se seca a presión reducida para dar 2,23 kg (85,0% de rendimiento) de ralfinamida con una pureza por HPLC de 98,8 (% de área) determinada según el método del ejemplo 17A y un contenido de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida C,O-dialquilada de 0,01% en peso determinado por HPLC, según el método del ejemplo 17B.

30 2.1 Preparación de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ib) de alto grado de pureza usando un catalizador de paladio

35 Se hidrogena una mezcla de 5 g de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído, preparado según el Ej. 1 y la correspondiente cantidad de hidrocloreto de L-alaninamida y trietilamina según el mismo procedimiento del ejemplo 2, pero usando Pd al 10%/C húmedo (50% de H₂O) en lugar de Pd al 5%/C húmedo (50% de H₂O) para obtener (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ib) con un rendimiento de 70%.

Ejemplo 3

Preparación de metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (metanosulfonato de ralfinamida, Id) de alto grado de pureza

40 Se disuelve ralfinamida (2,8 kg, 9,26 moles), preparada como se describió en el ejemplo 2, en isopropanol (19,5 kg) y se mantiene a 65-70°C y con agitación en atmósfera inerte.

45 Después del tratamiento con carbón (150 g) y filtración, la disolución se siembra con metanosulfonato de ralfinamida puro y se añade ácido metanosulfónico (900 g, 9,36 moles) en 30 minutos con agitación y a una temperatura de 50-55°C. La suspensión se enfría a continuación a 15-20°C en 2 horas y se continúa la agitación durante una hora adicional. El sólido se recoge finalmente por filtración y se seca a presión reducida para dar 3,59 kg (97,3% de rendimiento) de metanosulfonato de ralfinamida.

La pureza por HPLC del producto obtenido es 99,8 (% de área, véase el ejemplo 17A) y el contenido de metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida C,O-dialquilado es 0,005% en peso (véase el ejemplo 17B); p.f. 240,6°C por DSC (5°C/min).

50 La pureza enantiomérica del metanosulfonato de ralfinamida determinada con una columna quiral de HPLC es mayor que 99,8 (% de área, véase el ejemplo 18).

Ejemplo 4

Preparación de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) purificado en disolución de etanol

5 A una mezcla de 4-hidroxibenzaldehído (1,52 kg, 12,45 moles), carbonato de potasio, (1,72 kg, 12,45 moles), yoduro de potasio (0,2 kg, 1,20 moles) en etanol (13,0 kg), se añaden 1,8 kg de cloruro de 3-fluorobencilo (1,80 kg, 12,45 moles) con agitación, a temperatura ambiente.

La mezcla se calienta gradualmente a reflujo y a continuación se mantiene a esa temperatura durante 6 horas.

La mezcla de reacción se deja enfriar a continuación a 25°C, la suspensión se filtra y el sólido se lava con etanol (1,0 kg); las disoluciones de etanol se combinan y a continuación se concentra a presión reducida hasta que se obtiene un residuo de aproximadamente 3,5 kg.

10 A este residuo se añaden tolueno (5,0 kg) y agua (1,7 kg), la mezcla disolvente se agita vigorosamente durante 30 minutos y, después de la separación de la fase acuosa, la capa orgánica se evapora a sequedad a presión reducida para dar 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído bruto.

A este producto disuelto en 2 kg de tolueno se añade con agitación una semilla de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído a 20-25°C, luego se añade n-hexano (3,8 kg) en 30 minutos y la mezcla se enfría a 0°C con agitación.

15 Después de 2 horas el sólido se filtra y se lava con n-hexano (1,3 kg). Después de secar se obtienen 2,6 kg (90,7% de rendimiento) del producto deseado con una pureza por cromatografía de gases de 99,9 (% de área, véase el ejemplo 16A) y un contenido de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,005% en peso determinado por G.C. (% de área, véase el ejemplo 16B); p.f. 43,1°C por DSC 5°C/min.

Ejemplo 5

20 Preparación de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) por catálisis de transferencia de fase

Una mezcla de cloruro de 3-fluorobencilo (5 kg, 34,58 moles), 4-hidroxibenzaldehído (3,9 kg, 31,94 moles), carbonato de potasio (4,3 kg, 31,11 moles) y bromuro de tetradecil trimetilamonio (0,41 kg, 1,22 moles) en tolueno (13,5 kg) se lleva lentamente a la temperatura de reflujo con agitación y en atmósfera de nitrógeno, y a continuación se mantiene a reflujo durante 6 horas.

25 La disolución se concentra a presión ambiente y a continuación se añaden 3 kg de tolueno y se separan por destilación. Este procedimiento se repitió una vez más.

30 A continuación, la mezcla heterogénea se enfría a temperatura ambiente y el sólido se elimina por filtración. El disolvente residual se elimina a presión reducida y a continuación se añaden 1,2 kg de tolueno al residuo oleoso. La mezcla se agita a 20-25°C y se siembra con unos pocos gramos de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído puro, y a continuación se adiciona n-hexano (9 kg) a esta temperatura, en 30 minutos.

Después de enfriar a 0-5°C y agitar durante otra hora a esta temperatura el sólido se recoge por filtración y se seca a presión reducida para dar 6,5 kg (85% de rendimiento), pureza por GC 99,9 (% de área, véase el ejemplo 16A) y un contenido de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,008% en peso (véase el ejemplo 16B).

5.1 Purificación adicional de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) por cristalización

35 Se disuelve en 2 kg de diisopropil éter un kilogramo de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído, preparado según el ejemplo 5, a reflujo con agitación. La disolución se enfría a 50-55°C en 10-15 minutos y se siembra con unos pocos gramos de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído puro.

La suspensión se enfría a 10-15°C durante 45-60 minutos y se agita durante una hora adicional.

40 El precipitado se recoge finalmente por filtración, se lava con diisopropil éter frío (0,2 Kg) y se seca a presión reducida para dar 0,95 kg de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído con una pureza GC de 99,9 (% de área, véase el ejemplo 16A) y un contenido de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído menor que 0,005% en peso determinado por GC (véase el ejemplo 16B).

5.2 Preparación de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) por catálisis de transferencia de fase usando bromuro de 3-fluorobencilo

45 Se prepara 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído con un rendimiento del 86,1% con un contenido de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,07% en peso determinado por GC (véase el ejemplo 16B) haciendo reaccionar 4-hidroxibenzaldehído (15,6 g) con bromuro de 3-fluorobencilo según el mismo procedimiento del ejemplo 5 pero usando bromuro de 3-fluorobencilo en lugar de cloruro de 3-fluorobencilo.

El 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído así obtenido se purifica según el ejemplo 5.1 para dar el producto del título con un rendimiento del 97,3% con un contenido de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,07% en peso determinado por GC (véase el ejemplo 16B).

5.3 Preparación de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) por catálisis de transferencia de fase usando metanosulfonato de 3-fluorobencilo

Se prepara 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído con un rendimiento del 97,5% con un contenido de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,45% en peso, determinado por GC (véase el ejemplo 16B), haciendo reaccionar 4-hidroxibenzaldehído (15,6 g) con metanosulfonato de 3-fluorobencilo en lugar de cloruro de 3-fluorobencilo según el mismo procedimiento del ejemplo 5. Este producto se purifica adicionalmente según el procedimiento del ejemplo 5.1.

Ejemplo 6

Preparación de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (safinamida, Ia) de alto grado de pureza (reacción en un solo reactor)

Se carga un autoclave con 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (2,0 kg, 8,69 moles) preparado como en el ejemplo 4, y a continuación se añade al mismo una disolución preparada aparte de hidrocloreto de L-alaninamida (1,2 kg, 9,63 moles) y trietilamina (0,97 kg, 9,63 moles) en metanol (7,1 kg).

La mezcla se agita a 20-25°C durante 1 hora y, después de sembrarla con unos pocos gramos de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilidenoamino]propanamida, se continúa la agitación durante 15 minutos adicionales. A continuación, a la mezcla heterogénea agitada se añaden a 20-25°C metanol (1,8 kg) y Pt al 5%/C húmedo (50% de H₂O) (Engelhard cod.Escat 22) (0,3 kg).

Se purga el aire del autoclave con nitrógeno y a continuación se introduce hidrógeno a 5,0 bares.

Después de 5 horas a 30-35°C, la mezcla se enfría a 15°C, se añade metanol (4,8 kg) y la mezcla se calienta a 40-45°C; finalmente, el sólido se separa por filtración y se lava con metanol (1,6 kg).

El disolvente se elimina a presión reducida aproximadamente a 30°C y a continuación se añade al residuo una mezcla de acetato de etilo (23,0 kg) y agua (18,0 kg). Después de agitar durante 15 minutos, la fase acuosa se separa y se extrae con acetato de etilo (7,0 kg). Las fases orgánicas recogidas se concentran hasta que se obtiene un residuo de aproximadamente 6,0 kg. A este residuo se añade n-heptano (10,8 kg) y la mezcla se agita a 20°C durante aproximadamente 2 horas. El sólido se recoge a continuación por filtración y se lava con n-heptano.

Después de secar el sólido a presión reducida, se obtienen 2,41 kg (91,8% de rendimiento) del compuesto del título con una pureza por HPLC de 98,4 (% de área, véase el ejemplo 17A), y un contenido de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida C,O-dibencilada de 0,005% en peso (véase el ejemplo 17B).

6.1 Preparación de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia) de alto grado de pureza usando un catalizador de Pd

Se hidrogena (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (5 g) en presencia de las correspondientes cantidades de hidrocloreto de L-alaninamida y trietilamina según el mismo procedimiento del ejemplo 6, usando Pd al 10%/C húmedo (50% H₂O) en lugar de Pd al 5%/C húmedo (50% H₂O), para producir Ia con un rendimiento de 72%.

6.2 Preparación de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia) de alto grado de pureza por hidrogenación a 1 bar

Se hidrogena una mezcla de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído, hidrocloreto de L-alaninamida y trietilamina según el mismo procedimiento del ejemplo 6, pero a 1 bar/H₂ en lugar de 5 bar/H₂.

El rendimiento de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es 90% con una pureza por HPLC de 98,7 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida de 0,005% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

6.3 Preparación de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia) de alto grado de pureza (reacción en un solo reactor) usando L-alaninamida como base

Se hace reaccionar (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (10 g) según el mismo procedimiento del ejemplo 6, pero usando L-alaninamida como base, en lugar de su hidrocloreto y trietilamina. El rendimiento de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es 92% con una pureza por HPLC de 99,7 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida menor que 0,005% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

Ejemplo 7

Preparación de metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (metanosulfonato de safinamida, Ic) de alto grado de pureza

Se disuelve en acetato de etilo (56,5 kg) a 65°C safinamida (2,41 kg, 7,97 moles), preparada como se describió en el ejemplo 6, y se decolora con carbón (100 g).

5 Después de filtrar, la disolución se agita y se siembra con unos pocos gramos de metanosulfonato de safinamida y, después de 15 minutos, se añade ácido metanosulfónico (850 g, 8,84 moles) en 30 minutos a una temperatura de 50-55°C. La suspensión se enfría con agitación a 20-25°C durante 2 minutos y se agita durante una hora adicional. El precipitado se recoge finalmente por filtración y se seca a presión reducida para dar 2,83 kg (89,1% de rendimiento) de metanosulfonato de safinamida.

10 El contenido de impureza metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIc) medido por HPLC (véase el ejemplo 17B) es de 0,005% en peso. El compuesto del título tiene un p.f. de 216,8°C por DSC (5°C/min).

La pureza enantiomérica, medida con una columna quiral de HPLC, es superior al 99,9 (% de área, véase el ejemplo 19).

15 ¹H-RMN (D₂O) (Bruker A V300) δ (ppm, con respecto a H₂O a 4,7 ppm): 1,43 (3H, d, J = 7 Hz, CH₃); 2,66 (3H, s, CH₃SO₃); 3,87 (1H, q, J = 7 Hz, H-2); 3,97 (2H, bs, CH₂NR); 4,89 (2H, s, CH₂OR); 6,88 y 7,23 (4H, sistema AA'XX' aromático p-disustituido); 6,90 ÷ 7,22 (4H, H aromático)

20 ¹³C-RMN (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, CH aromático); 114,76 (d, J_{C-F} = 20 Hz, CH aromático); 115,38 (CH aromático); 123,06 (d, J_{C-F} = 24 Hz, CH aromático); 123,24; 130,29 (d, J_{C-F} = 6 Hz, CH aromático); 131,54 (CH aromático); 138,76 (d, J_{C-F} = 7 Hz, CH aromático); 158,52; 162,89 (d, J_{C-F} = 245 Hz, C-F); 171,92 (CO)

Ejemplo 8

Preparación de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (safinamida, Ia) de alto grado de pureza, con aislamiento de la base de Schiff intermedia (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilidenoamino]propanamida (VI a)

25 a) (S)-2-[4-(3-Fluorobenciloxi)bencilidenoamino]propanamida (VIa)

A una suspensión de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (60,0 g 0,26 moles), preparado como en el ejemplo 5 e hidrocloreuro de L-alaninamida (35,7 g 0,29 moles) en metanol (280 mL), se añade trietilamina (29,1 g, 0,29 moles) a temperatura ambiente con agitación en atmósfera de nitrógeno. La agitación se mantiene durante una hora adicional con agitación.

30 A continuación, la disolución se siembra con unos pocos mg de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilidenoamino]propanamida, la temperatura se disminuye a 5-10°C y la agitación se continúa durante 2 horas.

El sólido se recoge por filtración y se lava con metanol a 0°C.

35 Después de secarlo a presión reducida, se obtienen 57,3 g (73,2% de rendimiento) del compuesto del título con p.f. 112,0°C por DSC (5°C/min).

¹H-RMN (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm, con respecto a TMS a 2,55 ppm; disolvente DMSO a 3,35 ppm): 1,31 (3H, d, J = 7 Hz, CH₃); 3,86 (1H, q, J = 7 Hz, H-2); 5,18 (2H, s, CH₂OR); 7,08 y 7,79 (4H, sistema aromático p-disustituido AA'XX'); 7,10-7,50 (4H, m, H aromático); 8,27 (1H, s, CH=NR).

40 ¹³C-RMN (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm): 20,5 (CH₃); 67,6 (CH); 68,4 (OCH₂); 114,1 y 114,4 (d, J_{C-F} = 21 Hz, CH aromático); 114,5 y 114,8 (d, J_{C-F} = 21 Hz; CH aromático); 114,8 (CH aromático); 123,5 (d, J_{C-F} = 2 Hz, CH aromático); 129,0 y 129,9 (CH aromático); 130,4 y 130,5 (d, J_{C-F} = 7 Hz, CH aromático); 139,6 y 139,7 (d, J_{C-F} = 6 Hz C aromático cuaternario); 160,2; 160,5 y 163,8 (d, J_{C-F} = 245 Hz C-F); 160,6 (CH=N); 174,8 (CO)

b) (S)-2-[4-(3-Fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia)

45 Se carga un autoclave con (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilideno-amino]propanamida (16,0 g; 0,053 moles), preparada como se describió anteriormente, y a la misma se añadieron Pt al 5%/C húmedo (50% H₂O) (1,7 kg: Engelhard S.r.l., Roma, Italia) y metanol (90 mL). El autoclave se purga de aire con nitrógeno y a continuación se introduce hidrógeno a 5,0 bares. La reacción se mantiene a 5,0 bares y a 35°C durante 1 hora. Después de enfriar a temperatura ambiente y eliminar el catalizador por filtración, el disolvente se separa por destilación a presión reducida hasta que se obtiene un residuo de aproximadamente 30 g. A este residuo se añade una mezcla de acetato de etilo (150 mL) y H₂O (110 mL) y la mezcla heterogénea se calienta a 40°C hasta que obtienen dos fases transparentes. Estas dos fases se separan y la capa acuosa se extrae con 50 mL de acetato de etilo a 40°C. Las fases orgánicas se recogen y se evaporan a sequedad. El procedimiento se repite dos veces añadiendo cada vez 90

mL de acetato de etilo para fabricar el producto anhidro. A continuación, se añaden lentamente al residuo 95 mL de n-heptano y con agitación. La mezcla se mantiene entonces con agitación durante 3 horas a 20°C. El sólido formado se recoge por filtración, se lava con n-heptano (15 mL) y se seca a presión reducida para dar 15,2 g (94,8% de rendimiento) de safinamida con una pureza por HPLC de 99,8 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida menor que 0,005% en peso medido por HPLC (véase el ejemplo 17B).

Ejemplo 9

Preparación de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (ralfinamida, Ib) de alto grado de pureza, con aislamiento de la base de Schiff intermedia (8)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilidenoamino]propanamida (VI b)

10 a) (S)-2-[4-(2-Fluorobenciloxi)bencilidenoamino]propanamida (VIb)

Se prepara (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilidenoamino]propanamida con un rendimiento de 88%, p.f. 121°C (capilar), siguiendo el mismo procedimiento del ejemplo 8, etapa a) pero usando 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído en lugar de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído.

15 ¹H-RMN: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, con respecto a TMS): 1,46 (3H, d, J= 7,0 Hz, CH₃); 3,91 (1H, q, J= 7,0 Hz, CH-CO); 5,17 (2H, s, O-CH₂); 7,02 (2H, d, J=8,9 Hz H aromático orto a O-CH₂); 7,09 (1H, ddd, J_{H-F} = 9,78 Hz J_{orto}= 8,55 Hz J_{meta} = 1,23 Hz H aromático orto a F); 7,15 (1H, dt, J_{orto}= 7,35 Hz J_{meta}= 1,23 Hz H aromático para a F); 7,27-7,40 (1H, m, H aromático para a CH₂); 7,48 (1H, dt, J_{orto}= J_{H-F}= 7,35 Hz J_{meta}= 1,53 Hz H aromático orto a CH₂); 7,71 (2H, d, J=8,9 Hz H aromático orto a CH=N); 8,17 (1H, s, C=N)

20 ¹³C-RMN: (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, CH aromático); 115,5 (d, J_{C-F}= 20,7 Hz, CH aromático); 123,7 (d, J_{C-F}= 14,4 Hz, C aromático cuaternario); 124,5 (bd, CH aromático); 129,0 (C aromático cuaternario); 129,8 (bd, CH aromático); 130,1 (bd, 2 CH aromáticos); 160,5 (d, J_{C-F}= 246,4 Hz, C aromático cuaternario); 161,1 (C-O aromático); 161,1 (C=N); 176,9 (CONH₂).

b) (S)-2-[4-(2-Fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ib)

25 Se prepara (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida con un rendimiento de 93% a partir de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilidenoamino]propanamida siguiendo el mismo procedimiento del ejemplo 8, etapa b). El contenido de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida es 0,02% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

Ejemplo 10

Preparación de metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIc)

30 a) 3-(3-Fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (Va)

A un matraz de fondo redondo de 4 L mantenido en atmósfera de nitrógeno, se añaden secuencialmente 4-hidroxibenzaldehído (400 g, 3,28 moles), carbonato de potasio (453 g, 3,28 moles), tolueno (2 L) y cloruro de 3-fluorobencilo (1400 g, 9,68 moles) y la mezcla se mantiene a reflujo con agitación durante 5 días. En este momento, un análisis por GC revela que la mezcla de reacción contiene 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído y 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído en una relación de 91,4 : 8,6 (área/área, véase el ejemplo 16A).

La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y a continuación se añaden 2 L de agua con agitación. La fase orgánica se separa y el disolvente se destila a presión reducida (20 mm de Hg) a 35°C hasta que no pasa más disolvente. La presión se disminuye entonces a 3 mm de Hg y la temperatura externa se eleva hasta 300°C y se recoge la fracción que destila entre 255°C y 265°C (40,6 g).

40 Un análisis por GC muestra una relación área/área de derivado C,O-dibencilado (Va) del compuesto del título frente al monoalquilado (IVa) de 99,6:0,4 (área/área, véase el ejemplo 16A).

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

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

50 b) (S)-2-[3-(3-Fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIa)

Se añade a 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (35,6 g, 0,105 moles) en un matraz de 500 mL, una disolución previamente preparada cuidadosamente añadiendo con agitación trietilamina (12 g, 0,119 moles) a una disolución de hidrocloreto de L-alaninamida (14,8 g, 0,119 moles) en 170 mL de metanol, a temperatura ambiente.

5 Esta mezcla de reacción se agita durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se transfiere a un autoclave de 1,8 L y se adicionan 3,4 g de Pt al 5%/C húmedo (50% H₂O).

El aire se purga del autoclave con nitrógeno y a continuación se introduce hidrógeno a 5,0 bares.

La reacción se realiza a una temperatura de 35°C durante 3-5 horas.

10 Después de enfriar a temperatura ambiente y eliminar el catalizador por filtración, el disolvente se separa por destilación a presión reducida hasta que se obtiene un residuo de aproximadamente 65 g. A este residuo se añade una mezcla de acetato de etilo (340 mL) y agua (250 mL) y la mezcla heterogénea se calienta a 40°C y se mantiene a esta temperatura sin agitación, hasta que se obtienen dos fases transparentes. Las dos fases se separan y la orgánica se destila a presión reducida, hasta que se obtiene un residuo de aproximadamente 50 g.

15 Este residuo se disuelve en 220 mL de acetato de etilo y el disolvente se separa por destilación a presión reducida con una temperatura externa de 40°C. Esta operación se repite dos veces y el compuesto del título se obtiene como un residuo sólido.

c) Metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIc)

En un reactor de vidrio de 2 L se disuelven 42,4 g (0,103 moles) de base (S)-3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida en 950 mL de acetato de etilo.

20 La disolución se calienta con agitación a 50-55°C y se mantiene a esta temperatura durante una hora. A esta disolución, se añaden 14,5 g (0,15 moles) de ácido metanosulfónico en 20 minutos, y la temperatura se disminuye a 20°C en 90 minutos. Después de 30 minutos el sólido se recoge por filtración, se seca a 50°C a presión reducida y a continuación se cristaliza en metanol (metanol:producto 1:5 en peso) para obtener 25,1 g de metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida, p.f. 181°C (capilar).

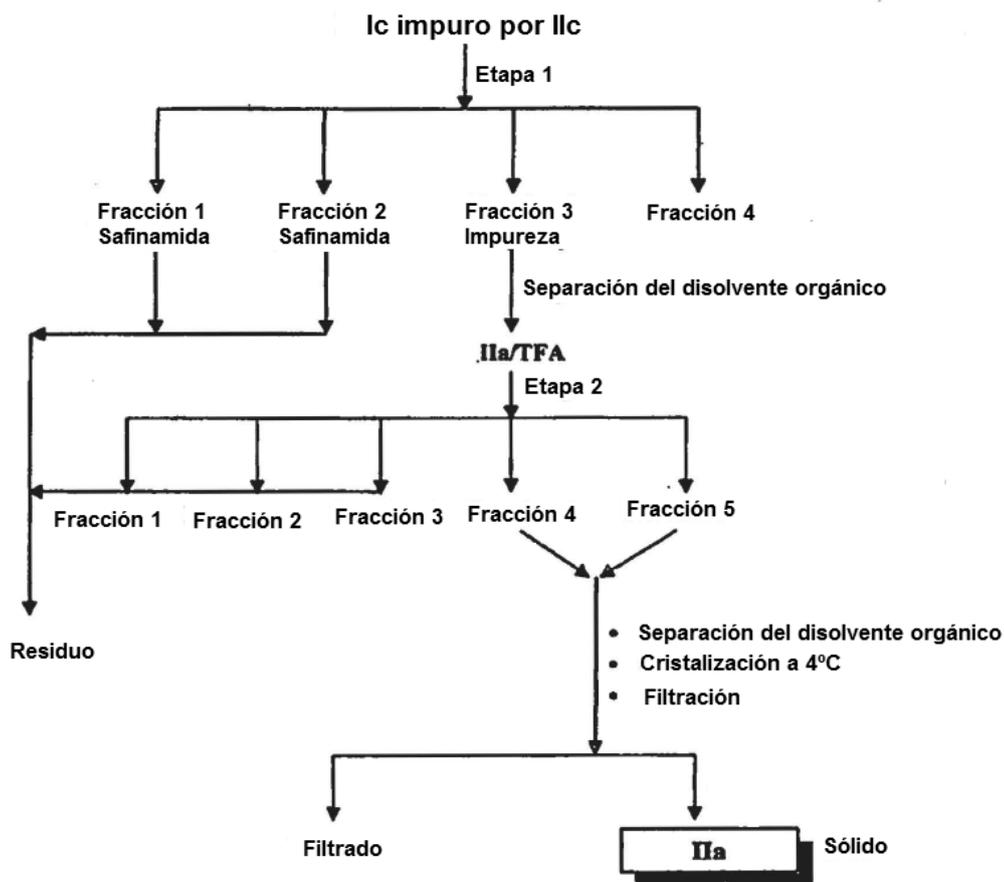
25 ¹H-RMN (DMSO-d₆) (Bruker AV300) δ (ppm, con respecto a TMS): 1,44 (3H, d, J = 7 Hz, CH₃); 2,35 (3H, s, CH₃SO₃); 3,81 (1H, q, J = 7 Hz, H-2), 3,99 (2H, bs, CH₂ bencilico); 4,02 (2H, sistema AB, CH₂N-); 5,17 (2H, s, CH₂OR); 6,98-7,63 (11H, m, H aromático); 7,62 y 7,75 (2H, bs, NH₂ amida); 9,02 (2H, ancho, NH₂⁺).

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

35 Se aísla una muestra (90 mg) de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIa) también por HPLC preparativa a partir de 200 g de metanosulfonato de safinamida (Ic) preparado según J. Med. Chem., 1998, 41, 579, método A, que le contiene, como metanosulfonato (IIc), en 0,12% en peso.

La separación se realiza en dos etapas (Etapa 1 y Etapa 2), según el siguiente esquema:

Aislamiento de IIa por HPLC preparativa de metanosulfonato de safinamida (Ic) contaminado con 0,12% en peso de IIc



Etapa 1

El alcance de esta primera etapa es aislar un producto bruto enriquecido en IIa/TFA (ácido trifluoroacético).

Las condiciones de la HPLC preparativa se dan a continuación:

5 Condiciones de la HPLC preparativa:

Instrumento: Waters Delta Prep 4000 (bomba de pistón, controlador de gradiente con mezclador de baja presión)

Módulo de Compresión Radial Prep LC Base (Waters)

Detector UV-Variable Jasco 7125, o.p. 0,2 mm

Impresora-Trazador de gráficos Merk D2000

Columna: Delta Pak C18, 15µm, 40x100mm (Waters)

Eluyente A: Agua/Acetonitrilo 70/30 + 0,1% de TFA

Eluyente B: Agua/Acetonitrilo 30/70 + 0,1% de TFA

Caudal: 27,0 mL/min

Gradiente: 40 min, isocrático 100% A, luego hasta 100% B en 1 minuto

Detección: UV 227 nm

Inyección: 5 g en 50 mL de agua (por la línea D de entrada a la bomba)

Etapa 2

Esta etapa se necesita para eliminar el TFA de Ila/TFA y para además purificar Ila.

Ila/TFA se somete a cromatografía usando las condiciones de HPLC preparativa dadas más adelante.

- 5 Las fracciones 4 y 5 se combinan conjuntamente y se evaporan 40°C a vacío hasta la separación completa de acetonitrilo. La disolución de agua residual se mantiene en un refrigerador a 4°C. El sólido insoluble se aísla por filtración y se seca a vacío a temperatura ambiente para dar Ila (90 mg; pureza 100% por HPLC).

Condiciones de la HPLC preparativa:

Instrumento: Waters Delta Prep 4000 (bomba de pistón, controlador gradiente con mezclador de baja presión)

Detector UV-Variable Jasco 7125, o.p. 0,2 mm

Impresora-Trazador de gráficos Merk D2000

Columna: Symmetry C18, 7 µm, 20x250mm (Waters)

Eluyente A: Agua/Acetonitrilo 70/30

Eluyente B: Agua/Acetonitrilo 30/70

Caudal: 15,0 mL/min

Gradiente: 20 min, isocrático 100% A, luego hasta 100% B en 10 minutos

Detección: UV 227 nm

Inyección: 50 mL de disolución de impureza "Ila/TFA" (por la línea D de entrada a la bomba)

Ejemplo 11

Preparación de metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIc)

- 10 a) 3-(2-Fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (Vb)

Se prepara 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído siguiendo el mismo procedimiento del ejemplo 10, etapa a) a una escala 1:10, pero usando cloruro de 2-fluorobencilo en lugar de cloruro de 3-fluorobencilo. El rendimiento molar es 3% con una pureza de 98,1 determinada por análisis por GC (% de área, véase el ejemplo 16A). El producto tiene un p.f. de 71°C (capilar).

- 15 ¹H-RMN: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, con respecto a TMS): 4,06 (2H, s, CH₂); 5,23 (2H, s, OCH₂); 6,95-7,40 (9H, m, H aromático); 7,67 (1H, bd, J= 0,9 Hz, H aromático orto a C=O y CH₂); 7,76 (1H, dd, J₁= 2,1 Hz, J₂= 8,3 Hz, H aromático orto a C=O y CH aromático); 9,84 (1 H, s, CHO).

- 20 ¹³C-RMN: (CDCl₃, 75,4 Hz, 298 K) δ (ppm): 29,2 (CH₂); 64,1 (OCH₂); 111,4 (CH aromático); 115,4 (d, J_{C-F}= 22,0 Hz, CH aromático); 115,5 (d, J_{C-F}= 21,1 Hz, CH aromático); 123,3 (d, J_{C-F}= 14,2 Hz, C aromático cuaternario); 124,1 (d, J_{C-F}= 2,6 Hz, CH aromático); 124,5 (d, J_{C-F}= 3,2 Hz, CH aromático); 126,6 (d, J_{C-F}= 15,5 Hz, C aromático cuaternario); 128,2 (d, J_{C-F}= 8,1 Hz, CH aromático); 129,6 (d, J_{C-F}= 6,2 Hz, CH aromático); 129,6 (C aromático cuaternario); 130,0 (C aromático cuaternario); 130,2 (d, J_{C-F}= 8,3 Hz, CH aromático); 131,1 (CH aromático); 131,3 (d, J_{C-F}= 4,1 Hz, CH aromático); 131,8 (CH aromático); 160,5 (d, J_{C-F}= 246,8 Hz, C aromático cuaternario); 161,2 (d, J_{C-F}= 245,1 Hz, C aromático cuaternario); 161,3 (C aromático cuaternario); 191,1 (CHO).

- 25 b) (S)-2-[3-(2-Fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIb)

Se prepara (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]-propanamida siguiendo el mismo procedimiento del ejemplo 10, etapa b) usando 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído en lugar de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído. El rendimiento es 83%; p.f. 161°C (capilar).

¹H-RMN: (CDCl₃, 300 MHz, 298K) δ (ppm, con respecto a 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, H diastereotópico de 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, H aromático orto a CH₂NH y CH aromático); 6,95-7,40 (10H, m, H aromático);

5 ¹³C-RMN: (CDCl₃, 75,4 MHz, 298K) δ (ppm): 19,6 (CH₃); 29,2 (CH₂); 52,0 (NHCH₂); 57,7 (H₂NCOCH); 63,8 (OCH₂); 111,7 (CH aromático); 115,2 (d, J_{C-F}= 21,9 Hz, CH aromático), 115,3 (d, J_{C-F}= 21,3 Hz, CH aromático); 124,0 (d, J_{C-F}= 3,5 Hz, CH aromático); 124,3 (d, J_{C-F}= 2,9 Hz, CH aromático); 124,3 (d, J_{C-F}= 14,4 Hz, C aromático cuaternario); 127,5 (CH aromático); 127,6 (d, J_{C-F}= 15,0 Hz, C aromático cuaternario); 127,8 (d, J_{C-F}= 7,5 Hz, CH aromático); 128,8 (C aromático cuaternario); 129,0-130,0 (m, 2 CH aromático); 130,5 (CH aromático); 131,3 (d, J_{C-F}= 4,6 Hz, CH aromático); 131,8 (C aromático cuaternario); 155,6 (C aromático cuaternario); 160,4 (d, J_{C-F}= 245,8 Hz, C aromático cuaternario); 161,2 (d, J_{C-F}= 244,6 Hz, C aromático cuaternario); 178,2 (CONH₂).

c) Metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IId)

Se prepara metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida siguiendo el mismo procedimiento del ejemplo 10, etapa c) pero usando (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida como material de partida. El rendimiento es 89%; p.f. 190°C (capilar).

¹H-RMN: (DMSO-d₆, 300 MHz, 298 K) δ (ppm, con respecto a TMS): 1,42 (3H, d, J= 6,8 Hz, CH₃CH); 2,33 (3H, s, CH₃SO₃); 3,50-4,20 (5H, m, CH-CO, CH₂, H diastereotópico de NCH₂); 5,19 (2H, s, OCH₂); 6,95-8,00 (11 H, m, H aromático); 9,02 (2H, bs, NH₂⁺).

20 ¹³C-RMN: (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 (CH aromático); 115,0-117,0 (m, 2 CH aromático); 124,2 (d, J_{C-F}= 14,4 Hz, C aromático cuaternario); 124,4 (C aromático cuaternario); 124,8 (CH aromático); 125,0 (CH aromático); 127,3 (d, J_{C-F}= 16,1 Hz, C aromático cuaternario); 128,6 (C aromático cuaternario); 128,8 (CH aromático); 129,0-133,0 (m, 5 CH aromáticos); 156,9 (C aromático cuaternario); 160,8 (d, J_{C-F}= 245,2 Hz, C aromático cuaternario); 160,9 (d, J_{C-F}= 243,5 Hz, C aromático cuaternario); 171,1 (CONH₂).

25 Ejemplo 12

Preparación de metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (safinamida) (Ic) a partir de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) contaminado con 1% en peso de impureza 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (Va)

30 Se añade 1% de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído a 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (10 g; pureza por GC 98,8, % de área) y la mezcla se convierte en (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida safinamida base siguiendo el mismo procedimiento del ejemplo 6. El rendimiento es 84% con un contenido de impureza (IIa) de 0,84% (véase el ejemplo 17B) en peso.

35 La base libre (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia) se convierte en el correspondiente metanosulfonato siguiendo el mismo procedimiento del ejemplo 7 para dar el metanosulfonato (Ic) con un rendimiento de 98% con un contenido de impureza metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIc) de 0,62% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

Ejemplo 13

Cristalización de metanosulfonato de safinamida (Ic) contaminado con la impureza (IIc)

40 El metanosulfonato de safinamida contaminado con metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIc) de 0,62% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B), obtenido según el ejemplo 12, es cristalizado usando cinco sistemas de disolventes diferentes disolviendo a la temperatura de reflujo y enfriando a temperatura ambiente.

El resultado se da en la siguiente Tabla 5.

Tabla 5

Ensayo no.	Sistema disolvente y cantidad (ml/g)	% p/p de iic en ic después de cristalizar (*)	Rendimiento molar %
13a	2-PrOH/MeOH 2:1, 45	0,28	44,9
13b	EtOAc/MeOH 4:1, 50	0,15	29,6
13c	EtOH, 10	0,30	73,2

Ensayo no.	Sistema disolvente y cantidad (ml/g)	% p/p de iic en ic después de cristalizar (*)	Rendimiento molar %
13d	Acetona/H ₂ O ~27:1, 40,5	0,08	20,6
13e	Acetonitrilo/H ₂ O 60:1, 30,5	0,09	69,3

(*) El % (p/p) se evalúa según el ejemplo 17B.

Ejemplo 14

Preparación de metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (safinamida, Ia) (Ic) según los métodos descritos en la técnica anterior

14.1 Preparación de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa)

5 14.1.a) Procedimiento del ejemplo 1a del documento US 6.335.354 B2

Se prepara 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) por el procedimiento descrito en el ejemplo 1a del documento US 6.335.354 B2.

10 Por consiguiente, una mezcla de cloruro de 3-fluorobencilo (2,86 g, 19,80 mmoles) 4-hidroxibenzaldehído (3,03 g, 24,80 mmoles), K₂CO₃ (10,30 g, 74,50 mmoles), NaI (137,1 mg, 0,91 mmoles), y etanol, (40 mL) se calienta a reflujo en 70 minutos y se mantiene a la temperatura de reflujo durante 4 horas y 15 minutos.

Después de tratar la mezcla de reacción, se aísla 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído como un aceite amarillo con un rendimiento del 95%.

El producto tiene una pureza por GC de 97,6 (% de área, véase el ejemplo 16A) y un contenido de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (Va) de 0,14% en peso determinado por GC (véase el ejemplo 16B)

15 14.1.b) Procedimiento de J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979

Se prepara 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) por el procedimiento dado en J. Agric. Food Chem, 27, 4, 1979.

Por consiguiente, se añade cloruro de 3-fluorobencilo (14,5 g, 100 mmoles) con agitación y en atmósfera de nitrógeno a una disolución de 4-hidroxibenzaldehído (12,2 g, 100 mmoles) y de NaOH (4,0 g, 100 mmoles) en etanol (100 mL).

20 La mezcla se calienta gradualmente en 25 minutos a reflujo y se agita a temperatura de reflujo durante 6 horas y 20 minutos. La mezcla de reacción se filtra y a continuación se concentra a presión reducida para obtener 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (23,43 g) como un residuo sólido amarillo. Se añade diclorometano (250 mL) al residuo, el sólido insoluble se filtra y la disolución resultante se concentra a presión reducida para dar 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído como un sólido amarillo, con un rendimiento del 80,4%. El producto tiene una pureza por GC de 91,6 (% de área, véase el ejemplo 16A) y un contenido de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (Va) de 0,13% en peso determinado por GC (véase el ejemplo 16B).

14.2 Preparación de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia) y su sal de metanosulfonato (Ic)

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

30 Se prepara (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia) haciendo reaccionar 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (10 mmoles), preparado como se describe en el ejemplo 14.1.a., e hidrocioruro de L-alaninamida (1,37 g, 11 mmoles) seguido por reducción con NaBH₃CN(0,50 g, 8 mmoles). Después de tratar la mezcla de reacción y de purificación por cromatografía rápida se aísla (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida como un sólido blanco con un rendimiento del 68,7%. El producto tiene una pureza por HPLC del 96,2 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIa) de 0,15% en peso (véase el ejemplo 17B).

40 Una mezcla de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino] propanamida (1,50 g, 4,96 mmoles) y acetato de etilo (40,2 mL) se calienta a 50°C hasta que se obtiene una disolución transparente. Se añade ácido metanosulfónico (0,53 g, 5,51 mmoles) con agitación en 15 minutos a la disolución y la mezcla heterogénea resultante se enfría con agitación a 20°C en 90 minutos. Después de 30 minutos a 20°C el sólido se recoge por filtración, se lava con acetato de etilo (6 mL) y se seca a 50°C a presión reducida durante 15 h para dar metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino] propanamida (Ic) como un sólido blanco con un rendimiento de 96,1%. El producto tiene una pureza por HPLC de 98,6 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-

fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIc) de 0,10% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

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

5 Se prepara (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia) según el ejemplo 14.2.a a partir de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (10 mmoles), preparado como se describió en el ejemplo 14.1.b., e hidrocioruro de L-alaninamida (1,37 g, 11 mmoles) seguido por reducción con NaBH₃CN(0,50 g, 8 mmoles).

10 Se obtiene (S)-2[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia) como un sólido blanco con un rendimiento de 66,5%. El producto tiene una pureza por HPLC de 88,5 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIb) de 0,064% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B). La (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ia) se convierte en el correspondiente metanosulfonato (Ic) con un rendimiento de 88,9% por tratamiento con ácido metanosulfónico según el ejemplo 14.2.a. El producto tiene una pureza por HPLC de 97,7 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIc) de 0,05% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

15 Ejemplo 15

Preparación de metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (ralfinamida, Ib) (Id) según los métodos descritos en la técnica anterior

15.1 Preparación de 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa)

15.1.a) Procedimiento del ejemplo 1a del documento US 6.335.354 B2

20 Se prepara 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) según el ejemplo 14.1.a) a partir de cloruro de 2-fluorobencilo (14,3 g, 98 mmoles), 4-hidroxibenzaldehído (15,1 g, 123 mmoles), K₂CO₃ (51 g, 369 mmoles), NaI (500 mg, 3,3 mmoles), etanol, 75 mL.

25 La mezcla se mantiene a reflujo durante 12 h. Después de tratar la mezcla de reacción, se obtiene 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído con un rendimiento de 75% como un aceite amarillo. El producto tiene una pureza por GC de 92,1 (% de área, véase el ejemplo 16A) y un contenido de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído de 0,25% en peso determinado por G.C. (véase el ejemplo 16B).

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

Se prepara 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) según el ejemplo 14.1.b a partir de cloruro de 2-fluorobencilo (18,0 g, 123 mmoles), 4-hidroxibenzaldehído (15,3 g, 125 mmoles), NaOH (5,0 g, 12 mmoles) y etanol (125 mL).

30 La mezcla se calienta en 25 minutos a reflujo y se mantiene a temperatura de reflujo con agitación durante 12 horas.

Después de tratar la mezcla de reacción según el ejemplo 14.1.b se obtiene 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído como un sólido amarillo con un rendimiento de 90,0%. El producto tiene una pureza por GC de 90,4 (% de área, véase el ejemplo 16A) y un contenido de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (Vb) de 0,14% en peso determinado por G.C. (véase el ejemplo 16B)

35 15.2 Preparación de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ib) y su sal de metanosulfonato (Id)

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

Se prepara (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ib) siguiendo el procedimiento del ejemplo 14.2.a usando 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (10 mmoles, preparado como en el ejemplo 15.1a) en lugar de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído.

40 Se obtiene (S)-2[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida con un rendimiento de 67,3% como un sólido blanco. El producto tiene una pureza por HPLC de 86,7 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIb) de 0,22% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

45 Se calienta una mezcla de (S)-2[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (1,50 g, 4,96 mmoles) y propan-2-ol (10,5 mL) a 50°C y se mantiene a esta temperatura hasta que se obtiene una disolución transparente. Se añade ácido metanosulfónico (0,48 g, 5,01 mmoles) con agitación en 15 minutos.

50 La mezcla heterogénea se enfría a continuación con agitación a 20°C en 2 horas. Después de 1 hora a 20°C el sólido se recoge por filtración, se seca a presión reducida para dar metanosulfonato de (S)-2[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida como un sólido blanco con un rendimiento de 89,1%. El producto tiene una pureza por HPLC de 96,9 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-

fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IId) de 0,14% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

15.2.b) Procedimiento de J. Med. Chem. 1998, 41, 579, método A

5 Se prepara (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ib) según el ejemplo 14.2.b usando 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (10 mmoles, preparado según el ejemplo 15.1.b) en lugar de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído.

10 Se obtiene (S)-2[4-(2-fluorobenciloxi)benzalamino]propanamida con un rendimiento de 58,8% como un sólido blanco. El producto tiene una pureza por HPLC de 83,8 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIb) de 0,15% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

La (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (Ib) se convierte en el correspondiente metanosulfonato (Id) con un rendimiento de 89,4% como un sólido blanco. El producto tiene una pureza por HPLC de 95,2 (% de área, véase el ejemplo 17A) y un contenido de metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida de 0,11% en peso determinado por HPLC (véase el ejemplo 17B).

15 Ejemplo 16A

Determinación por GC de la pureza de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído y 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído.

Preparación del ensayo

Se disuelven aproximadamente 100 mg de la muestra de ensayo en 10 mL de fase móvil.

Condiciones cromatográficas

20 El procedimiento cromatográfico se lleva a cabo usando:

- Una columna capilar de sílice de combustión de 60 m de longitud y 0,32 mm de diámetro interno. RTX 35 (35% Difenilo- 65% Dimetil polisiloxano) Espesor de película= 0,25 µm;
- Helio como gas portador a una presión de 150 kPa;
- Un caudal de división de 25 mL/min;
- 25 - Temp. del inyector 290°C;
- Temp. del detector (FID) 290°C;

con el siguiente programa de temperatura:

Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Velocidad (°C/min)	Comentario
0-5	150	-	Isotermo
5-11	150→240	15	Gradiente lineal
11-19	240	-	Isotermo
19-20,7	240→290	30	Gradiente lineal
20,7-40	290	-	Isotermo

Procedimiento

30 Se inyecta 1 µl de la Preparación de Ensayo. Se registra el cromatograma y se calcula la pureza del producto mediante cálculo del tanto por ciento de área.

Identificación de impurezas

4-(3-Fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa):

Tiempos de retención:

El tiempo de retención de 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 17.

El tiempo de retención relativo del 4-hidroxibenzaldehído es aproximadamente 0,52.

El tiempo de retención relativo del 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 0,98.

El tiempo de retención relativo del 4-(4-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 1,01.

El tiempo de retención relativo del 4-benciloxibenzaldehído es aproximadamente 1,02.

- 5 El tiempo de retención relativo del 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 1,78.

4-(2-Fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb):

Tiempos de retención:

El tiempo de retención del 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 17.

El tiempo de retención relativo del 4-hidroxibenzaldehído es aproximadamente 0,53.

- 10 El tiempo de retención relativo del 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 1,02.

El tiempo de retención relativo del 4-(4-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 1,03.

El tiempo de retención relativo del 4-benciloxibenzaldehído es aproximadamente 1,04.

El tiempo de retención relativo del 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 1,81.

Ejemplo 16B

- 15 Determinación por GC del contenido de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (Vb) en 4-(2-fluorobenciloxi) benzaldehído (IVb) y de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi) benzaldehído (Va) en 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa)

- 20 La sustancia relacionada conocida tomada en consideración para 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído es el 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído y para 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído es el 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído. La determinación se lleva a cabo según las siguientes condiciones:

Disolución de patrón interno

Se prepara una disolución de 3,4,5-trimetoxibenzaldehído con una concentración de 1,5 mg/mL en cloruro de metileno (IS).

- 25 Disolución de referencia para la determinación de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído en el 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído:

- 30 Se pesan con precisión aproximadamente 20 mg de patrón de referencia 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído y 20 mg de patrón de referencia 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído en un matraz volumétrico de 20 mL, se disuelven y se enrasa con diluyente; se transfieren 500 µL de esta disolución a un matraz volumétrico de 5 mL, se añaden 500 µL de disolución IS y se enrasa con diluyente para obtener una disolución que contiene 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído y 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído en aproximadamente 100 µg/mL (correspondiente a aproximadamente 0,10%).

Disolución de referencia para la determinación de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi) benzaldehído en el 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído:

- 35 Se pesan con precisión aproximadamente 20 mg de patrón de referencia 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído y 20 mg de patrón de referencia 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído en un matraz volumétrico de 20 mL, se disuelven y se enrasa con diluyente; se transfieren 500 µL de esta disolución a un matraz volumétrico de 5 mL, se añaden 500 µL de disolución IS y se enrasa con diluyente para obtener una disolución que contiene 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído y 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído en aproximadamente 100 µg/mL (correspondiente a aproximadamente 0,10%).

- 40 Disolución de ensayo:

Se pesan con precisión aproximadamente 500 mg de producto de ensayo en un matraz volumétrico de 5 mL, se añaden 500 µL de disolución IS, se disuelven y se enrasa con diluyente para obtener una disolución que tiene una concentración conocida de aproximadamente 100 mg/mL.

Condiciones cromatográficas:

- 45 El procedimiento cromatográfico se lleva a cabo usando:

ES 2 527 437 T3

- Columna: columna capilar de sílice de combustión RTX 35 (35% Difenilo-65% Dimetil polisiloxano) 60 m de longitud, 0,32 mm de diámetro interno, espesor de película 0,25 µm;
- Gas portador (helio) a una presión de 150 kPa;
- Caudal de división 25 mL/min;
- 5 - Temp. del inyector 290°C;
- Temp. del detector (FID) 290°C;
- Programa de temperatura: 0-5 min isoterma a 150°C , 5-11 min lineal de 150°C a 240°C a una velocidad de 15°C/min, 11-19 min isoterma a 240°C, 19-21 min lineal de 240°C a 290°C a una velocidad de 30°C/min, 21-40 min isoterma a 290°C;
- 10 - Diluyente: cloruro de metileno
- Volumen de inyección, 1 µl.

Procedimiento:

Se inyecta el blanco (diluyente), la disolución de referencia, la disolución de ensayo y se registran los cromatogramas.

- 15 En el cromatograma de referencia verifíquese que:

El tiempo de retención del 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 18 min;

El tiempo de retención relativo de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 1,7

o

El tiempo de retención del 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 18 min;

- 20 El tiempo de retención relativo de 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído es aproximadamente 1,7

El tiempo de retención relativo del 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (IS) es aproximadamente 0,7.

Se calcula el contenido en tanto por ciento de 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído en el 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído examinado o del 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído en el 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído examinado por cálculo con el patrón interno.

- 25 El valor del límite de cuantificación (LOQ) del (3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído y del 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído es 0,005% en peso. El valor del límite de detección (LOD) de ambas impurezas consideradas es 0,0025% en peso.

Ejemplo 17A

- 30 Determinación por HPLC de la pureza de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi) bencilamino]propanamida (safinamida Ia), su metanosulfonato (Ic), (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino] propanamida (ralfinamida, Ib) y su metanosulfonato (Id).

El siguiente procedimiento cromatográfico es adecuado tanto para la forma de base libre (Ia, Ib) como para la sal de metanosulfonato (Ic, Id) de los productos.

Diluyente

- 35 Fase móvil.

Disolución de ensayo

Se pesan con precisión aproximadamente 25 mg de producto de ensayo en un matraz volumétrico de 25 mL, se disuelven y se enrasa con diluyente para obtener una disolución que tiene una concentración conocida de aproximadamente 1,0 mg/mL.

- 40 Condiciones cromatográficas

El procedimiento cromatográfico se lleva a cabo usando:

- Columna: Waters Symmetry C8, 150x4,6 mm, 5µ;

- Detección: UV 220 nm;
- Temperatura de la columna: 30°C
- Fase móvil: 40% disolvente A + 10% disolvente B + 50% disolvente C, conteniendo 1,0 g/L de octanosulfonato de sodio;

- 5 Disolvente A: Disolución amortiguadora del pH = KH_2PO_4 0,05 M;
 Disolvente B: acetonitrilo;
 Disolvente C: metanol;

- Elución isocrática, tiempo de ejecución: 60 minutos.

- Caudal: 1,0 ml/min;

- 10 - Volumen de inyección: 10 μL .

Procedimiento

Se inyecta la disolución de ensayo, se registra el cromatograma y se calcula la pureza del producto mediante el cálculo del tanto por ciento de área.

Identificación de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (safinamida) e impurezas relacionadas

- 15 Tiempo de retención:

El tiempo de retención de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 5,5 min.

El tiempo de retención relativo del ácido (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propiónico es aproximadamente 0,73.

- 20 El tiempo de retención relativo de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida es aproximadamente 4,08.

Identificación de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (ralfinamida) e impurezas relacionadas

Tiempo de retención:

El tiempo de retención de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 5,5 min.

- 25 El tiempo de retención relativo del ácido (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propiónico es aproximadamente 0,73.

El tiempo de retención relativo de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida es aproximadamente 4,08.

Ejemplo 17B

- 30 Determinación por HPLC de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi) bencilamino]propanamida (base libre, IIb y metanosulfonato, IId) en (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre, Ib y metanosulfonato, Id) y de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre, IIa y metanosulfonato, IIc) en (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre, Ia y metanosulfonato, Ic)

- 35 La determinación de la (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre y metanosulfonato) en muestras de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre y metanosulfonato) y de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre y metanosulfonato) en muestras de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre y metanosulfonato) se lleva a cabo según las siguientes condiciones:

Disolución de referencia para la determinación de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en la (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida:

- 40 Se pesan con precisión aproximadamente 30 mg de patrón de referencia metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida y 20 mg de patrón de referencia de metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en un matraz volumétrico de 50 mL, se disuelven y se enrasa con diluyente; se diluye 1,0 mL de esta disolución hasta 20 mL con diluyente (1ª dilución); se diluye 1,0 mL de la última disolución hasta 20 mL con diluyente (2ª dilución) para obtener una disolución que contiene 2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (aproximadamente 0,12%) de aproximadamente 1,20
- 45

µg/mL y metanosulfonato de (S)-2-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida de aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

5 Disolución de referencia para la determinación de metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en el metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida:

10 Se pesan con precisión aproximadamente 30 mg de patrón de referencia metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida y 20 mg de patrón de referencia de metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en un matraz volumétrico de 50 mL, se disuelven y se enrasa con diluyente; se diluye 1,0 mL de esta disolución hasta 20 mL con diluyente (1ª dilución); se diluye 1,0 mL de la última disolución hasta 20 mL con diluyente (2ª dilución) para obtener una disolución que contiene 2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (aproximadamente 0,15% como sal del ácido metanosulfónico) a aproximadamente 1,20 µg/mL y metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida a aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

15 Disolución de referencia para la determinación de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en la (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida:

20 Se pesan con precisión aproximadamente 24 mg de patrón de referencia de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida y 20 mg de patrón de referencia de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en un matraz volumétrico de 50 mL, se disuelven y se enrasa con diluyente; se diluye 1,0 mL de esta disolución hasta 20 mL con diluyente (1ª dilución); se diluye 1,0 mL de la última disolución hasta 20 mL con diluyente (2ª dilución) para obtener una disolución que contiene 2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (aproximadamente 0,12%) de aproximadamente 1,20 µg/mL y metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida de aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

25 Disolución de referencia para el metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en el metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida:

30 Se pesan con precisión aproximadamente 24 mg de patrón de referencia de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida y 20 mg de patrón de referencia de metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en un matraz volumétrico de 50 mL, se disuelven y se enrasa con diluyente; se diluye 1,0 mL de esta disolución hasta 20 mL con diluyente (1ª dilución); se diluye 1,0 mL de la última disolución hasta 20 mL con diluyente (2ª dilución) para obtener una disolución que contiene 2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (aproximadamente 0,15% como sal del ácido metanosulfónico) a aproximadamente 1,20 µg/mL y metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida a aproximadamente 1,00 µg/mL (aproximadamente 0,10%).

35 Disolución de ensayo:

Se pesan con precisión aproximadamente 25 mg de producto de ensayo en un matraz volumétrico de 25 mL, se disuelven y se enrasa con diluyente para obtener una disolución que tiene una concentración conocida de aproximadamente 1,0 mg/mL.

Condiciones cromatográficas:

40 El procedimiento cromatográfico se lleva a cabo usando:

- Columna: Waters Simmetry C8 150 x 4,6 mm, 5µ , o equivalente
- Temperatura de la columna: 30°C
- Fase móvil: mezcla de 40% disolvente A : 10% disolvente B : 50% disolvente C, que contiene 1 g/L de octanosulfonato de sodio

45 Disolvente A: Disolución amortiguadora del pH KH₂PO₄ 0,05 M;

Disolvente B: acetonitrilo;

Disolvente C: metanol;

- Elución isocrática;
- Tiempo de ejecución: 60 min;

50 - Caudal: 1,0 ml/min;

- Detección: UV 220 nm;
- Volumen de inyección: 100 µL.
- Diluyente: fase móvil

Procedimiento:

- 5 Se inyecta el blanco (diluyente), la disolución de referencia, la disolución de ensayo y se registran los cromatogramas.

En el cromatograma de referencia se verifican los siguientes parámetros de idoneidad del sistema:

El tiempo de retención de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 5,2 minutos;

- 10 El intervalo USP para el pico de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida está en el intervalo entre 0,8 y 1,5;

El tiempo de retención relativo de la (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 5,1.

o

El tiempo de retención de la (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 5,5 minutos;

- 15 El intervalo USP para el pico de la (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida está en el intervalo entre 0,8 y 1,5;

El tiempo de retención relativo de la (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 4,1.

Se ajusta la fase móvil con el fin de obtener la idoneidad del sistema.

- 20 Se calcula el contenido en tanto por ciento de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre y metanosulfonato) en las muestras examinadas de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre y metanosulfonato) y de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre y metanosulfonato) en las muestras examinadas de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (base libre y metanosulfonato) mediante cálculo con patrones externos.

- 25 El valor del límite de cuantificación (LOQ) para (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida y para (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en las correspondientes (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida y (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es 0,004% en peso. El valor del límite de cuantificación (LOQ) para el metanosulfonato de (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida y para el metanosulfonato de (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en los correspondientes metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida y metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es 0,005% en peso. El valor del límite de detección para todas las impurezas consideradas es 0,001% en peso.

Ejemplo 18

- 35 Determinación por HPLC de la pureza enantiomérica de metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (ralfinamida) (Id)

La pureza enantiomérica de la muestra se evalúa por HPLC. La determinación se lleva a cabo según sigue:

Disolución patrón 1:

- 40 Se disuelven aproximadamente 5,3 mg de patrón de referencia de metanosulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida en 25 mL de fase móvil.

Disolución patrón 2:

Se disuelven aproximadamente 8,0 mg de patrón de referencia de metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida y 0,2 mL de disolución patrón 1 en 50 mL de fase móvil.

- 45 La concentración de metanosulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 0,5% calculada con respecto a la concentración de metanosulfonato de (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida.

Disoluciones de ensayo 1 y 2:

Se disuelven por duplicado aproximadamente 8,0 mg del producto de ensayo en 50 mL de fase móvil.

Condiciones cromatográficas:

- Columna: Chiralpak WH 250 mm x 4,6 mm, D.I. 5µm;
- 5 - Temperatura de la columna: 45°C;
- Fase móvil: CuSO₄ 0,25 mM (se pesan con precisión aproximadamente 40 mg de CuSO₄ en 1000 mL de agua)/MeOH 60/40;
- Elución isocrática;
- Caudal: 1,0 mL/min;
- 10 - Detección: UV 230 nm;
- Volumen de inyección: 10 µl;
- Tiempo de ejecución: 15 minutos.

Procedimiento:

- 15 Se analiza el blanco (fase móvil) una vez, la disolución patrón 2 dos veces, las disoluciones de ensayo 1 y 2 una vez y se verifica que:
 - Para las inyecciones de los patrones la RSD% para el área en tanto por ciento de metanosulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es menos que 2,0%;
 - Tanto para las disoluciones patrón como para las disoluciones de las muestras, para cada inyección el área en tanto por ciento del pico principal está incluida entre el valor medio ± 0,1%.
- 20 Se calcula el contenido (área en tanto por ciento) de metanosulfonato de (R)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida como la media de dos determinaciones.

Tiempos de retención:

El tiempo de retención de la (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 5,7 min.

El tiempo de retención relativo de la (R)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 1,7.

25 Ejemplo 19

Determinación por HPLC de la pureza enantiomérica de metanosulfonato de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (safinamida) (Ic)

La pureza enantiomérica de la muestra se evalúa por HPLC. La determinación se lleva a cabo según las siguientes condiciones:

- 30 Disolución de ensayo:
 - Se disuelven aproximadamente 10 mg de la muestra de ensayo en 10 mL de fase móvil.
- Condiciones cromatográficas:
 - Columna: Chiralpak WH 250 mm x 4,6 mm, D.I. 10 µm;
 - Temperatura de la columna: 50°C;
 - 35 - Fase móvil: CuSO₄ 0,25 mM
 - Elución isocrática;
 - Caudal: 1,0 ml/min;
 - Detección: UV 200 nm;
 - Volumen de inyección: 10 µl;
 - 40 - Tiempo de ejecución: 30 minutos.

Procedimiento:

Se inyecta la disolución de ensayo y se calcula la respuesta de los picos de los enantiómeros en tanto por ciento de área.

El tiempo de retención de (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 9,2 min.

- 5 El tiempo de retención relativo de la (R)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida es aproximadamente 1,9.

Ejemplo 20**Ensayo del citocromo P450**

- 10 La inhibición de los cinco isomorfos más importantes del citocromo P450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4), implicados en el metabolismo de los fármacos, se midió usando sustratos específicos que se vuelven fluorescentes tras el metabolismo de CYP (ensayo con el kit Gentest Kit).

Los compuestos se ensayaron en una placa de 96 pocillos que contenía disolución tampón de incubación/regenerante de NADPH. Se añadieron isoenzimas recombinantes de ser humano y sustratos específicos y se incubaron a 37°C durante 15 minutos para CYP1A2/CEC, 40 minutos for CYP2E1/MFC, 45 minutos para CYP2C9/MFC y 30 minutos para los otros CYP450.

- 15 Los sustratos específicos fueron los siguientes: 3-ciano-7-etoxicumarina (CYP2C19 y CYP1A2), 7-metoxi-4-trifluorometilcumarina (CYP2C9), 3-[2-(N,N-dietil-N-metilamino)etil]-7-metoxi-4-metilcumarina (CYP2D6), bencilfenilcumarina (CYP3A4).

- 20 Las placas se leyeron en un lector de placas Víctor (Perkin Elmer) a las longitudes de onda de emisión/excitación apropiadas, y se determinaron las IC₅₀ (concentración que inhibe en un 50% la actividad de la enzima). Los resultados se presentan en las Tablas 1 y 2.

Ejemplo 21**Ensayo de citotoxicidad en la línea celular SH-SY-5Y de neuroblastoma de ser humano**

- 25 En el tiempo cero, las células se sembraron a razón de $1.10^4/cm^2$ en placas de 96 pocillos en medio de crecimiento DMEM + FBS al 10% inactivado térmicamente + 1-Glutamina 2mM + penicilina/estreptomicina 100 U/mL - 100 µg/mL.

Después de 72 horas en la fase de crecimiento subconfluente, el medio se separó y las células se incubaron durante 24 horas a 37°C en 180 µL de medio neurobasal + 1-Glutamina 2 mM (Life Technologies) con o sin los compuestos de ensayo (20 µL, al menos 5 concentraciones por triplicado).

- 30 Al final de la incubación, se añadieron directamente 20 µL de colorante Alamar Blue (AlamarBlue™ Assay Kit, Promega) al medio celular.

Cuatro horas después se evaluó la citotoxicidad midiendo la fluorescencia a 530 nm para la excitación y 595 nm para la emisión usando un lector de placas Tecan Spectrafluor.

Antes del final del tratamiento, los cultivos se monitorizaron microscópicamente mediante un microscopio de luz invertida Olympus IX70 unido a un analizador de imágenes (Image Pro Plus, 5.1) para evaluar la morfología celular.

- 35 Los resultados se expresan en la Tabla 1 como la concentración que induce un 50% de mortalidad.

Ejemplo 22**Corriente HERG en líneas de células CHO transfectadas**

La inhibición de la corriente HERG se ensayó en células CHO que expresaban establemente el canal HERG recombinante.

- 40 Para evaluar el efecto de los compuestos de ensayo sobre las corrientes HERG, las células se fijaron a -80 mV, se despolarizaron a 0 mV durante 5 segundos lo que permitió la activación de la corriente HERG y se repolarizaron a -50 mV durante 5 segundos lo que permitió que la corriente de cola HERG se desactivara. Este procedimiento se repitió a una frecuencia de 0,06 Hz. La amplitud de la corriente tras la repolarización (corriente de cola HERG) se midió antes y después de la exposición al compuesto de ensayo.

- 45 La inhibición de la corriente se calculó como la diferencia entre la amplitud de la corriente de cola HERG medida al final del período de perfusión del baño externo y la corriente de cola HERG medida al final del período de perfusión del compuesto de ensayo (cuando se alcanza el efecto del estado de equilibrio) dividida entre la corriente de cola HERG testigo.

5 Las curvas de concentración de fármaco-inhibición se obtuvieron representando gráficamente los bloques tónicos frente a las concentraciones de fármaco. Las curvas dosis-respuesta se ajustaron a los datos de bloques tónicos, según la ecuación logística: $y = A2 + (A1 - A2) / [1 + (x / IC_{50})^p]$. A1 y A2 son valores fijos de 0 y 1 que corresponden a una inhibición de la corriente de 0 y 100%, x es la concentración de fármaco, IC_{50} es la concentración de fármaco que da lugar a una inhibición de la corriente del 50% y p es el correspondiente factor de la pendiente.

Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Ejemplo 23

Ensayo del Electrochoque Máximo (MES) en ratones

10 El ensayo del Electrochoque Máximo (MES) se usa comúnmente en la exploración de fármacos anti-epilépticos en modelos de roedores.

15 Animales y aparato: se usaron ratones CD1 macho que pesaban 25 g. Se siguió el procedimiento descrito por White et al. (White H. S., Woodhead J. H., Franklin M. R., Swinyard E. A., and Wolf H. H. Antiepileptic Drugs (1995) 4ª ed.: 99-110, Raven Press, Ltd., Nueva York). Se usó un generador electroconvulsor Ugo Basile (Model ECT UNIT 7801) para aplicar un estímulo eléctrico suficiente para producir una respuesta extensora tónica en las extremidades posteriores en al menos 97% de los animales testigo. El estímulo se aplicó intra-auralmente a través de electrodos presilla en ratones (0,7 segundos de un choque de 40 mA, con un tren de pulsos de 80 Hz que tenía una duración de pulsos de 0,4 ms). El efecto agudo de los compuestos administrados intraperitoneal u oralmente 15-60 minutos antes de la inducción MES se examinó y comparó con un grupo testigo tratado con vehículo. Se estudiaron diez ratones por grupo. La supresión completa del componente de convulsiones extensoras tónicas de las extremidades posteriores se tomó como evidencia de actividad anticonvulsiva.

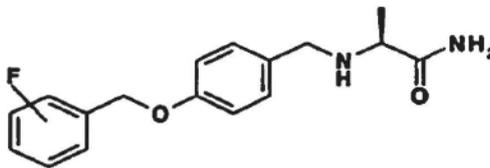
20

Los compuestos de la invención se administraron oral o intraperitonealmente a las dosis de 3-30 mg/kg.

Los resultados se expresan en las Tablas 3 y 4 como % de protección.

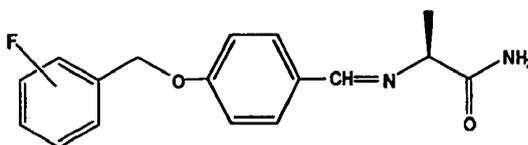
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para producir (S)-2-[4-(3-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (safinamida) o (S)-2-[4-(2-fluorobenciloxi)bencilamino]propanamida (ralfinamida) de alto grado de pureza de fórmulas (Ia) y (Ib)



safinamida (Ia): 3-F
ralfinamida (Ib): 2-F

5 y sus sales con un ácido farmacéuticamente aceptable, caracterizado porque una base de Schiff intermedia respectivamente de fórmula (VIa) o (VIb)



(VIa): 3-F

(VIb): 2-F

10 se envía a una hidrogenación catalítica con hidrógeno gas en presencia de un catalizador heterogéneo en un disolvente orgánico prótico y, cuando la safinamida o la ralfinamida se obtienen en forma de la base libre, y, cuando se desea una de sus sales con un ácido farmacéuticamente aceptable, se convierte dicha forma de base libre en una de sus sales con un ácido farmacéuticamente aceptable.

2. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde la hidrogenación catalítica se lleva a cabo usando un catalizador heterogéneo seleccionado de catalizadores de níquel, rodio, platino y paladio sobre un soporte inerte en presencia de un disolvente seleccionado de alcoholes alifáticos inferiores de (C₁-C₅).

15 3. Un procedimiento según la reivindicación 2, donde el disolvente se selecciona de metanol, etanol e isopropanol.

4. Un procedimiento según la reivindicación 1, donde el catalizador es un catalizador de paladio o de platino.

5. Un procedimiento según la reivindicación 4, donde el catalizador es un catalizador de platino.

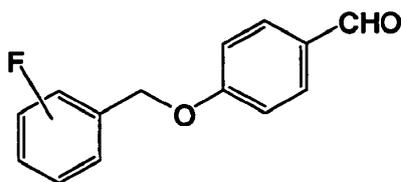
20 6. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el catalizador es Pt al 5%/C húmedo (50% H₂O) o Pd al 10%/C húmedo (50% H₂O).

7. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el ácido farmacéuticamente aceptable es el ácido metanosulfónico.

8. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde la presión de hidrógeno está comprendida entre 1 y 10 bares y la temperatura está comprendida entre 10°C y 70°C.

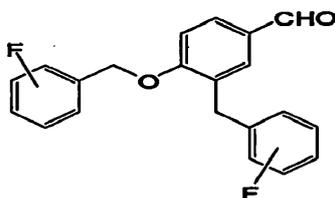
25 9. Un procedimiento según la reivindicación 8, donde la presión de hidrógeno está comprendida entre 3 y 6 bares y la temperatura está comprendida entre 25°C y 40°C.

10. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde la hidrogenación catalítica se lleva a cabo sobre un compuesto intermedio tipo base de Schiff (VIa) o (VIb) que ha sido preparado a través de la iminoalquilación del 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) o del 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb)

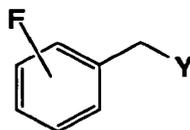
**(IVa):3-F (IVb):2-F**

con L-alaninamida en presencia de un disolvente orgánico prótico.

11. Un procedimiento según la reivindicación 10, donde la L-alaninamida se emplea como una de sus sales de adición de ácidos en presencia de una base en una cantidad suficiente para obtener L-alaninamida libre a partir de su sal.
12. Un procedimiento según la reivindicación 10, donde la hidrogenación catalítica del compuesto intermedio tipo base de Schiff se realiza sobre la misma mezcla de reacción procedente de la finalización de la reacción de iminoalquilación en condiciones que provoquen la precipitación de dicho compuesto intermedio tipo base de Schiff para obtener una suspensión de dicho compuesto intermedio en el mismo disolvente de reacción.
13. Un procedimiento según la reivindicación 10, donde el compuesto intermedio tipo base de Schiff procedente de la finalización de la reacción de iminoalquilación se aísla antes de experimentar la etapa de hidrogenación catalítica.
14. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde el 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído o el 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído de fórmula (IVa) o (IVb) empleado como material de partida para obtener el compuesto intermedio tipo base de Schiff de fórmula (VIa) o (VIb) contiene menos que 0,03% (en peso) de las respectivas impurezas 3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (Va) o 3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (Vb).

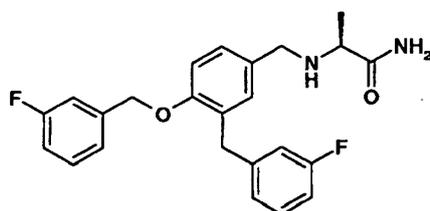
**(Va):3-F (Vb):2-F**

15. Un procedimiento según la reivindicación 14, donde el 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) o el 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) contienen 0,01% o menos (en peso) de las respectivas impurezas (Va) y (Vb).
16. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 14 y 15, donde el 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) o el 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) se obtienen por alquilación de 4-hidroxibenzaldehído con, respectivamente, el 3-fluorobencil o el 2-fluorobencil derivado (IIIa) o (IIIb)

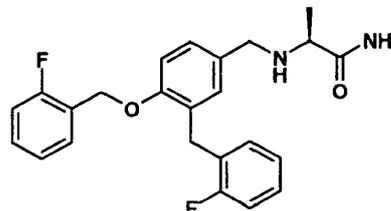
**(IIIa): 3-F****(IIIb): 2-F**

- en la que Y es un grupo saliente que incluye Cl, Br, I, OSO₂CH₃ y OSO₂-C₆H₄-pCH₃, en presencia de una base y se envía a cristalización antes del uso en la sucesiva etapa de reacción.
17. Un procedimiento según la reivindicación 16, donde Y es Cl.
18. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 16 y 17, donde la cristalización se lleva a cabo añadiendo un no disolvente orgánico inerte a una disolución del 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) o del 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) en un disolvente orgánico inerte.
19. Un procedimiento según la reivindicación 18, donde el no disolvente orgánico inerte es n-hexano y el disolvente orgánico inerte es tolueno.

20. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 16 y 17, donde la cristalización se lleva a cabo disolviendo el 4-(3-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVa) o el 4-(2-fluorobenciloxi)benzaldehído (IVb) en un disolvente caliente que es ciclohexano o un éter de di(C₃-C₄)alquilo, y enfriando a continuación la disolución a temperatura ambiente.
- 5 21. Un procedimiento según la reivindicación 20, donde el disolvente caliente es diisopropil éter a reflujo y la disolución se enfría luego a 10-15°C.
22. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 21, donde la reacción de alquilación se lleva a cabo en condiciones de transferencia de fase.
- 10 23. Un procedimiento según la reivindicación 22, donde la alquilación en condiciones de transferencia de fase se realiza en un sistema sólido/líquido donde los reactivos y el catalizador de transferencia de fase se disuelven en una fase orgánica líquida y la fase sólida está constituida por una base inorgánica o una sal de 4-hidroxibenzaldehído con dicha base inorgánica.
- 15 24. Un procedimiento según la reivindicación 22, donde la alquilación en condiciones de transferencia de fase se realiza en un sistema líquido/líquido donde el reactivo alquilante 3-fluorobencil ó 2-fluorobencil derivado de fórmula (IIIa) o (IIIb) se disuelve en una fase orgánica líquida y el 4-hidroxibenzaldehído se disuelve en una fase acuosa como una sal con una base inorgánica.
25. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 22 a 24, donde el catalizador de transferencia de fase se selecciona de sales de amonio o fosfonio cuaternario o de polietilenglicoles de bajo peso molecular.
- 20 26. Un procedimiento según la reivindicación 25, donde la cantidad de catalizador de transferencia de fase está entre 0,02 a 1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldehído.
27. Un procedimiento según la reivindicación 26, donde la cantidad de catalizador de transferencia de fase es 0,1 a 1 mol por mol de 4-hidroxibenzaldehído.
28. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 23 a 27, donde el disolvente orgánico de la fase orgánica líquida se selecciona de dialquil éteres e hidrocarburos aromáticos.
- 25 29. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28, donde la relación molar entre el reactivo alquilante de fórmula (IIIa) o (IIIb) y 4-hidroxibenzaldehído está comprendida entre 0,6 y 1,5.
30. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 23 a 29, donde la temperatura está entre 60°C y 160°C.
- 30 31. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 23 a 30, donde la base inorgánica se selecciona de Na₂CO₃, K₂CO₃, NaOH y KOH, la temperatura está entre 80°C y 120°C y la relación entre el reactivo alquilante de fórmula (IIIa) o (IIIb) y 4-hidroxibenzaldehído está comprendida entre 0,9 y 1,1.
- 35 32. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 31, donde la safinamida o la ralfinamida o sus sales con un ácido farmacéuticamente aceptable tienen un contenido de la respectiva impureza (S)-2-[3-(3-fluorobencil)-4-(3-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIa) o (S)-2-[3-(2-fluorobencil)-4-(2-fluorobenciloxi)-bencilamino]propanamida (IIb)



(IIa)



(IIb)

o de sus sales con un ácido farmacéuticamente aceptable menor que 0,03%, (en peso).

33. Un procedimiento según la reivindicación 32, donde el contenido de las respectivas impurezas (IIa) y (IIb) es menor que 0,01 % (en peso).
- 40 34. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 32 y 33, donde el ácido farmacéuticamente aceptable es el ácido metanosulfónico y el contenido de la respectiva impureza de fórmula (IIa) o (IIb) como la sal con ácido metanosulfónico es menor que 0,01% (en peso).

35. La base de Schiff aislada de fórmula (VIa) o (VIb)

