



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 358 207**

51 Int. Cl.:
C07D 493/10 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
G01B 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03782510 .6**
96 Fecha de presentación : **28.10.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1556386**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.07.2005**

54 Título: **Ftaleínas de pureza elevada y su procedimiento de preparación.**

30 Prioridad: **29.10.2002 FR 02 13528**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
06.05.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
06.05.2011

73 Titular/es: **PATENT PHARMA**
2 Bis, rue Dupont de l'Eure
75020 Paris, FR

72 Inventor/es: **Tran-Guyon, Joanne y**
Scherninski, François

74 Agente: **Curell Aguilá, Marcelino**

ES 2 358 207 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

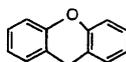
La presente invención se refiere a unas ftaleínas de pureza elevada y a su procedimiento de preparación. Se refiere más particularmente a la fluoresceína de pureza elevada.

5

En la presente descripción, mediante la expresión “ftaleína de pureza elevada” se entiende una ftaleína que contiene como máximo 1% en peso, preferentemente como máximo 0,5% en peso de impurezas.

10

Las ftaleínas son unas moléculas que presentan el motivo xanteno siguiente:



15

Estos productos son útiles como colorantes en diversas industrias, en particular la industria textil, la industria papelera, la imprenta, la reprografía, la industria alimentaria, la industria cosmética y la industria farmacéutica. Las ftaleínas son, actualmente, objeto de una importante recuperación de interés en el campo de la salud, para su utilización diagnóstica, en particular en el marco de la formación de imágenes médicas y en el campo de las biotecnologías para el marcado de las moléculas biológicas (ácidos nucleicos, proteínas, lipoproteínas, lípidos membranaarios) y el seguimiento de la actividad bioquímica intracelular o extracelular de las moléculas biológicas.

20

25

Por ejemplo, la fluoresceína es una ftaleína utilizada habitualmente en oftalmología para la realización de angiografías en fluorescencia de la retina. El interés diagnóstico de la angiografía fluoresceínica ha aumentado actualmente por la aparición de nuevos medicamentos que permiten el tratamiento de las patologías vasculares de la retina y de la corioide, y la disponibilidad de una nueva generación de retinógrafos que permiten la formación de una imagen digitalizada en fluorescencia con más prestaciones y resolutive que los antiguos sistemas de adquisición sobre emulsiones fotográficas.

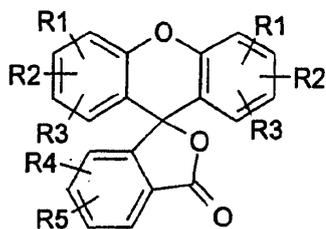
30

35

Paralelamente, las exigencias de calidad y de seguridad de las nuevas normas farmacéuticas internacionales (ICH: International Commission of Harmonisation, ICH Q Topic Q3A 1999) han aumentado considerablemente. Ocurre lo mismo en lo que se refiere a las aplicaciones de las ftaleínas en el campo de las biotecnologías que necesitan unos agentes reactivos de calidad cada vez más elevada. Para responder a las exigencias actuales, el nivel de pureza de las ftaleínas utilizadas en el campo farmacéutico o en el de las biotecnologías debe ser necesariamente muy elevado. A título de ejemplo, en la publicación «Effective differences in the formulation of intravenous fluorescein and related side effects», Am. J. Ophthalmol. 78,2: 217-221, 1974, L. Yannuzzi ha mostrado que existe una correlación entre la pureza de las ftaleínas, en particular la de la fluoresceína, y la tolerancia de estas sustancias cuando se administran por vía inyectable en el ser humano.

40

Unas ftaleínas presentan la fórmula general (I):



(I)

5 en la que R1, R2, R3, R4, R5 que son idénticos o diferentes entre sí, se seleccionan de entre el grupo constituido por los radicales o los grupos siguientes: hidrógeno, hidroxilo, halógeno, acetilo, amino, fosfato, nitro, sulfonato, carboxi, alquil-
 10 carboxi de 2 a 30 átomos de carbono, alquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, alquiloxi que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, halogenoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, hidroxialquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, alquiléster que tiene de 2 a 40 átomos de carbono,
 15 nitroalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, carboxialquilo que tiene de 2 a 30 átomos de carbono, aminoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, sulfoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, arilo, ariloxi, aril-alquilo, halogenoarilo, ariléster, succinimidiléster, isotiocianato, maleimida, yodoacetamida, halogenoacetamida, clorosulfónico, las bases púricas o pirimídicas, las osas, preferentemente las hexosas o las pentosas, los oligósidos y los poliósidos, los polipéptidos, las proteínas y los fosfolípidos,

20 R3 y R5 no representan cada uno el hidrógeno cuando R1 representa un grupo $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$, R2 representa un grupo hidroxilo y R4 representa un grupo $-\text{COOH}$,

25 no conteniendo estas ftaleínas más de 1% en peso, preferentemente no más de 0,5% en peso y más preferentemente todavía no más de 0,2% en peso de impurezas residuales.

30 Una ftaleína particularmente interesante, en particular para unas aplicaciones oftálmicas es la fluoresceína que presenta una pureza de este tipo.

35 Es conocido preparar las ftaleínas de fórmula (I) mediante la condensación de un derivado del anhídrido ftálico y de un derivado fenólico que tiene una posición libre en orto de un grupo hidroxilo (véase en particular el documento US-A-5.637.733, y Shawn C. Burdette *et al.*, J. Am. Chem. Soc., vol. 123, 2001, páginas 7831-41).

Esta condensación se realiza mediante calentamiento a la temperatura de fusión de una mezcla del anhídrido ftálico y del derivado fenólico, en las proporciones deseadas.

40 Esta condensación se puede realizar eventualmente en un disolvente de dilución. Puede ser conducida asimismo en presencia de un catalizador.

En ausencia de disolvente, durante el calentamiento, el medio de reacción se espesa rápidamente y tiene tendencia a fraguar en masa. En el seno del medio de reacción, se forman entonces unas zonas en las que la temperatura es demasiado elevada y unas zonas en las que la temperatura no es lo suficientemente elevada.

5 En las zonas en las que la temperatura es demasiado elevada, los agentes reactivos y/o el producto de reacción se degradan y en las zonas en las que la temperatura no es lo suficientemente elevada, la reacción no es completa. El producto obtenido es de calidad mediocre puesto que comprende unos sub-productos muy difíciles de eliminar.

Con el fin de mejorar este procedimiento conocido, se ha propuesto la adición de un disolvente inerte o la utilización de un catalizador.

10 Asimismo, la patente US nº 1.931.049 describe la adición al medio de reacción de un disolvente inerte constituido por un hidrocarburo bencénico o alifático, más particularmente el ortodichlorobenceno. Sin embargo, la reacción de condensación es entonces incompleta, y se forman unos productos intermedios difíciles de eliminar después. Se desprende de lo anterior que el procedimiento descrito en la patente
15 US nº 1.931.049 no permite la obtención de una ftaleína de pureza elevada según la definición de la presente solicitud. Por otro lado, los hidrocarburos alifáticos superiores no son miscibles con el medio de reacción; por consiguiente, no aportan ninguna mejora en el plano de la transferencia térmica y obstaculizan la eliminación del agua formada, lo cual ralentiza la reacción, que tiene lugar exclusivamente en medio hidrófobo.

20 Haciendo referencia a los catalizadores propuestos para mejorar el rendimiento de la reacción, se trata del ácido sulfúrico concentrado, del cloruro de zinc anhidro y del cloruro de estaño.

25 En la patente alemana DE 360691, se ha propuesto utilizar como catalizador un ácido sulfónico aromático, tal como el ácido benceno-sulfónico, solo o asociado a uno de los tres catalizadores citados anteriormente.

30 Sin embargo, se observa que la adición de estos catalizadores provoca un fraguado en masa rápido del producto de la reacción con un aprisionamiento de las impurezas que ya no pueden ser eliminadas del producto buscado.

35 Con el fin de eliminar los sub-productos formados y las impurezas, se han puesto a punto unos procedimientos de aislamiento y de purificación pero no han permitido mejorar sustancialmente la calidad de las ftaleínas.

40 Un procedimiento utilizado habitualmente consiste en alcalinizar la ftaleína en medio acuoso para disolverla y después acidificarla para permitir su precipitación. Estas dos etapas se renuevan sucesivamente para intentar eliminar las impurezas. Sin embargo, este método no permite una mejora notable de la pureza del producto puesto que si las impurezas se disuelven con la ftaleína durante la etapa de alcalinización, éstas se precipitan de nuevo al mismo tiempo que la ftaleína durante la etapa de acidificación. Además, este método de purificación adolece del inconveniente de producir una cantidad importante de sales que son difíciles y costosas de eliminar después. Dicho procedimiento
45 de purificación se describe en particular en el documento DD136498.

50 La patente US nº 1.965.842 describe la purificación de las ftaleínas, derivadas del hidroxibenceno, mediante una extracción directa de los sub-productos con la ayuda de diclorobenceno utilizado solo o en mezcla con otros disolventes. Esta extracción directa del producto bruto con el disolvente en cuestión no permite sin embargo una eliminación

avanzada de las impurezas que quedan en parte capturadas en los cristales de ftaleína.

Ninguno de los procedimientos de purificación descritos en la técnica anterior permite alcanzar un nivel de pureza suficiente para permitir una utilización farmacéutica de las ftaleínas.

Debido al interés de estas moléculas para el diagnóstico médico, la fabricación de ftaleínas de pureza elevada corresponde a una necesidad médica real y respondería a una fuerte demanda, en particular para unas aplicaciones farmacéuticas en oftalmología, para el diagnóstico en particular en formación de imágenes médicas o en el campo de las aplicaciones en biotécnica (por ejemplo para el marcado de moléculas).

Los inventores, al final de investigaciones profundizadas, han tenido el mérito de descubrir que era posible obtener unos productos de pureza elevada mediante la condensación de un anhídrido ftálico con un derivado fenólico o naftólico en un disolvente particular que está constituido por un éster de ácido orgánico.

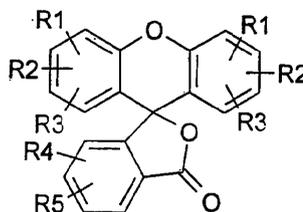
Han descubierto asimismo que la utilización de los ésteres de ácido orgánico como disolventes permitía realizar esta condensación con un excelente rendimiento superior a 75%.

En efecto, estos disolventes tienen la particularidad

- por un lado, de conducir a una cristalización específica de la ftaleína procedente de la condensación y de excluir, de los cristales formados, cualquier impureza que quede disuelta en el medio de reacción, y
- por otro lado, de permitir que la reacción de condensación sea total y predomine en detrimento de las reacciones secundarias indeseables, lo cual conduce al consumo total de los agentes reactivos y minimiza la formación de los sub-productos.

El procedimiento de acuerdo con la invención permite así obtener unas ftaleínas de pureza elevada con un rendimiento satisfactorio en el plano industrial.

Más particularmente, la invención tiene por lo tanto por objeto un procedimiento de preparación de ftaleínas, liberadas de sus impurezas residuales, que presentan la fórmula general (I):

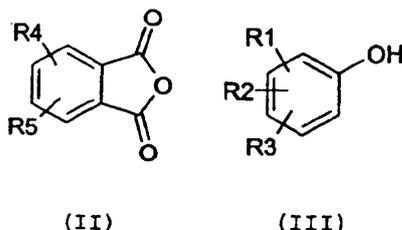


(I)

en la que R1, R2, R3, R4, R5 que son idénticos o diferentes entre sí, se seleccionan de entre el grupo constituido por los radicales o los grupos siguientes: hidrógeno, hidroxilo, halógeno, acetilo, amino, fosfato, nitro, sulfonato, carboxi, alquil-

5 carboxi de 2 a 30 átomos de carbono, alquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, alquiloxi que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, halogenoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, hidroxialquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, alquiléster que tiene de 2 a 40 átomos de carbono, nitroalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, carboxialquilo que tiene de 2 a 30 átomos de carbono, aminoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, sulfoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, arilo, ariloxi, aril-alquilo, halogenoarilo, ariléster, succinimidiléster, isotiocianato, maleimida, yodoacetamida, halogenoacetamida, clorosulfónico, las bases púricas o pirimídicas, las osas, preferentemente las hexosas o las pentosas, los oligósidos y los poliósidos, los polipéptidos, las proteínas y los fosfolípidos,

15 R3 y R5 no representan cada uno el hidrógeno cuando R1 representa un grupo $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$, R2 representa un grupo hidroxilo y R4 representa un grupo $-\text{COOH}$,
mediante la condensación de un derivado del anhídrido ftálico de fórmula (II) con un compuesto fenólico o naftólico de fórmula (III)



20 en las que R1, R2, R3, R4, R5 tienen los mismos significados que anteriormente,
en el seno de un disolvente constituido por un éster de ácido orgánico.

25 De manera particularmente ventajosa, el compuesto de partida (III), que está condensado con el anhídrido ftálico (II) se selecciona de entre el grupo constituido en particular por el resorcinol, el orcinol, el naftol, el pirogalol, el alquilaminofenol y el arilaminofenol.

30 En el caso en el que el resorcinol se utiliza como producto de partida, el procedimiento de acuerdo con la invención permite la preparación de la fluoresceína.

De manera ventajosa, el disolvente utilizado en el procedimiento de acuerdo con la invención es un éster de ácido orgánico de fórmula (IV)



40 en la que R_6 se selecciona de entre el grupo constituido por los radicales o los grupos siguientes: hidrógeno, alquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, halogenoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, hidroxialquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, nitroalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, arilo, ariloxi, alquilarilo, arilalquilo, arilalquilo sustituido, halogenoarilo, ariléster, alquiléster que tiene de 2 a 40 átomos de carbono, alquiloxi que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, representando R_7 un grupo alquilo que tiene de 1 a 30

átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, halogenoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, hidroxialquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, nitroalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, arilo, ariloxi, alquilarilo, arilalquilo, aril-alquilo sustituido, halogenoarilo, ariléster, alquiléster que tiene de 2 a 40 átomos de carbono, y alquiloxi que tiene de 1 a 30 átomos de carbono.

De manera particularmente ventajosa, dicho disolvente se selecciona de entre el grupo constituido por los benzoatos, los heptanoatos, los octanoatos, los lauratos, los miristatos y los palmitatos de metilo, de etilo, de propilo o de butilo, y sus mezclas.

El disolvente se selecciona en función de su temperatura de ebullición de manera que permita llevar a cabo la reacción de condensación a una temperatura comprendida entre 150°C y 250°C.

La reacción de condensación se puede llevar a cabo a la presión atmosférica o bajo una presión adaptada en función de la diferencia existente entre la temperatura que corresponde al punto de ebullición del disolvente utilizado y la temperatura necesaria para llevar a cabo la reacción, en particular bajo una presión superior a la presión atmosférica cuando el punto de ebullición del compuesto (IV) es más bajo que la temperatura de la reacción.

La reacción de condensación se puede llevar a cabo en presencia de un catalizador seleccionado de entre el grupo constituido en particular por los ácidos de Lewis, tales como $ZnCl_2$ o $AlCl_3$, los ácidos de Brönsted tales como H_2SO_4 , el ácido polifosfórico o sus sales.

De manera ventajosa, el catalizador utilizado es una sal alcalina de hidrogenosulfato. De manera particularmente ventajosa, el catalizador utilizado es el hidrogenosulfato de potasio ($KHSO_4$) o el hidrogenosulfato de sodio. La utilización de hidrogenosulfato como catalizador permite la obtención de un excelente rendimiento para la reacción de condensación y presenta la ventaja, al contrario de los demás catalizadores, de permitir la obtención de una condensación completa de los agentes reactivos, de poder ser eliminado totalmente de la fialeína obtenida y de no inducir la formación de alquitrán en el medio de reacción.

Al final de la reacción de condensación, se obtiene un producto bruto cuya pureza orgánica es ya mucho más elevada que la de los productos procedentes de los procedimientos de la técnica anterior puesto que es igual o superior a 95%.

Sin embargo, esta pureza no es suficiente todavía para permitir una utilización farmacéutica en particular por vía inyectable. Por otro lado, tal como se ha mostrado anteriormente, los métodos de purificación descritos en la técnica anterior no conducen a un procedimiento que permite mejorar de manera notable esta pureza.

Al final de investigaciones profundizadas y de manera completamente inesperada, los inventores han descubierto que era posible aumentar considerablemente la pureza de las fialeínas en bruto obtenidas mediante la reacción de condensación tratándolas con un ácido fuerte o uno de sus precursores en un medio orgánico anhidro.

Según un modo de realización ventajoso, el procedimiento de acuerdo con la

invención comprende, por consiguiente, después de la reacción de condensación, una etapa que consiste en acidificar el producto resultante de la condensación, en medio orgánico anhidro, mediante la adición de un ácido fuerte o de uno de sus precursores seleccionado de entre el grupo constituido en particular por el ácido sulfúrico, el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido fluorhídrico, el ácido yodhídrico, el ácido polifosfórico, el pirofosfato (P_2O_5), y sus mezclas. Esta acidificación se lleva a cabo hasta la conversión de los cristales de ftaleína que resultan de la condensación, en cristales de ftaleína de estructura diferente.

Esta etapa de acidificación tiene por efecto convertir la ftaleína en bruto insoluble y dispersada en el medio orgánico en una forma de estructura cristalina diferente y poco soluble en este mismo medio. Esta conversión es muy rápida, y se efectúa pasando por una fase de solubilización intermedia durante la cual las impurezas son liberadas y eliminadas totalmente de los cristales de ftaleína. Este nuevo procedimiento de purificación es muy ventajoso puesto que necesita muy poco disolvente y permite la obtención de una pureza elevada en un tiempo muy corto.

Según el procedimiento de la presente invención, esta etapa de purificación se realiza dispersando la ftaleína en bruto procedente de la condensación en un disolvente anhidro, preferentemente en un alcohol, una cetona, un éter, un disolvente halogenado, utilizado solo o en mezcla, más preferentemente aún en el etanol absoluto o la acetona sola o en mezcla.

La dispersión de ftaleína en bruto así obtenida se acidifica mediante la adición de un ácido fuerte o de uno de sus precursores seleccionado de entre el grupo constituido en particular por el ácido sulfúrico, el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido fluorhídrico, el ácido yodhídrico, el ácido polifosfórico, el pirofosfato (P_2O_5) y sus mezclas.

Según un modo de realización particularmente ventajoso, la acidificación se realiza o bien haciendo burbujear ácido clorhídrico gaseoso en la dispersión de ftaleína, o bien añadiendo ácido clorhídrico previamente disuelto en un disolvente orgánico.

Según otro modo de realización ventajoso del procedimiento de acuerdo con la invención, el producto obtenido después de la acidificación se lava con la ayuda de una disolución de lavado seleccionada de entre el grupo constituido por el agua, los disolventes polares tales como los alcoholes, las cetonas, o los disolventes ligeramente polares tales como los éteres y los disolventes halogenados, utilizados puros o en mezcla.

Al final de la etapa de purificación, las ftaleínas así tratadas tienen una pureza superior a 98%, preferentemente superior a 99%, más preferentemente superior a 99,5%, y todavía más preferentemente de 99,8%.

Las ftaleínas así obtenidas tienen una calidad adaptada para permitir la preparación de otra ftaleína de fórmula (I) mediante la modificación química de los grupos R1, R2, R3, R4, R5 según los procedimientos habituales de la técnica, en particular para la obtención de ftaleínas que se pueden utilizar para el marcado de las moléculas biológicas (ácido nucleico, proteínas, lipoproteínas, lípidos membranaarios) y en el campo de las aplicaciones en biotecnología (por ejemplo para el marcado de moléculas y de su actividad bioquímica intra o extracelular).

La invención está particularmente adaptada para la preparación de fluoresceína de pureza muy grande, es decir tal que su contenido de cada uno de los sub-productos de la reacción es inferior o igual a 0,2% y preferentemente inferior o igual a 0,1%, siendo la suma de los contenidos de cada de estos sus-productos inferior o igual a 0,5%.

5

El procedimiento de preparación de una fluoresceína que presenta dicha pureza comprende las etapas sucesivas siguientes:

10

- condensar el anhídrido ftálico con el resorcinol, en un disolvente que es un éster de ácido orgánico alifático o aromático, preferentemente el benzoato de metilo, en presencia de un catalizador seleccionado de entre el grupo constituido por los ácidos de Brönsted,

15

- poner en suspensión los cristales de color rojo obtenidos en la etapa anterior en un disolvente anhidro seleccionado de entre el grupo constituido por los alcoholes tales como el etanol absoluto, las cetonas tales como la acetona, los éteres, los disolventes halogenados, o sus mezclas,

20

- acidificar la suspensión obtenida mediante la adición de un ácido fuerte o de uno de sus precursores seleccionado de entre el grupo constituido por el ácido sulfúrico, el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido fluorhídrico, el ácido yodhídrico, el ácido polifosfórico, el pirofosfato (P_2O_5), o sus mezclas, hasta obtener unos cristales de color amarillo,

25

- lavar los cristales así obtenidos con la ayuda de una disolución de lavado seleccionada de entre el grupo constituido por el agua, los alcoholes, las cetonas, los éteres y los disolventes halogenados, puros o en mezcla, hasta obtener unos cristales de color rojo.

30

Los cristales de fluoresceína de color rojo presentan una cristalografía de RX tal como la representada en la figura 1; los cristales de fluoresceína de color amarillo presentan una cristalografía de RX tal como la representada en la figura 2; siendo estas cristalografías realizadas en el aparato siguiente: Generador PHILIPS 1729, Goniómetro PHILIPS 1050, Radiación Cu $K\alpha$, Programa de adquisición GONIO y programa de tratamiento RAYON, en las condiciones de realización siguientes:

35

Tensión:	40 mV
Intensidad:	40 mA
Número de puntos:	4.000
Número de pasos:	10
Periodo de adquisición:	250 ms
Ángulo de partida ($^\circ\theta$):	3.000
Ángulo final ($^\circ\theta$):	23.000
Patrón:	silicio

45

Según un modo de realización ventajoso del procedimiento de preparación de la fluoresceína, el catalizador utilizado para la reacción de condensación es hidrogenosulfato de un metal alcalino, preferentemente hidrogenosulfato de potasio o de sodio.

50

Según otro modo de realización ventajoso del procedimiento de preparación de la

fluoresceína, la acidificación se realiza mediante burbujeo de ácido clorhídrico gaseoso en la suspensión de fluoresceína o mediante la acción, en esta fluoresceína, de ácido clorhídrico en disolución en un disolvente orgánico anhidro, seleccionado preferentemente de entre el grupo constituido por los alcoholes, las cetonas, los éteres y los disolventes halogenados utilizados de manera aislada o en mezcla, más preferentemente aún, el isopropanol, el etanol absoluto o la acetona, puros o en mezcla.

De manera ventajosa, la etapa de lavado se realiza con la ayuda de una mezcla de agua, de etanol y de acetona.

Gracias a este procedimiento de acuerdo con la invención, es posible preparar fluoresceína que presenta una pureza igual o superior a 99,7%, lo cual presenta unas ventajas incontestables en particular para las utilizaciones farmacéuticas en diagnóstico en particular en formación de imágenes médicas o también en el campo de las aplicaciones en biotecnología.

Los inventores han demostrado una nueva forma cristalográfica de la fluoresceína que presenta unos cristales de color amarillo. Esta nueva forma cristalina se identifica mediante el espectro de radiocristalografía de la figura 2, que ha sido realizado en las condiciones mencionadas anteriormente.

Han demostrado asimismo una nueva forma cristalográfica de los compuestos siguientes 4',5'-dihidroxi fluoresceína y 4',5'-dimetil fluoresceína.

Así, la invención se refiere a los cristales de fluoresceína de color amarillo cuyo espectro de radiocristalografía se proporciona en la figura 2.

La invención se refiere asimismo a los cristales de 4',5'-dihidroxi fluoresceína de color amarillo cuyo espectro de radiocristalografía se proporciona en la figura 6.

Se refiere asimismo a los cristales de 4',5'-dimetil fluoresceína de color rojo cuyo espectro de radiocristalografía se proporciona en la figura 6.

Todos los espectros han sido realizados con el aparato y en las condiciones mencionados anteriormente.

La invención se describirá ahora de manera más detallada con la ayuda de los ejemplos siguientes que no son limitativos, sino relativos a unos modos de realización ventajosos.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: Preparación de fluoresceína de pureza elevada

Síntesis de la fluoresceína:

Una mezcla que comprende 55 g de resorcinol, 30 g de anhídrido ftálico, 2 g de hidrogenosulfato de potasio y 500 ml de benzoato de metilo se lleva hasta 200°C durante 6 horas. Después del enfriamiento, los cristales rojos de fluoresceína en bruto se lavan con

acetona y se secan.

Masa obtenida = 51,8 g (78%)

5 Estos cristales se analizan mediante radiocristalografía en las condiciones de realización siguientes:

Aparato

10 Generador PHILIPS 1729
Goniómetro PHILIPS 1050
Radiación Cu K α
Programa de adquisición GONIO
Programa de tratamiento RAYON

15

Condiciones

20	Tensión:	40 mV
	Intensidad:	40 mA
	Número de puntos:	4.000
	Número de pasos:	10
	Periodo de adquisición:	250 ms
	Ángulo de partida ($^{\circ}\theta$):	3.000
25	Ángulo final ($^{\circ}\theta$):	23.000
	Patrón:	silicio

30 Se obtiene la radiocristalografía de la figura 1, cuyos picos están identificados a continuación.

Theta (grados)	Distancia (Å)	% de intensidades	Número de golpes
5,3600	8,2457	18,09	647
5,9500	7,4306	31,10	1112
6,7000	6,6020	36,30	1298
8,3750	5,2883	45,95	1643
9,1050	4,8675	10,79	386
9,4300	4,7012	14,09	504
9,9950	4,4379	8,03	287
10,9150	4,0678	9,73	348
11,6200	3,8241	16,41	587
11,7300	3,7888	5,40	193
12,4200	3,5813	2,82	101
13,2150	3,3694	100,00	3576
13,5050	3,2983	7,47	267
13,8850	3,2097	79,03	2826
14,9650	2,9828	5,62	201
15,3100	2,9172	3,91	140
15,7600	2,8359	11,69	418
16,0000	2,7945	8,67	310

16,9100	2,6481	4,28	153
17,4750	2,5650	3,97	142
17,8550	2,5122	3,80	136
18,2300	2,4622	2,52	90
18,5150	2,4256	2,96	106
18,8250	2,3871	5,03	180
19,0800	2,3563	3,27	117
20,4300	2,2066	3,05	109
20,6800	2,1811	4,53	162
20,9300	2,1562	3,08	110
21,1800	2,1319	2,38	85
22,9400	1,9762	4,53	162

longitud de onda: 1,54051 Å

Purificación de la fluoresceína en bruto:

5 Se agitan 50 g de fluoresceína en bruto obtenidos en la etapa anterior en 1.000 ml de mezcla etanol/acetona. A esta mezcla se añade el ácido sulfúrico concentrado hasta la conversión completa de los cristales rojos en cristales amarillos.

10 Los cristales amarillos obtenidos se analizan mediante radiocristalografía como anteriormente. Se obtiene la radiocristalografía de la figura 2, cuyos picos están identificados a continuación.

15 Theta (grados)
Distancias (Å)
% de las intensidades
Número de golpes

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
3,3500	13,1813	8,55	56
4,0050	11,0283	47,18	309
4,8550	9,1010	12,98	85
5,2650	8,3940	9,01	59
5,4500	8,1099	11,45	75
5,7900	7,6352	52,98	347
6,3000	7,0193	16,95	111
6,7700	6,5340	17,86	117
7,4900	5,9090	17,56	115
8,0300	5,5140	69,77	457
8,4250	5,2572	33,13	217
8,7800	5,0462	8,40	55
9,1550	4,8411	15,88	104
9,3400	4,7461	42,44	278
9,6550	4,5926	34,66	227
9,8800	4,4891	24,43	160
10,1950	4,3518	57,71	378
10,5800	4,1951	58,02	380
10,7350	4,1352	38,17	250

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
11,1650	3,9779	28,85	189
11,4800	3,8701	30,23	198
11,7200	3,7919	59,85	392
12,1100	3,6716	26,41	173
12,3950	3,5884	58,47	383
12,6400	3,5200	100,00	655
12,9450	3,4384	30,84	202
13,1550	3,3845	56,64	371
13,8350	3,2211	14,66	96
14,0550	3,1717	24,12	158
14,3550	3,1068	36,34	238
14,6700	3,0415	42,90	281
15,1300	2,9511	42,90	281
15,7500	2,8377	18,47	121
15,9400	2,8047	18,17	119
16,2500	2,7526	15,42	101
16,7550	2,6719	17,71	116
16,8500	2,6573	19,39	127
17,2250	2,6011	18,17	
17,7300	2,5293	15,73	103
18,4200	2,4377	10,23	67
18,5750	2,4180	10,23	67
19,2650	2,3345	15,88	104
19,5800	2,2984	10,84	71
19,8000	2,2739	11,91	78
20,1150	2,2397	13,28	87
20,6500	2,1841	14,81	97
21,1500	2,1348	11,30	74
21,2750	2,1228	10,08	66
21,8100	2,0732	7,94	52
22,2500	2,0342	9,16	60
22,6250	2,0022	9,62	63
22,9100	1,9786	9,01	59

Longitud de onda: 1,54051 Å

Estos cristales se filtran y después se lavan con una mezcla de etanol/acetona/agua (40/40/20). El lavado reconvierte los cristales de fluoresceína amarillos en cristales de fluoresceína rojos cuya pureza es más elevada.

5

Pureza en CLHP: 99,8%

EJEMPLO 2: Preparación de la 4',5'-dimetilfluoresceína de pureza elevada

10

Síntesis de la 4',5'-dimetilfluoresceína

Una mezcla que comprende 62 g de 2-metilresorcinol, 30 g de anhídrido ftálico, 2 g de hidrogenosulfato de potasio y 500 ml de laurato de etilo se lleva a 200°C durante 3 horas. Después del enfriamiento, el producto en bruto se filtra y se lava con acetona y

15

después se seca. El producto obtenido es un polvo naranja oscuro.

Masa obtenida = 49,7 g (69%)

- 5 Estos cristales se analizan mediante radiocristalografía de la misma manera que en el ejemplo 1. Se obtiene la radiocristalografía de la figura 3, cuyos picos están identificados a continuación.

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
3,5700	12,3700	7,38	81
5,0290	8,7938	45,49	499
6,6650	6,6365	62,26	683
6,7400	6,5630	60,07	659
7,1300	6,2057	87,24	957
7,4550	5,9366	20,97	230
8,3700	5,2915	6,56	72
8,9300	4,9621	30,63	336
9,0950	4,8728	10,12	111
9,3300	4,7511	21,24	233
9,4550	4,6889	19,05	209
10,0350	4,4204	12,12	133
10,3250	4,2975	18,87	207
10,6000	4,1873	11,49	126
10,8300	4,0994	39,65	435
11,2900	3,9344	12,49	137
11,4500	3,8801	10,85	119
11,7550	3,7808	28,17	309
11,9050	3,7339	52,42	575
12,2550	3,6288	79,95	877
12,7050	3,5023	8,11	89
13,2400	3,3631	21,15	232
13,4200	3,3188	100,00	1097
13,7100	3,2499	10,85	119
14,5250	3,0712	8,84	97
14,8350	3,0084	23,25	255
15,0550	2,9654	17,59	193
15,1550	2,9463	15,13	166
15,3650	2,9070	25,80	283
15,7050	2,8456	20,51	225
16,1900	2,7625	14,13	155
16,7550	2,6719	9,02	99
17,5400	2,5558	7,47	82
17,8850	2,5081	8,75	96
18,1050	2,4786	6,75	74
18,4900	2,4288	19,51	214
18,7950	2,3907	6,11	67
18,8900	2,3791	6,84	75
19,6800	2,2872	15,50	170
20,2100	2,2296	7,38	81
20,3950	2,2103	9,66	106

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
20,6800	2,1811	6,84	75
20,9950	2,1498	5,38	59
21,4650	2,1049	7,11	78
21,6500	2,0878	8,84	97
21,9350	2,0620	9,21	101
22,1250	2,0451	9,02	99
22,5300	2,0102	5,47	60
22,7850	1,9889	5,93	65
Longitud de onda: 1,54051 Å			

Purificación de la 4',5'-dimetilfluoresceína

5 Se añaden 40 g 4',5'-dimetilfluoresceína en bruto a 800 ml de mezcla etanol/acetona. A esta mezcla se añade ácido sulfúrico concentrado hasta la conversión completa de los cristales de color naranja oscuro en cristales de color amarillo.

10 Los cristales amarillos obtenidos se analizan mediante radiocristalografía como anteriormente. Se obtiene la radiocristalografía de la figura 4, cuyos picos están identificados a continuación.

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
3,7050	11,9199	22,22	172
4,6150	9,5732	45,61	353
4,9300	8,9629	46,77	362
6,3300	6,9861	8,53	66
6,6150	6,6864	6,20	48
7,3000	6,0619	19,51	151
7,4500	5,9405	32,56	252
7,6500	5,7861	26,61	206
8,1250	5,4499	64,21	497
8,6300	5,1332	22,48	174
9,5950	4,6211	6,59	51
10,4450	4,2487	41,34	320
10,8500	4,0919	10,21	79
11,3550	3,9122	14,60	113
11,7000	3,7983	9,17	71
11,7950	3,7682	9,30	72
12,2250	3,6375	23,13	179
12,4500	3,5728	58,79	455
12,7650	3,4861	19,90	154
12,8950	3,4515	18,60	144
13,1000	3,3984	100,00	774
13,6350	3,2675	67,44	522
14,1400	3,1530	30,75	238
14,5250	3,0712	14,08	109
14,8400	3,0074	22,74	176
15,1750	2,9425	19,38	150
15,3500	2,9098	30,23	234

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
15,695C	2,8474	20,93	162
16,0950	2,7784	7,24	56
16,2850	2,7468	7,49	58
16,5950	2,6969	8,01	62
16,9100	2,6481	14,08	109
17,3200	2,5873	8,66	67
17,5400	2,5558	7,88	61
17,9150	2,5040	13,31	103
18,3550	2,4460	9,69	75
18,4800	2,4300	10,59	82
18,8600	2,3828	15,37	119
19,2350	2,3380	9,43	73
19,4850	2,3092	7,75	60
20,2100	2,2296	14,99	116
20,7100	2,1781	7,11	55
20,8350	2,1656	6,59	51
21,0850	2,1411	6,33	49
21,5250	2,0993	12,92	100
21,6500	2,0878	8,79	68
21,8400	2,0705	6,98	54
22,0900	2,0482	10,34	80
226550	1,9997	7,11	55

Longitud de onda: 1,54051 Å

Después de la filtración y de la recristalización en una mezcla acetona/agua o lavado en etanol/acetona/agua, los cristales de color amarillo se reconvierten en cristales de color naranja oscuro.

5

EJEMPLO 3: Preparación de la 4',5'-dihidroxi fluoresceína**Síntesis de la 4',5'-dihidroxi fluoresceína**

5 Una mezcla que comprende 63 g de pirogalol, 30 g de anhídrido ftálico, 2 g de hidrogenosulfato de potasio, y 500 ml de miristato de etilo se lleva a 200°C durante 3 horas. Después del enfriamiento, el producto en bruto se filtra y se lava con acetona y después se seca. El producto obtenido es un polvo marrón-gris o antracita.

10 Masa obtenida = 43,5 g (59,7%)

Los cristales obtenidos se analizan mediante radiocristalografía tal como anteriormente. Se obtiene la radiocristalografía de la figura 5, cuyos picos están identificados a continuación.

15

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
3,6450	12,1158	73,08	980
5,9200	7,4681	8,13	109
6,7200	6,5824	13,35	179
7,3350	6,0331	10,29	138
8,5050	5,2081	11,78	158
9,2300	4,8021	15,59	209
9,7400	4,5529	18,20	244
10,3400	4,2914	21,40	287
10,9150	4,0678	6,71	90
11,2600	3,9447	8,80	118
12,2550	3,6288	18,64	250
12,5550	3,5434	12,75	171
13,2000	3,3731	11,86	159
13,7200	3,2476	100,00	1341
14,7150	3,0324	17,75	238
14,8600	3,0034	13,57	182
16,1600	2,7675	6,79	91
17,2550	2,5967	7,83	105
18,3550	2,4460	6,86	92

Longitud de onda: 1,54051 Å

Purificación de la 4',5'-dihidroxi fluoresceína

20 Se añaden 40 g de 4',5'-dihidroxi fluoresceína en bruto en 800 ml de mezcla etanol/acetona. A esta mezcla se añade ácido sulfúrico concentrado hasta la conversión completa de los cristales de color marrón-gris o antracita en cristales de color marrón-rojo o acajú.

25 Los cristales obtenidos se analizan mediante radiocristalografía tal como anteriormente. Se obtiene la radiocristalografía de la figura 6, cuyos picos están identificados a continuación.

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
3,2500	13,5865	90,53	526
3,5350	12,4923	18,76	109
3,7850	11,6683	11,70	68
3,9450	11,1958	13,25	77
4,1650	10,6053	15,15	88
4,5400	9,7310	10,33	60
4,6350	9,5319	10,15	59
6,3950	6,9154	9,29	54
6,5500	6,7525	11,53	67
6,8200	6,4863	27,71	161
7,1150	6,2187	10,50	61
7,4800	5,9168	21,51	125
7,8700	5,6253	12,91	75
8,2200	5,3874	27,88	162
8,7800	5,0462	41,48	241
9,2200	4,8073	10,15	59
9,5350	4,6499	11,70	68
9,7950	4,5276	42,17	245
10,1000	4,3923	17,21	100
10,5400	4,2108	16,70	97
10,8850	4,0789	16,52	96
11,6500	3,8144	25,13	146
11,8900	3,7385	13,60	79
12,0450	3,6911	13,08	76
12,3900	3,5898	16,52	96
12,5800	3,5365	14,80	86
12,8750	3,4568	27,37	159
12,9950	3,4254	25,82	150
13,2900	3,3507	67,64	393
13,5750	3,2816	27,02	157
13,7150	3,2488	27,02	157
14,1100	3,1596	100,00	581
14,6200	3,0516	15,66	91
14,7750	3,0203	18,24	106
15,0400	2,9683	25,13	146
15,3050	2,9181	24,78	144
15,6850	2,8491	16,35	95
15,9400	2,8047	11,02	64
16,2500	2,7526	10,67	62
16,5950	2,6969	12,22	71
17,1650	2,6099	9,81	57
17,5700	2,5516	8,78	51
17,7600	2,5252	9,81	57
18,0750	2,4826	11,36	66
18,5150	2,4256	8,43	49
18,7650	2,3944	13,08	76
19,0450	2,3605	11,36	66
20,1950	2,2312	50,09	291
20,6150	2,1877	9,12	53

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
21,0550	2,1440	12,56	73
21,4650	2,1049	9,29	54
21,6850	2,0846	9,98	58
22,0600	2,0509	9,81	57

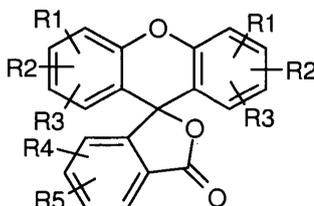
Longitud de onda: 1,54051 Å

Después de la filtración y del lavado en agua, los cristales de color marrón-rojo o acajú se reconvierten en cristales de color marrón-gris o antracita.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de ftaleínas, liberadas de sus impurezas residuales, que presentan la fórmula general (I):

5



(I)

en la que R1, R2, R3, R4, R5 que son idénticos o diferentes entre sí, se seleccionan de entre el grupo constituido por los radicales o los grupos siguientes: hidrógeno, hidroxilo, halógeno, acetilo, amino, fosfato, nitro, sulfonato, carboxi, alquil-carboxi de 2 a 30 átomos de carbono, alquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, alquiloxi que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, halogenoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, hidroxialquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, alquiléster que tiene de 2 a 40 átomos de carbono, nitroalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, carboxialquilo que tiene de 2 a 30 átomos de carbono, aminoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, sulfoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, arilo, ariloxi, aril-alquilo, halogenoarilo, ariléster, succinimidiléster, isotiocianato, maleimida, yodoacetamida, halogenoacetamida, clorosulfónico, las bases púricas o pirimídicas, las osas, preferentemente las hexosas o las pentosas, los oligósidos y los poliósidos, los polipéptidos, las proteínas y los fosfolípidos,

10

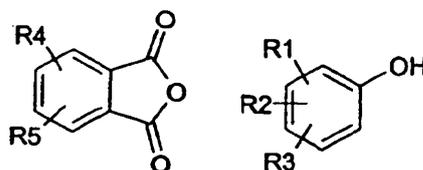
15

20

R3 y R5 no representan cada uno el hidrógeno cuando R1 representa un grupo $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$, R2 representa un grupo hidroxilo y R4 representa un grupo $-\text{COOH}$,

25

caracterizado porque se condensa un derivado del anhídrido ftálico de fórmula (II) con un compuesto fenólico o naftólico de fórmula (III)



(II)

(III)

30

en las que R1, R2, R3, R4, R5 tienen los mismos significados que anteriormente,

siendo la condensación realizada en un disolvente constituido por un éster de ácido orgánico.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula (III) se selecciona de entre el grupo constituido por el resorcinol, el orcinol, el naftol, el pirogalol, el alquilaminofenol y el arilaminofenol.

5

3. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 y 2, en el que el disolvente es un éster de ácido orgánico de fórmula (IV)



10

en la que R_6 se selecciona de entre el grupo constituido por los radicales o los grupos siguientes: hidrógeno, alquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, halogenoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, hidroxialquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, nitroalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, arilo, ariloxi, alquilarilo, arilalquilo, arilalquilo sustituido, halogenoarilo, ariléster, alquiléster que tiene de 2 a 40 átomos de carbono, alquiloxi que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, representando R_7 un grupo alquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, halogenoalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, hidroxialquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, nitroalquilo que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, arilo, ariloxi, alquilarilo, arilalquilo, aril-alquilo sustituido, halogenoarilo, ariléster, alquiléster que tiene de 2 a 40 átomos de carbono, y alquiloxi que tiene de 1 a 30 átomos de carbono.

15

20

25

4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque el éster de ácido orgánico se selecciona de entre el grupo constituido por el benzoato, el heptanoato, el octanoato, el laurato, el miristato o el palmitato de metilo, de etilo, de propilo o de butilo, y sus mezclas.

30

5. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque la reacción de condensación se lleva a cabo entre 150°C y 250°C, eventualmente bajo presión.

35

6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque se lleva a cabo en presencia de un catalizador seleccionado de entre el grupo constituido en particular por los ácidos de Lewis, tales como $ZnCl_2$ o $AlCl_3$, los ácidos de Brønsted tales como H_2SO_4 , el ácido polifosfórico, preferentemente un hidrogenosulfato alcalino y más preferentemente el hidrogenosulfato de potasio ($KHSO_4$) o el hidrogenosulfato de sodio ($NaHSO_4$).

40

45

7. Procedimiento de acidificación del producto resultante de la condensación de un derivado del anhídrido ftálico de fórmula (II) con un compuesto fenólico o naftólico de fórmula (III), siendo las fórmulas (II) y (III) las de la reivindicación 1, caracterizado porque se lleva a cabo en un medio orgánico anhidro, mediante la adición de un ácido fuerte o de uno de sus precursores seleccionado de entre el grupo constituido por el ácido sulfúrico, el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido fluorhídrico, el ácido yodhídrico, el ácido polifosfórico, el pirofosfato (P_2O_5), y sus mezclas, siendo la acidificación llevada a cabo

50

hasta la conversión de los cristales de ftaleína que resultan de la condensación, en cristales de ftaleína de estructura diferente.

5 8. Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque el producto de condensación es el producto obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

10 9. Procedimiento según la reivindicación 7 u 8, caracterizado porque comprende una etapa de lavado del producto obtenido después de la acidificación, siendo dicha etapa de lavado efectuada con la ayuda de una disolución de lavado seleccionada de entre el grupo constituido por el agua, los alcoholes, las cetonas, los éteres y los disolventes halogenados, puros o en mezcla hasta la reconversión de los cristales en la estructura que tenía antes de la reacción de acidificación.

15

20 10. Procedimiento de preparación de una fluoresceína que presenta una pureza tal que su contenido de cada uno de los sub-productos de la reacción es inferior o igual a 0,2% y preferentemente inferior o igual a 0,1%, siendo la suma de los contenidos de cada uno de estos sub-productos inferior o igual a 0,5%, comprendiendo dicho procedimiento las etapas sucesivas siguientes:

25 - condensar el anhídrido ftálico con el resorcinol, en un disolvente constituido por un éster de ácido orgánico alifático o aromático, preferentemente el benzoato o el palmitato de etilo o de metilo, en presencia de un catalizador seleccionado de entre el grupo constituido en particular por los ácidos de Lewis o los ácidos de Brønsted, y preferentemente un hidrogenosulfato alcalino,

30 - poner en suspensión los cristales de color rojo obtenidos en la etapa anterior en un disolvente anhidro seleccionado de entre el grupo constituido por los alcoholes tales como el etanol absoluto, las cetonas tales como la acetona, los éteres, los disolventes halogenados, o sus mezclas,

35 - acidificar la suspensión obtenida mediante la adición de un ácido fuerte o de uno de sus precursores seleccionado de entre el grupo constituido por el ácido sulfúrico, el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido fluorhídrico, el ácido yodhídrico, el ácido polifosfórico, el pirofosfato (P_2O_5), y sus mezclas, hasta la conversión de los cristales de color rojo en cristales de color amarillo que presentan el espectro de radiocristalografía de la figura 2,

40

45 - lavar los cristales así obtenidos con la ayuda de una disolución de lavado seleccionada de entre el grupo constituido por el agua, los alcoholes, las cetonas, los éteres y los disolventes halogenados, puros o en mezcla, continuando este lavado hasta la reconversión de los cristales de color amarillo en cristales de color rojo.

50 11. Procedimiento según una de las reivindicaciones 7 a 10, caracterizado porque la acidificación se lleva a cabo mediante burbujeo de ácido clorhídrico gaseoso en la

suspensión de ftaleína o mediante la acción sobre esta ftaleína de ácido clorhídrico en disolución en el disolvente orgánico anhidro, preferentemente un alcohol, una cetona, un éter, un disolvente halogenado utilizados de forma aislada o en mezcla, más preferentemente todavía, el isopropanol, el etanol absoluto o la acetona, puros o en mezcla.

5

12. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque el catalizador utilizado para la reacción de condensación está constituido por el hidrogenosulfato de un metal alcalino, preferentemente hidrogenosulfato de potasio o de sodio.

10

13. Cristales de fluoresceína de color amarillo que presentan el espectro de radiocristalografía cuyos picos están identificados a continuación:

15

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
3,3500	13,1813	8,55	56
4,0050	11,0283	47,18	309
4,8550	9,1010	12,98	85
5,2650	8,3940	9,01	59
5,4500	8,1099	11,45	75
5,7900	7,6352	52,98	347
6,3000	7,0193	16,95	111
6,7700	6,5340	17,86	117
7,4900	5,9090	17,56	115
8,0300	5,5140	69,77	457
8,4250	5,2572	33,13	217
8,7800	5,0462	8,40	55
9,1550	4,8411	15,88	104
9,3400	4,7461	42,44	278
9,6550	4,5926	34,66	227
9,8800	4,4891	24,43	160
10,1950	4,3518	57,71	378
10,5800	4,1951	58,02	380
10,7350	4,1352	38,17	250
11,1650	3,9779	28,85	189
11,4800	3,8701	30,23	198
11,7200	3,7919	59,85	392
12,1100	3,6716	26,41	173
12,3950	3,5884	58,47	383
12,6400	3,5200	100,00	655
12,9450	3,4384	30,84	202
13,1550	3,3845	56,64	371
13,8350	3,2211	14,66	96
14,0550	3,1717	24,12	158
14,3550	3,1068	36,34	238
14,6700	3,0415	42,90	281
15,1300	2,9511	42,90	281
15,7500	2,8377	18,47	121

Theta (grados)	Distancias (Å)	% de intensidades	Número de golpes
15,9400	2,8047	18,17	119
16,2500	2,7526	15,42	101
16,7550	2,6719	17,71	116
16,8500	2,6573	19,39	127
17,2250	2,6011	18,17	119
17,7300	2,5293	15,73	103
18,4200	2,4377	10,23	67
18,5750	2,4180	10,23	67
19,2650	2,3345	15,88	104
19,5800	2,2984	10,84	71
19,8000	2,2739	11,91	78
20,1150	2,2397	13,28	87
20,6500	2,1841	14,81	97
21,1500	2,1348	11,30	74
21,2750	2,1228	10,08	66
21,8100	2,0732	7,94	52
22,2500	2,0342	9,16	60
22,6250	2,0022	9,62	63
22,9100	1,9786	9,01	59
<hr/>			
Longitud de onda: 1,54051 Å			
<hr/>			

14. Cristales de fluoresceína susceptibles de ser obtenidos mediante un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11.

5

15. Utilización de los cristales de fluoresceína según la reivindicación 14 en unas aplicaciones farmacéuticas en diagnóstico en particular en formación de imágenes médicas o en el campo de las aplicaciones en biotecnología.

FIGURA 1
Radiocristalografía de
la fluoresceína en bruto

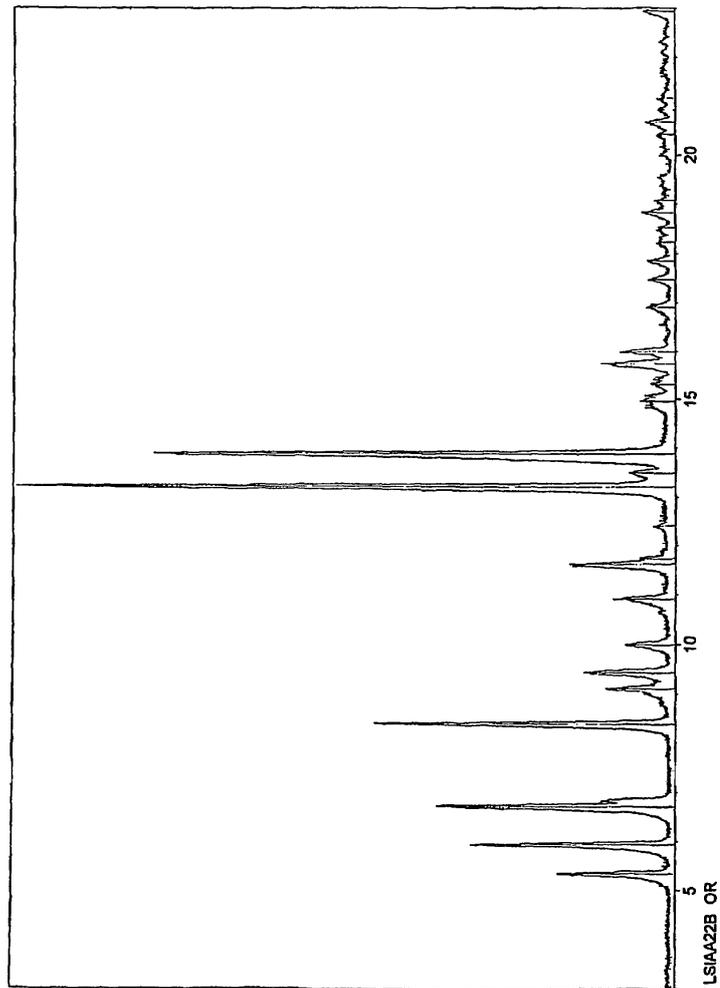


FIGURA 2
Radiocristalografía de la fluoresceína después
de conversión por el ácido (amarillo)

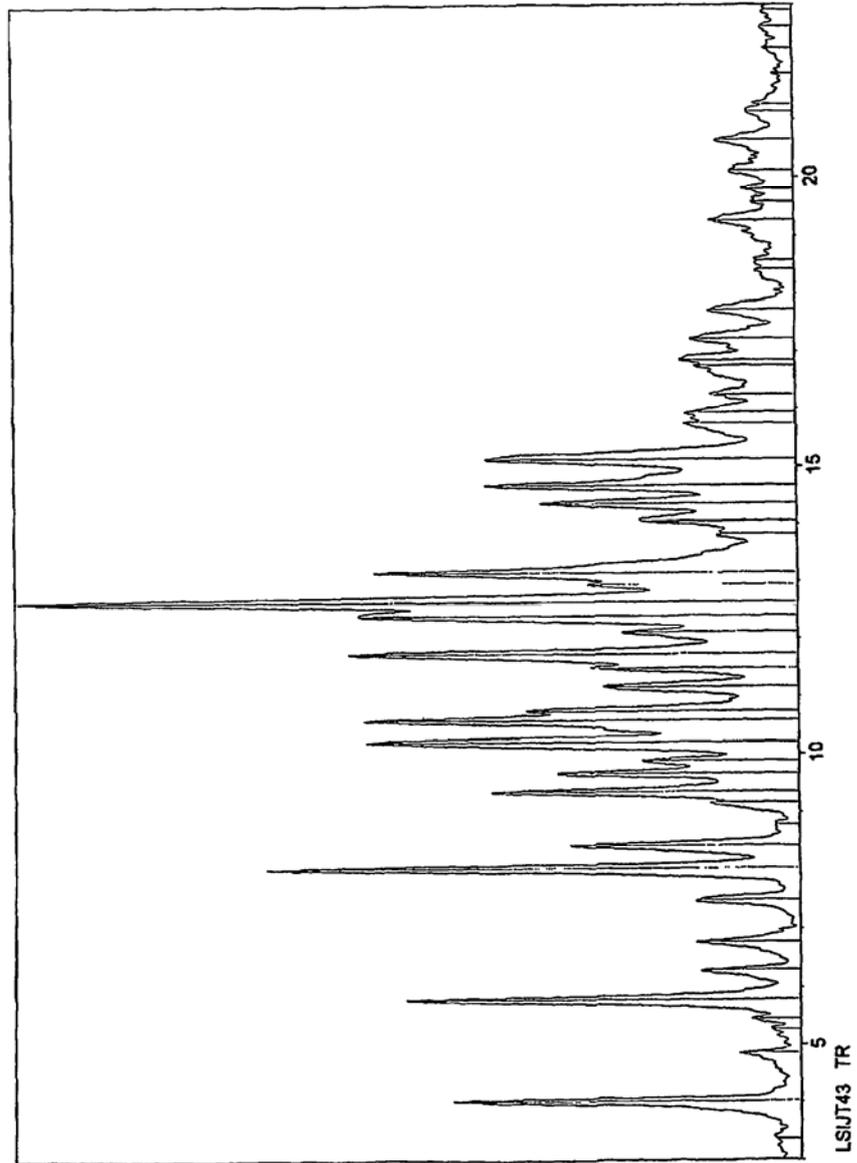


FIGURA 3
Radiocristalografía de la
4',5'-dimetilfluoresceína en bruto

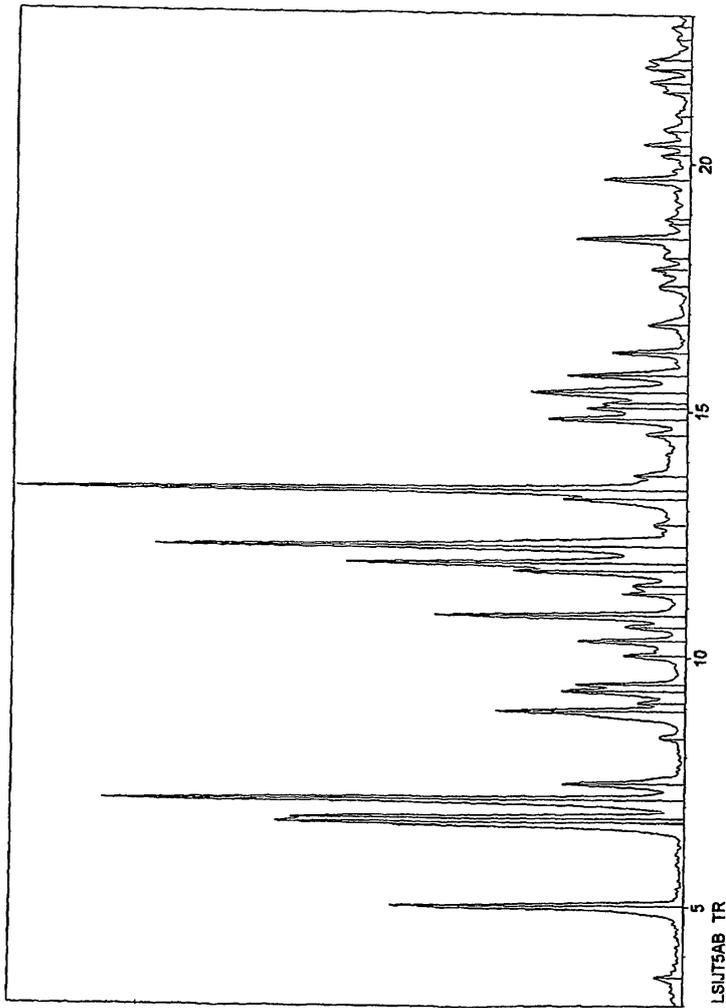


FIGURA 4
Radiocristalografía de la 4',5'-dimetilfluoresceína
después de conversión por el ácido

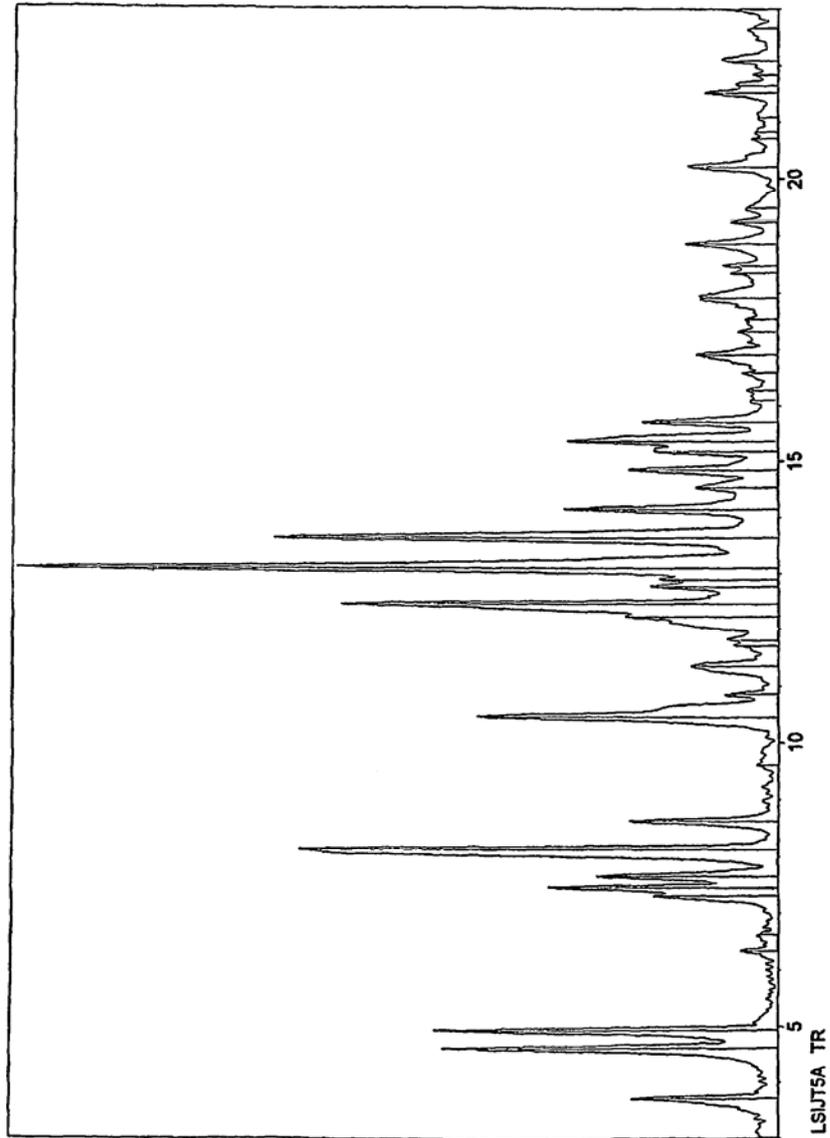


FIGURA 5
Radiocristalografía de la
4',5'-dihidroxi fluoresceína en bruto

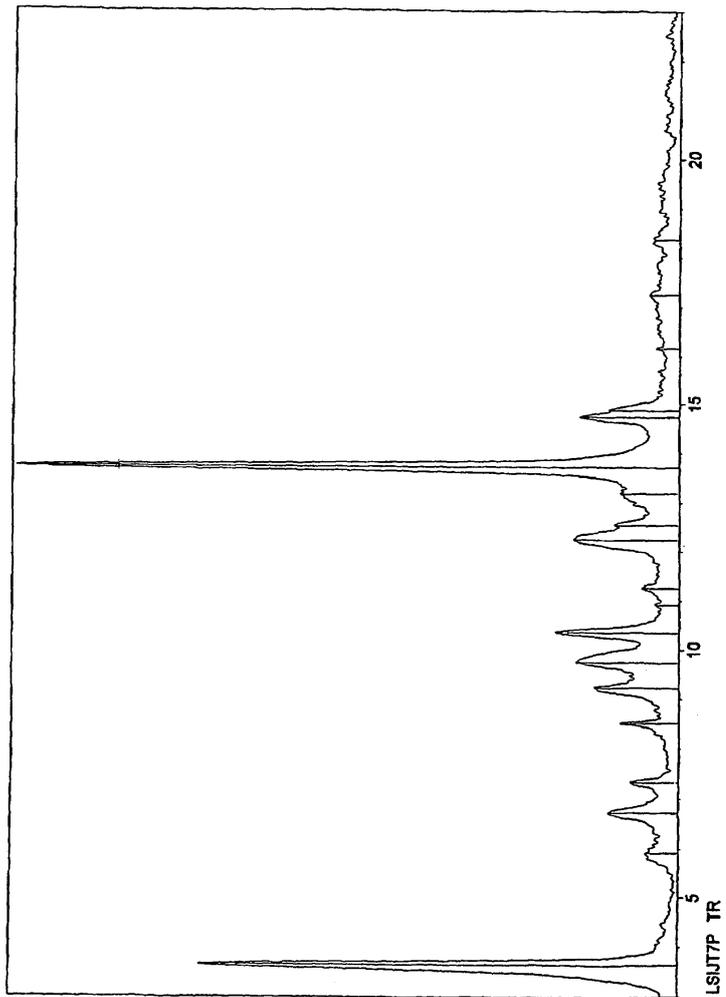


FIGURA 6

Radiocristalografía de la 4',5'-dihidroxi fluoresceína después de conversión por el ácido

