

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 804 050**

51 Int. Cl.:

C07D 279/20 (2006.01)

C07D 279/22 (2006.01)

A61K 31/5415 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.07.2007** E 11191740 (7)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020** EP 2431359

54 Título: **Procedimiento de preparación de compuestos de diaminofenotiazinio**

30 Prioridad:

12.07.2006 FR 0606330

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

02.02.2021

73 Titular/es:

**PROVEPHARM LIFE SOLUTIONS (100.0%)
Les Baronnies, 22 rue Marc Donadille
13013 Marseille, FR**

72 Inventor/es:

**FERAUD, MICHEL y
SAYAH, BABAK**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 804 050 T3

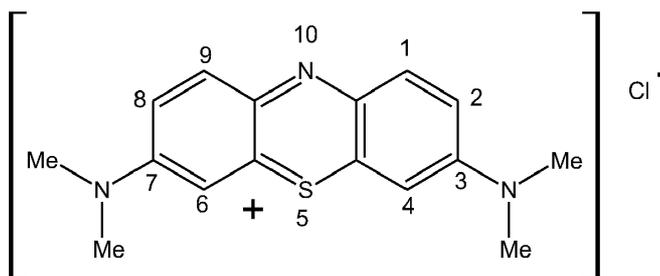
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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 de preparación de compuestos de diaminofenotiazinio

5 La presente invención tiene por objeto un nuevo procedimiento de preparación de compuestos de tipo diaminofenotiazinio, en particular un procedimiento de purificación de estos compuestos. Se refiere, en particular, al azul de metileno, y la solicitud describe los productos que resultan de este procedimiento, cuyo grado de pureza es más elevado que los conocidos de la técnica anterior. La solicitud describe también la utilización de estos compuestos para la preparación de medicamentos.

10 El cloruro de metiltionimio, también conocido bajo los nombres de azul de metileno o cloruro de 3,7-bis(dimetilamonio)fenotiazin-5-ilio, es un compuesto orgánico que responde a la fórmula siguiente:



15 Este compuesto se utiliza desde hace mucho tiempo como colorante e indicador redox, como revelador óptico en sistemas biofísicos, en materiales nanoporosos como material separador, y en conformación de imágenes fotoelectrocromáticas. Se conoce también por sus aplicaciones como agente antiséptico, antiinfeccioso, como antídoto y como agente de diagnóstico. Encuentra utilizaciones especialmente en ginecología, neonatología, cancerología, oncología, urología, oftalmología y gastroenterología. Nuevas utilizaciones en el campo terapéutico están en vías de desarrollo, tal como la reducción de los contaminantes patogénicos en la sangre (GB2373787), la prevención o la inhibición de una reacción hemodinámica excesiva (WO03/082296).

20 Se han descrito numerosos métodos de síntesis para este compuesto, desde el más antiguo, en 1877 (Patente alemana nº 1886). Todos estos métodos tienen en común la utilización de compuestos metálicos en al menos una etapa de síntesis.

25 La patente DE-1886 describe un procedimiento en el que se realiza un acoplamiento oxidante del N,N-dimetil-1,4-diaminobenceno con H₂S y FeCl₃.

30 Fiez David *et al.*, "Fundamental Processes of Dye Chemistry", 1949, Interscience, 308-314, describen un procedimiento en el que el anillo tiazina se forma mediante tratamiento con dióxido de manganeso o sulfato de cobre. Este procedimiento comprende también un tratamiento con cloruro de zinc y dicromato de sodio y con tiosulfato de aluminio.

35 El documento WO 2005/054217 describe unos derivados del azul de metileno y un procedimiento para su preparación. El método de preparación de estos compuestos utiliza la fenotiazina como producto de partida. Ahora bien, todos los métodos de preparación conocidos de la fenotiazina utilizan unos reactivos metálicos cuyos átomos de metales quelatan la fenotiazina al final de la síntesis. Por lo tanto, los productos obtenidos por este procedimiento están contaminados naturalmente por residuos metálicos, además de los contaminantes orgánicos habituales como el azul B.

40 El documento WO 2006/032879 describe un procedimiento de preparación del azul de metileno que comprende una etapa de reducción con hierro, una etapa de oxidación con dicromato de sodio y una etapa de oxidación con sulfato de cobre.

45 Estos procedimientos requieren efectuar purificaciones tediosas y costosas a fin de reducir las impurezas, especialmente las impurezas metálicas del azul de metileno. A pesar de las etapas de purificaciones posteriores, estos diferentes procedimientos conducen inevitablemente a un azul de metileno que comprende numerosas impurezas metálicas y también unas impurezas orgánicas, especialmente azul B, azul C y azul A.

50 El documento WO 2006/032879 afirma poder alcanzar un porcentaje de impurezas metálicas que representa el 10% del límite máximo fijado por la farmacopea europea, pero según los ejemplos, se constata que este porcentaje no se obtiene simultáneamente para todos los metales y que los resultados de las etapas de purificación no son siempre reproducibles. En este documento se ilustra un análisis detallado de los contenidos en metales de diferentes azules de metileno disponibles comercialmente.

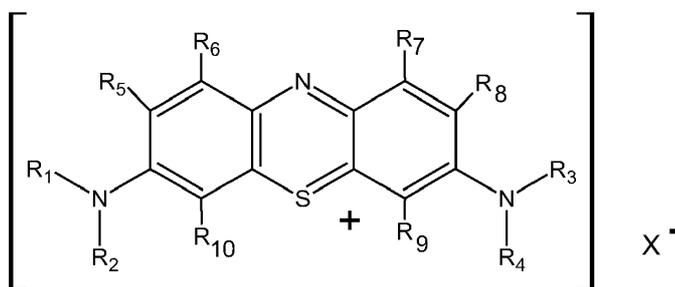
55

Se ha modificado recientemente la farmacopea europea (abril de 2006) en el sentido de un aumento de los límites de tolerancia de las impurezas metálicas, ya que ningún productor de azul de metileno era capaz de producir, y menos aún de producir en cantidad industrial, un azul de metileno de una calidad que respondiera a sus anteriores requerimientos.

5 Un primer objeto de la invención fue, por lo tanto, la elaboración de un procedimiento de preparación del azul de metileno que dé acceso a un azul de metileno de una gran pureza, especialmente que comprenda un porcentaje muy bajo de impurezas metálicas y orgánicas, que sea extrapolable a escala industrial en condiciones económicas satisfactorias, y que no esté sujeto a variaciones de calidad. Según una variante, el procedimiento de la invención es un procedimiento de purificación del azul de metileno.

El procedimiento que se ha elaborado se aplica no solamente al azul de metileno, sino también a otros derivados de tipo diaminofenotiazinio.

15 El procedimiento de la invención es un procedimiento de preparación de compuestos que responden a la fórmula (I) siguiente:



(I)

20 en la que cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ se puede seleccionar, independientemente de los otros, entre el grupo constituido de:

- el átomo de hidrógeno,

25 - los grupos alquilo de C₁-C₆, lineales, ramificados o cíclicos, saturados o insaturados, eventualmente sustituidos con una o varias funciones seleccionadas entre un átomo de halógeno, una función alcoxi de C₁-C₆, alquilocarbonilo de C₁-C₆, -CONH₂,

30 - los grupos arilo eventualmente sustituidos con una o varias funciones seleccionadas entre: un alquilo de C₁-C₄, un átomo de halógeno, una función alcoxi de C₁-C₆, alcoxycarbonilo de C₁-C₆, CONH₂,

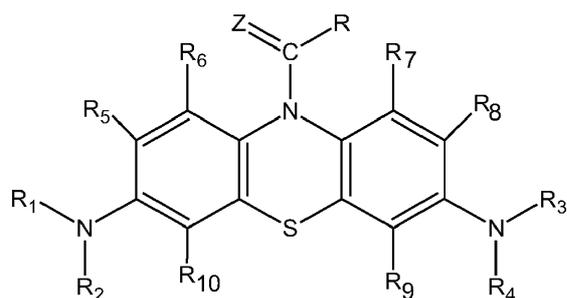
entendiéndose que dos grupos Ri (i=1, 2,...10) colocados sucesivamente en la figura (I) pueden unirse para formar un anillo. Por ejemplo R₁ con R₅, o R₅ con R₆, R₇ con R₈, R₈ con R₃, R₃ con R₄, R₄ con R₉, R₁₀ con R₂ o R₂ con R₁ pueden consistir en una única cadena alquilo eventualmente sustituida para formar un cuarto anillo.

35 además, cada uno de R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ se puede seleccionar, independientemente de los otros, entre los átomos de halógeno: F, Cl, Br, I,

X⁻ representa un anión orgánico o inorgánico.

40 Los aniones utilizables incluyen, por ejemplo, los aniones de los ácidos minerales tales como, por ejemplo, el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido sulfúrico, el ácido fosfórico, el ácido nítrico; los aniones de los ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, el ácido acético, el ácido trifluoroacético, el ácido oxálico, el ácido tártrico, el ácido succínico, el ácido maleico, el ácido fumárico, el ácido glucónico, el ácido cítrico, el ácido málico, el ácido ascórbico, el ácido benzoico, incluyen también OH⁻.

45 Este procedimiento se caracteriza por que comprende preferiblemente al menos una etapa durante la cual un compuesto de fórmula (II):



(II)

se somete a una etapa de purificación en condiciones que permiten separar unos compuestos metálicos de los compuestos de fórmula (II), teniendo los grupos R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ la misma definición que en la fórmula (I) y representando R un grupo seleccionado entre:

- un grupo fenilo o bencilo, eventualmente sustituido con una o varias funciones seleccionadas entre: un alquilo de C₁-C₄, un átomo de halógeno, un halogenoalquilo de C₁-C₄, un grupo nitro,

- un grupo alquilo de C₁-C₈, lineal, ramificado o cíclico,

- un grupo alquilamino de C₁-C₈,

- un grupo alcoxi de C₁-C₈,

- un grupo feniloxi o benciloxi eventualmente sustituido en el núcleo aromático con una o varias funciones seleccionadas entre: un alquilo de C₁-C₄, un átomo de halógeno, un halogenoalquilo de C₁-C₄, un grupo nitro,

Z representa un átomo seleccionado entre O y S.

La purificación de los compuestos de fórmula (II) se lleva a cabo en condiciones que permiten separar los compuestos metálicos de los compuestos de fórmula (II): filtración sobre un soporte susceptible de retener los compuestos metálicos, cristalización en un disolvente apropiado o cualquier otro método conocido por el experto en la materia.

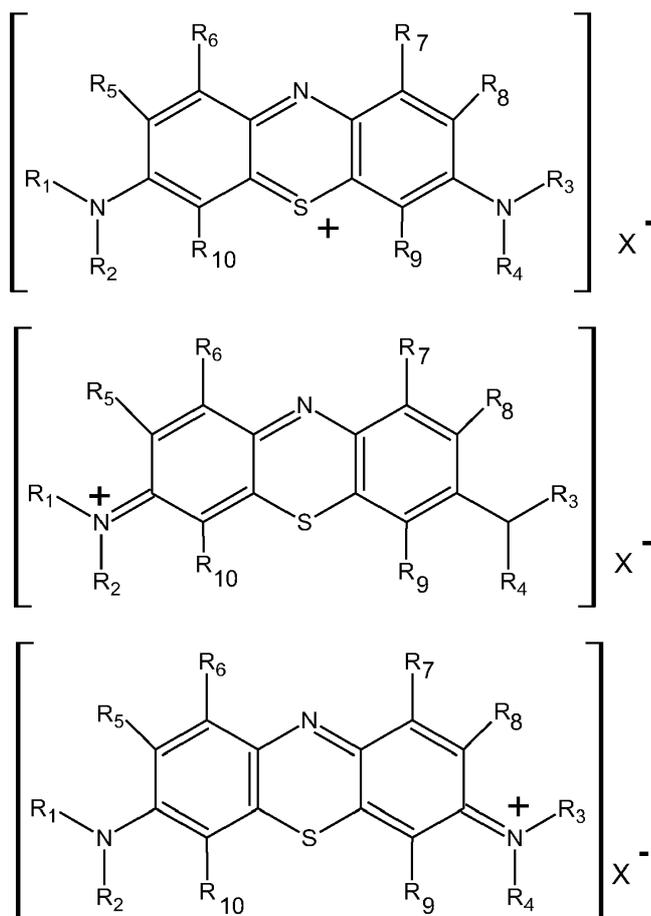
Cuando la purificación se lleva a cabo por filtración sobre un soporte susceptible de retener los compuestos metálicos, tal soporte se puede seleccionar entre: un gel de sílice, un gel de alúmina (neutra, básica o ácida), una diatomita eventualmente modificada, celita, una membrana microporosa, resinas injertadas por unos grupos captadores de metales y las fibras injertadas por unos grupos captadores de metales, tales como unas funciones tiol, ácido carboxílico, amina terciaria, o cualquier otro soporte que tenga la propiedad de retener los metales. Entre las fibras injertadas, se pueden citar especialmente los productos comercializados por la compañía Johnson Matthey bajo la marca Smopex®. Entre las diatomitas, se pueden citar los productos comercializados por la compañía CECA bajo la marca Clarcel®.

El compuesto de fórmula (II) se puede obtener a partir del compuesto de fórmula (I), por reducción del compuesto de fórmula (I) y después por reacción de la función amina del anillo fenotiazinico con un grupo protector apropiado R-CZ-Y en el que R y Z tienen la misma definición que anteriormente, e Y representa un grupo saliente seleccionado entre: un átomo de halógeno tal como F, Cl, I, Br, un grupo alcoxi de C₁-C₆, un grupo -OCOR (anhídrido), un grupo hidroxilo, eventualmente en presencia de un activador del tipo dicitlohexilcarbodiimida (DCC). Ventajosamente R se selecciona entre un grupo fenilo, un grupo toluilo.

Cuando el compuesto de fórmula (II) se obtiene a partir del compuesto de fórmula (I), el procedimiento global es una purificación del compuesto de fórmula (I). Sin embargo, el compuesto de fórmula (II) se puede obtener mediante otros procedimientos que no utilizan el producto (I) como producto de partida.

Algunos compuestos de fórmula (II) tales como el azul de metileno leuco benzoilo están disponibles comercialmente.

El compuesto representado por la fórmula (I), puede representarse mediante varias estructuras resonantes equivalentes. A título de ilustración y de manera no limitativa, se muestran a continuación otras estructuras que son equivalentes a la de la fórmula (I):



5

En la fórmula (I) y en la fórmula (II), preferentemente R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 y $R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$, idénticos o diferentes, se seleccionan entre el átomo de hidrógeno y un alquilo de C_1-C_4 . Ventajosamente, R_5, R_8, R_9 y R_{10} representan H.

10 Más ventajosamente, se verifican una o varias de las condiciones siguientes:

- X representa Cl o OH,

15

- R_1, R_2, R_3, R_4 , idénticos o diferentes se seleccionan entre un átomo de hidrógeno y el metilo,

- R_6 representa un átomo de hidrógeno,

- R_7 representa un átomo de hidrógeno,

20

- Z representa O.

De manera ventajosa, el compuesto de fórmula (I) es el cloruro de tetrametilitionina o azul de metileno.

25

Según otra variante, el compuesto de fórmula (I) es el cloruro de dimetilitionina o Azur A, o el cloruro de trimetilitionina o Azur B, o el cloruro de monometilitionina o Azur C.

30

Según la invención, ventajosamente, el procedimiento de preparación del compuesto de fórmula (I) comprende al menos una etapa de purificación de un compuesto de fórmula (II), en particular esta purificación comprende al menos una etapa de filtración de un compuesto de fórmula (II) sobre un soporte susceptible de retener los compuestos metálicos, tal como un gel de sílice, de alúmina (neutra, básica o ácida), una diatomita eventualmente modificada, una resina funcionalizada por unos captadores de metales, unas fibras funcionalizadas por unos captadores de metales, celita, un membrana microporosa o cualquier otro soporte capaz de retener los compuestos metálicos.

35

De manera más detallada, según esta variante, el compuesto de fórmula (II) se pone en disolución en un disolvente apropiado, se prepara un filtro con el soporte de filtración que se introduce en un recipiente apropiado, tal como una columna de vidrio, un filtro de vidrio sinterizado o una escurridora industrial. El recipiente lleno con el soporte de

filtración seleccionado se humidifica, preferiblemente por el mismo disolvente que aquel en el que se disuelve el compuesto de fórmula (II).

5 La solución que contiene el compuesto de fórmula (II) se deposita sobre el filtro, se recupera la solución que atraviesa el filtro, se aclara el filtro varias veces mediante un disolvente idéntico o diferente del que ha servido para solubilizar el compuesto de fórmula (II). Las fracciones eluidas se recuperan y eventualmente concentradas.

10 Entre los disolventes utilizables para solubilizar los compuestos de fórmula (II), se pueden citar preferiblemente: los disolventes clorados, como por ejemplo el diclorometano o el cloroformo, los alcoholes tales como isopropanol, etanol metanol o acetonitrilo, acetato de etilo, tetrahidrofurano, o una mezcla de estos disolventes.

15 La solución del compuesto de fórmula (II) es ventajosamente una concentración que va de 1 g/l a 10³ g/l. Unas concentraciones más bajas conducen a utilizar volúmenes de disolventes demasiado elevados, con consecuencias sobre la seguridad y el tamaño del material. Debido a la solubilidad de los productos difícilmente se pueden considerar concentraciones más altas.

20 Se prevé utilizar aproximadamente 0,1 a 10 kg de soporte de filtración por kg de producto a filtrar. Se prevé ventajosamente aclarar el filtro con 0,1 a 50 l de disolvente por kg de producto de fórmula (II) hasta la elución total del producto de fórmula (II). El procedimiento de la invención presenta la ventaja de liberar el producto de fórmula (II) de sus impurezas metálicas.

Cuando se elige purificar el compuesto de fórmula (II) por cristalización, se elige ventajosamente un disolvente entre: un alcohol como el etanol, un disolvente clorado como el cloruro de metileno.

25 Ventajosamente, la fabricación del compuesto de fórmula (II) se lleva a cabo a partir del compuesto de fórmula (I) que se hace reaccionar con un grupo de protección R-CZ-Y en el que Y se selecciona ventajosamente de entre: F, Cl, Br, I, un grupo alcoxi de C₁-C₆, un grupo -OCOR (anhídrido), un grupo hidroxilo, eventualmente en presencia de un activador de tipo dicitohexilcarbodiimida (DCC).

30 La reacción se lleva a cabo de manera clásica en medio básico o neutro en agua o en una mezcla de agua y de otro disolvente tal como, por ejemplo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, diclorometano o cualquier otro disolvente orgánico apropiado.

35 La reacción es exotérmica, y se utilizan preferentemente unos medios de enfriamiento que permitan mantener la temperatura de la mezcla en las inmediaciones de la temperatura ambiente.

El producto de partida (I) es o comercial o bien preparado por métodos conocidos, tales como los descritos en el documento WO 2006/032879.

40 De manera general, los productos de fórmula (I) se preparan mediante unos procedimientos de síntesis que necesitan la utilización de derivados metálicos que se encuentran como impurezas en los productos (I). Es el caso del azul de metileno, pero también azur A, azur B y azur C.

45 Los compuestos de fórmula (I) no pueden liberarse de sus impurezas metálicas y orgánicas de manera directa, simple y eficaz. Los métodos de la técnica anterior utilizan recristalizaciones sucesivas que no tienen rendimientos satisfactorios y que conducen a productos cuyo porcentaje de impurezas residuales es difícil de controlar.

50 Además, los productos de fórmula (I) tienen la propiedad de quelatar los metales mientras que los productos (II) no se quelantan. Su purificación es, por lo tanto, mucho más eficaz que la purificación directa de los compuestos de fórmula (I).

En las diferentes etapas del procedimiento de la invención, se procura emplear materiales no metálicos, reactivos y disolventes desprovistos de residuos metálicos a fin de no introducir contaminación externa.

55 Después de que se haya purificado el producto de fórmula (II), en particular sometido a una filtración, según el procedimiento de la invención, se procede a una etapa de desprotección de la amina del anillo fenotiazina del compuesto de fórmula (II). Esta desprotección se lleva a cabo mediante cualquier medio conocido por el experto en la materia, evitando la introducción de contaminantes metálicos y en condiciones que evitan la degradación del compuesto de fórmula (I). La solicitud describe unos medios utilizables para la desprotección del grupo R-CZ-: las quinonas, como por ejemplo la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), HNO₃, HClO₄, I₂, HCl, H₂SO₄, H₂O₂, un tratamiento por radiaciones ultravioletas. Según la invención, se utiliza una quinona para esta etapa, y de manera muy preferida la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona. De manera ventajosa, esta reacción de desprotección se lleva a cabo en un disolvente seleccionado entre: el acetato de etilo, el acetonitrilo, el tetrahidrofurano, la acetona. El disolvente preferido para esta etapa es el acetonitrilo.

65

Las condiciones de desprotección ventajosas prevén el uso de 0,80 a 1,1 equivalentes molares de DDQ con respecto al compuesto (II), aún más ventajosamente de 0,85 a 1,05 equivalentes molares de DDQ con respecto al compuesto (II), ventajosamente de 0,90 a 1 equivalente molar. Preferiblemente, esta desprotección se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre -40°C y -5°C. Aunque no se excluye totalmente, una temperatura más baja tendría el inconveniente de prolongar las duraciones de reacción, una temperatura más elevada podría conducir a la formación de productos secundarios.

En función del medio de desprotección empleado, se puede llegar a tener que hacer un intercambio de iones para obtener el compuesto de fórmula (I) que comprende el anión X⁻ deseado. Preferentemente, este intercambio de ión se realiza mediante tratamiento con HCl, ventajosamente en acetato de etilo. Se podrían utilizar otros disolventes, pero algunos son susceptibles de conducir a la formación de productos secundarios.

Las condiciones de desprotección de los compuestos de fórmula (II) expuestas anteriormente son particularmente ventajosas por que permiten obtener un compuesto de fórmula (I) sin introducir durante esta etapa impurezas metálicas o formar impurezas orgánicas. Según una variante de la invención, se puede prever purificar el compuesto de fórmula (II) mediante otros medios que la filtración sobre un soporte susceptible de retener los metales, como por ejemplo por cristalización en un disolvente apropiado. Según esta variante, se desprotege después el compuesto de fórmula (II) con la ayuda de cualquier medio de desprotección que no implique la utilización de compuestos metálicos, en particular con la ayuda de una quinona, en particular la DDQ, preferentemente en las condiciones expuestas anteriormente.

Un objeto de la invención es, por lo tanto, un procedimiento de preparación de compuestos que responden a la fórmula (I) descrita anteriormente, caracterizado por que comprende al menos una etapa de desprotección del grupo R-CZ- de la amina del anillo fenotiazina del compuesto de fórmula (II) con la ayuda de medios de desprotección que no implican la utilización de compuestos metálicos.

Por "medios de desprotección que no implican la utilización de compuestos metálicos", se entiende el empleo de reactivos no metálicos, de disolventes que no comprenden residuos metálicos (preferentemente < 0,01 ppm), en reactores que no comprenden partes metálicas, como por ejemplo reactores esmaltados.

Entre los medios utilizables para la desprotección del grupo R-CZ- la solicitud describe: las quinonas, como por ejemplo la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), HNO₃, HClO₄, I₂, HCl, H₂SO₄, H₂O₂, un tratamiento por unas radiaciones ultravioletas. Según la invención, se utiliza una quinona para esta etapa, y de manera muy preferida, la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona. Ventajosamente, se emplean las condiciones de realización de la DDQ que se han descrito anteriormente.

El método de desprotección del compuesto (II) en compuesto (I) permite conducir a un compuesto (I) que no comprende impurezas metálicas adicionales con respecto al producto (II). Además, estas condiciones de desprotección evitan la formación de productos de degradación orgánica. En efecto, los compuestos de fórmula (I) tienen una estabilidad limitada y la utilización de algunas condiciones de tratamiento conduce a degradaciones, por ejemplo del azul de metileno en Azur A, B y C, que después son difícil de separar.

El procedimiento de la invención permite obtener acceso a un compuesto de fórmula (I) desprovisto de contaminantes metálicos y de una alta pureza química, de manera fiable, reproducible y aplicable a escala industrial. Estas cualidades son esenciales para poder proporcionar un producto de fórmula (I) de calidad farmacéutica.

Especialmente, el procedimiento de preparación o de purificación de la invención permite obtener en cantidades industriales y de manera reproducible un azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina que comprende 0,02 µg/g o menos de cadmio por g de azul de metileno.

El procedimiento de la invención da acceso a un azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina que tiene un porcentaje de pureza superior al 97%, preferiblemente superior al 98%, aún mejor superior al 99%, medido por CLHP (Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento) en las condiciones de la farmacopea europea 5.4 (edición de abril de 2006) y que comprende menos de 4,5 µg/g de aluminio, ventajosamente menos de 3 µg/g de aluminio, aún más ventajosamente, menos de 2,5 µg/g de aluminio por g de azul de metileno.

El procedimiento de la invención da acceso a un azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina que tiene un porcentaje de pureza superior al 97%, preferiblemente superior al 98%, aún mejor superior al 99%, medido por CLHP en las condiciones de la farmacopea europea 5.4 (edición de abril de 2006) y que comprende menos de 0,5 µg/g de estaño por g de azul de metileno.

El procedimiento de la invención da acceso a un azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina que tiene un porcentaje de pureza superior al 97%, preferiblemente superior al 98%, aún mejor superior a 99%, medida por CLHP en las condiciones de la farmacopea europea 5.4 (edición de abril de 2006) y que comprende menos de 0,95 µg/g de cromo, ventajosamente menos de 0,90 µg/g, aún mejor menos de 0,80 µg/g por g de azul de metileno.

El procedimiento de la invención es el único que da acceso, en cantidad industrial, a un azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina que comprende menos del 3% de impurezas, preferiblemente menos del 2%, aún mejor del 1%, medido por CLHP en las condiciones de la farmacopea europea 5.4 (edición de abril de 2006) y una tasa de impurezas metálicas inferior a 20 µg/g, ventajosamente inferior a 15 µg/g, aún más ventajosamente inferior a 10 µg/g.

La solicitud describe un compuesto de fórmula (I), con la exclusión del azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina y que comprende una tasa de impurezas metálicas global inferior a 100 µg/g, ventajosamente inferior a 50 µg/g, en particular inferior a 30 µg/g. La solicitud describe que este compuesto puede satisfacer una o varias de las condiciones siguientes:

- pureza superior al 97%, preferiblemente superior al 98%, mejor aún superior al 99%, medido por CLHP en las condiciones de la farmacopea europea 5.4 (edición de abril de 2006)

- tasa de aluminio inferior a 5 µg/g, ventajosamente inferior a 4 µg/g, aún más ventajosamente inferior a 3 µg/g,

- tasa de cadmio inferior a 0,1 µg/g, ventajosamente inferior a 0,05 µg/g, aún mejor inferior a 0,02 µg/g,

- tasa de estaño inferior a 0,5 µg/g, ventajosamente inferior a 0,4 µg/g y aún más ventajosamente inferior a 0,3 µg/g.

El azul de metileno se utiliza desde hace décadas en el tratamiento de diversas infecciones. Se utiliza como agente antiséptico, antiinfeccioso, como antídoto y como agente de diagnóstico. Recientemente, se ha puesto en evidencia su actividad antiviral, y podría utilizarse en la preparación de un medicamento destinado a luchar contra una patología tal como una infección, especialmente un choque séptico, la presencia de contaminantes patogénicos en la sangre o el plasma, una reacción hemodinámica excesiva, una infección por VIH, el virus West Nile, el virus de la hepatitis C, la enfermedad de Alzheimer, la malaria, el cáncer de mama, los trastornos maniaco-depresivos.

Finalmente, se podría utilizar también en cosmética o para unos productos destinados a una aplicación oftálmica.

Para todas estas aplicaciones terapéuticas, y en particular en el contexto de la prevención y del tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, es necesario disponer de un azul de metileno que tenga un grado de pureza elevado, y en particular que comprenda muy pocas impurezas metálicas.

La invención da acceso a un medicamento que comprende un azul de metileno tal como se ha descrito anteriormente, en un soporte farmacéuticamente aceptable.

El soporte y las cantidades de azul de metileno a administrar son bien conocidos por el experto en la materia.

La invención tiene además por objeto un procedimiento de preparación de un medicamento que comprende azul de metileno, caracterizado por que este procedimiento comprende al menos una etapa del procedimiento tal como se ha descrito anteriormente, en particular una etapa de purificación del compuesto de fórmula (I) y/o una etapa de desprotección del compuesto (II) en (I).

Parte experimental

1- Síntesis de azul de metileno leuco benzoilo (Etapa A)

En un reactor de doble capa de 120 l provisto de una agitación y bajo nitrógeno, se introducen:

- 80 l de agua destilada,

- 4,2 kg (10,7 moles) de azul de metileno comercializado por la compañía LEANCARE LTD bajo la referencia CI 52015, que comprende importantes cantidades de impurezas metálicas (Al, Fe, Cu, Cr).

Se deja 15 minutos bajo agitación y después se añaden 6,9 kg de hidrosulfito de sodio Na₂S₂O₄ en solución acuosa al 85%. La coloración cambia del azul hacia el beige. Se deja 45 minutos suplementarios bajo agitación, después se añaden 2,69 kg de sosa en forma de pastillas. La temperatura de la reacción se mantiene entre 18 y 20°C. La duración de la adición es de 30 minutos y se deja bajo agitación 30 minutos suplementarios. Después, se añaden gota a gota 7,90 l de cloruro de benzoilo. La mezcla de reacción cambia hacia una coloración verde-beige. La duración de la adición es de 2h y después se deja bajo agitación durante 20h.

Tratamiento:

Después de detener la agitación, se deja decantar 15 minutos y se aspira el sobrenadante. Se añaden 80 l de agua (25 volúmenes) y después de la agitación y de la decantación se aspira de nuevo el sobrenadante. Se añaden 24 l de EtOH y después de una agitación de aproximadamente 5 minutos, se añaden 16 l de agua. Después de agitar durante

ES 2 804 050 T3

15 minutos, la mezcla se filtra en un receptor. Esta operación se repite 3 veces. Después del secado, se obtienen 2,9 kg (Rendimiento: 66%) de azul de metileno leuco benzoilo.

2- Purificación

Se utilizan 4,25 kg de azul de metileno leuco benzoilo procedente de la primera etapa, solubilizados en 30 l de CH₂Cl₂. Se filtra sobre 3 partes de sílice (Merck Gerudan Si60) (11,5 kg) y 0,5 kg de arena de Fontainebleau, se aclara con 30 litros de CH₂Cl₂. Se elimina el CH₂Cl₂ por evaporación al vacío. Se añaden 6 l de etanol. Se deja bajo agitación en frío y después se filtra en un receptor. Se seca al vacío. Se obtienen 3,4 kg de azul de metileno leuco benzoilo purificado (Rendimiento: 80%).

Pureza: +99% CLHP

Metales: el contenido en metales (en µg/g) se da para 3 ensayos en la tabla 1.

Tabla 1

Ensayo	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Al	0,5	0,5	0,1
Cu	0	0	0,4
Fe	0	0	0,1
Zn	0,9	0,7	0,5
Ni	0,1	0,1	0,1
Cr	0,3	0,3	0,03
Mo	0,1	0,1	0,1
Mn	0,02	0	0
Sn	0,5	0,4	0,5
Pb	5	3,2	2,4
Cd	0,2	0,2	0,07

3- Desbenzoilación

En un reactor de doble capa esmaltado de 100 l a temperatura ambiente, se introducen:

- 45 l de acetonitrilo (ACN)

- 1,6 kg de azul de metileno leuco benzoilo procedente de la segunda etapa y se coloca bajo agitación. Se deja actuar durante 30 minutos a temperatura ambiente y después se disminuye la temperatura a -18°C. Se añade en una porción 950 g de DDQ solubilizados en 4 l de ACN. Se deja agitar durante 2h a -18°C. Se filtra. Se obtiene un complejo de la 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazina con la DDQ que se utiliza directamente en la etapa siguiente.

4- Salificación

En el reactor de doble capa esmaltado, se reintroduce la torta procedente de la tercera etapa en varias porciones. Se añaden 4 l de AcOEt. Se deja girar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se disminuye la temperatura a -18°C. Se añaden 2,5 kg de HCl en 16 l de AcOEt (solución 4N). Se agita durante 2h a -18°C. Se filtra y después se reintroduce la torta en el reactor. Se añaden 30 l de AcOEt a -18°C y se filtra de nuevo.

5- Neutralización

Se añaden 30 l de acetona y después una solución de 200 g de NaOH solubilizados en 500 ml de agua. Se filtra. Se introduce el producto procedente de la cuarta etapa en el reactor con 30 l de acetona. Se agita el medio durante 1h a temperatura ambiente. El pH es de 4,0. Se filtra. Se deja al vacío sobre el receptor.

6- Purificación e hidratación

En un reactor esmaltado de 40 l bajo N₂, a temperatura ambiente, se introduce 1,9 kg del producto de la quinta etapa y 30 l de la mezcla 50/50 CH₂Cl₂/EtOH. Se calienta a reflujo (43°C). Se filtra en caliente con un filtro de microfibras (Whatman GF/D). Esta operación se efectúa 2 veces. Se limpia el reactor con agua desmineralizada. Se reintroduce el filtrado en el reactor. Se destilan al vacío a 28°C 24 litros de disolvente (3h). El medio se recoloca en el reactor. Se añade 1 l de agua microfiltrada. Se enfría a -18°C. Se añaden 40 l de AcOEt y se deja durante la noche bajo agitación en frío. Se filtra. Se asienta con 10 l de AcOEt. Se obtiene 1,4 kg de azul de metileno purificado en forma trihidratada.

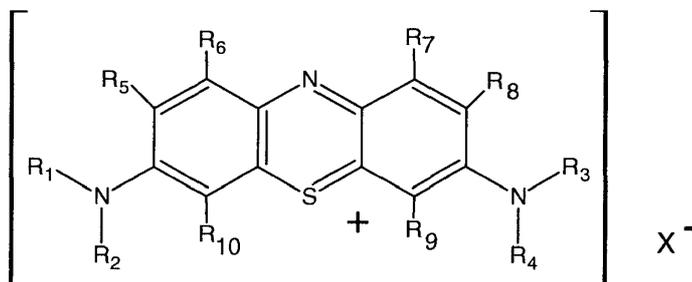
Las impurezas metálicas se analizan y se detallan en la tabla 2.

Tabla 2

elemento	cantidad (µg/g)
Al	1,3
Cu	0,5
Fe	1,9
Zn	1,7
Ni	0,5
Cr	0,8
Mo	0,2
Mn	0,08
Sn	0,4
Pb	0,1
Cd	0,04

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de un compuesto que responde a la fórmula (I) siguiente:



(I)

en la que cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ se puede seleccionar, independientemente de los otros, entre el grupo constituido de:

- el átomo de hidrógeno,

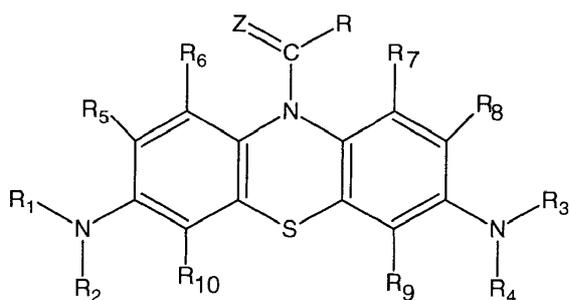
- los grupos alquilo de C₁-C₆, lineales, ramificados o cíclicos, saturados o insaturados, eventualmente sustituidos con una o varias funciones seleccionadas entre un átomo de halógeno, una función alcoxi de C₁-C₆, alquiloxicarbonilo de C₁-C₆, -CONH₂,

- los grupos arilo eventualmente sustituidos con una o varias funciones seleccionadas entre: un alquilo de C₁-C₄, un átomo de halógeno, una función alcoxi de C₁-C₆, alquiloxicarbonilo de C₁-C₆, CONH₂,

además, cada uno de R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ se puede seleccionar, independientemente de los otros, entre los átomos de halógeno: F, Cl, Br, I,

X representa un anión orgánico o inorgánico,

caracterizado por que comprende al menos una etapa durante la cual un compuesto de fórmula (II):



(II)

en la que R representa un grupo seleccionado entre:

- un grupo fenilo o bencilo, eventualmente sustituido con una o varias funciones seleccionadas entre: un alquilo de C₁-C₄, un átomo de halógeno, un halogenoalquilo de C₁-C₄, un grupo nitro,

- un grupo alquilo de C₁-C₈, lineal, ramificado o cíclico,

- un grupo alquilamino de C₁-C₈,

- un grupo alcoxi de C₁-C₈,

- un grupo fenilo o bencilo eventualmente sustituido en el núcleo aromático con una o varias funciones seleccionadas entre: un alquilo de C₁-C₄, un átomo de halógeno, un halogenoalquilo de C₁-C₄, un grupo nitro,

Z representa un átomo seleccionado entre O y S,

se somete a una etapa de desprotección de la amina del anillo fenotiazina con la ayuda de medios de desprotección que no implican la utilización de compuestos metálicos, seleccionándose el reactivo de desprotección entre: las quinonas.

5 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el reactivo de desprotección es la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ).

10 3. Procedimiento según la reivindicación 2, en el que se emplea de 0,80 a 1,1 equivalentes molares de DDQ con respecto al compuesto (II).

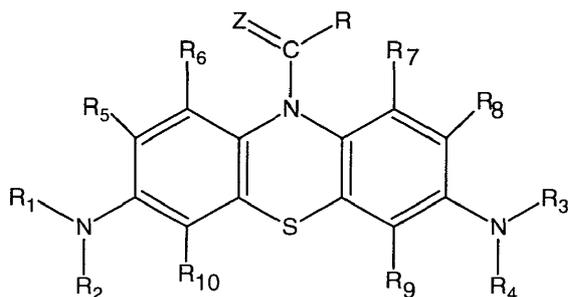
15 4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, realizado en un disolvente o una mezcla de disolventes que comprende menos de 0,01 ppm de residuos metálicos, y en unos reactores que no comprenden partes metálicas, como unos reactores esmaltados.

5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la reacción de desprotección se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre -40°C y 5°C.

20 6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la reacción de desprotección se lleva a cabo en un disolvente seleccionado entre: el acetato de etilo, el acetonitrilo, el tetrahidrofurano, la acetona.

7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto de fórmula (I) es el cloruro de tetrametilitionina o azul de metileno.

25 8. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende al menos una etapa durante la cual el compuesto de fórmula (II):



(II)

30 se somete a una etapa de purificación en condiciones que permiten separar los compuestos metálicos de los compuestos de fórmula (II).

35 9. Procedimiento según la reivindicación 8, en el que la etapa de purificación comprende al menos una filtración sobre un soporte susceptible de retener los compuestos metálicos.

10. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que el soporte de filtración se selecciona entre: un gel de sílice, un gel de alúmina neutra, básica o ácida, una membrana microporosa, una resina injertada por unos grupos captadores de metales, unas fibras injertadas por unos grupos captadores de metales.

40 11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en el que la etapa de purificación comprende al menos una cristalización.

45 12. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una etapa de intercambio de ión, por tratamiento con HCl.

13. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12, en el que se obtiene un azul de metileno (cloruro de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazin-5-io) que comprende menos del 3% de impurezas y una tasa de metales inferior a 20 µg/g, ventajosamente inferior a 15 µg/g, aún más ventajosamente inferior a 10 µg/g.

50 14. Procedimiento de preparación de un medicamento que comprende azul de metileno, comprendiendo este procedimiento la preparación del azul de metileno mediante un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.