

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 174**

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 07803863 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2015 EP 2046767**

54 Título: **Método para la preparación de compuestos de diaminofenotiacinio**

30 Prioridad:

12.07.2006 FR 0606330

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

03.06.2015

73 Titular/es:

**PROVENCE TECHNOLOGIES (100.0%)
Les Baronnie, 22 rue Marc Donadille
13013 Marseille, FR**

72 Inventor/es:

**FERAUD, MICHEL y
SAYAH, BABAK**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

Observaciones :

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

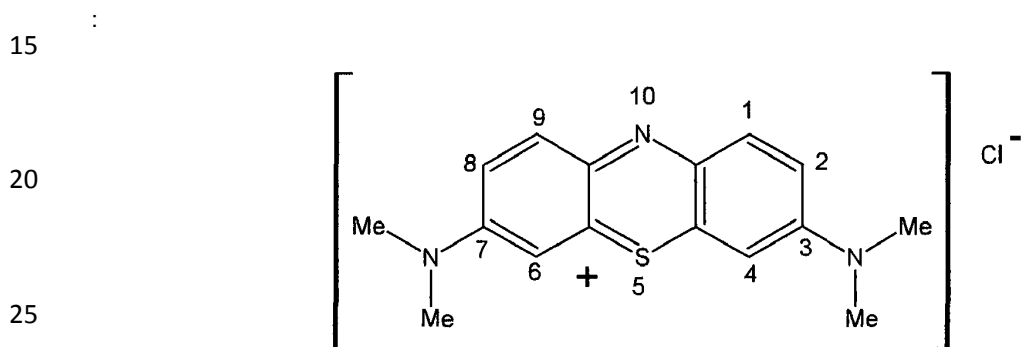
ES 2 537 174 T3

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

Método para la preparación de compuestos de diaminofenotiacinio.

- 5 La presente invención tiene como objetivo un nuevo método para la preparación de compuestos del tipo diaminofenotiacinio, en particular un método de purificación de estos compuestos. Se refiere en particular al azul de metileno, y describe también los productos que resultan de este método cuyo grado de pureza es más elevado que los conocidos en la técnica precedente. Describe además la utilización de estos compuestos para la preparación de medicamentos.
- 10 El cloruro de metiltioninio, también conocido con los nombres de azul de metileno o cloruro de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiacina-5-ilo, es un compuesto orgánico que tiene la fórmula siguiente



- 30 Este compuesto se utiliza desde hace mucho tiempo como colorante e indicador de redox, como revelador óptico en sistemas biofísicos, como material separador en materiales nanoporosos, y en imágenes fotoelectroquímicas. También se conoce por sus aplicaciones como agente antiséptico, antiinfeccioso, como antídoto y como agente de diagnóstico. Se utiliza, en particular, en ginecología, neonatología, cancerología, oncología, urología, oftalmología y gastroenterología. En estos momentos se desarrollan nuevas aplicaciones en el ámbito terapéutico, como la reducción de los contaminantes patogénicos en la sangre (GB2373787), la prevención o la inhibición de una reacción hemodinámica excesiva (WO03/082296).

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 el empleo de compuestos metálicos en al menos una etapa de la síntesis:

- 40 La patente DE-1886 describe un método en el cual se produce un acoplamiento oxidante del N,N-dimetil-1,4-diaminobenceno con H₂S y FeCl₃.

- 45 Fiez David y otros, "Fundamental Processes of Dye Chemistry", 1949, Interscience, 308-314, describen un método en el cual el ciclo tiacina se forma mediante tratamiento con dióxido de manganeso o sulfato de cobre. Este método comprende además un tratamiento con cloruro de cinc y con dicromato de sodio y con tiosulfato de aluminio.

- 50 El documento WO 2005/054217 describe derivados del azul de metileno y un método para su preparación. El método de preparación de estos compuestos utiliza la fenotiacina como producto inicial. Ahora bien, todos los métodos de preparación de la fenotiacina conocidos recurren a reactivos metálicos de los que al final de la síntesis los átomos de metales quelatan la fenotiacina. Por consiguiente, los productos obtenidos por este método están contaminados naturalmente con residuos metálicos, además de los contaminantes orgánicos habituales como el azul B.

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

- 60 Estos métodos requieren que se efectúen purificaciones tediosas y costosas con el fin de reducir las impurezas, en particular, las impurezas metálicas del azul de metileno. A pesar de las fases de purificación posteriores, estos distintos métodos conducen inevitablemente a un azul de metileno que contiene numerosas impurezas metálicas y también impurezas orgánicas, en particular, azul B, azul C y azul A.

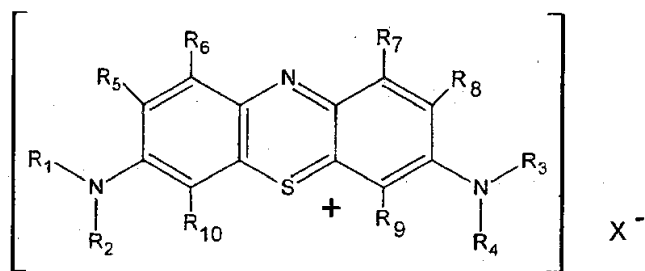
El documento WO 2006/032879 afirma poder alcanzar un porcentaje de impurezas metálicas que representan un 10% del límite máximo fijado por la farmacopea europea, pero como se constata en los ejemplos, este porcentaje no se obtiene simultáneamente para todos los metales y los resultados de las fases de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

La farmacopea europea se modificó recientemente (abril de 2006) en el sentido de un aumento de los límites máximos de tolerancia de las impurezas metálicas, ya que ningún productor de azul de metileno estaba en condiciones de producir, y menos de producir en cantidad industrial, un azul de metileno con una calidad que respondiera a sus anteriores requerimientos.

Por consiguiente, un primer objetivo de la invención consiste en poner a disposición un método de preparación de azul de metileno que permita el acceso a un azul de metileno con una gran pureza, en particular, que contenga muy pocas impurezas metálicas y orgánicas, que sea extrapolable a escala industrial en condiciones económicas satisfactorias, y que no sea propenso a variaciones de calidad. De acuerdo con una modalidad, el método de la invención es un método de purificación del azul de metileno.

El método desarrollado se aplica no solo al azul de metileno, sino también a otros derivados de tipo diaminofenotiacinio.

El método de la invención es un método de preparación de compuestos que responden a la Fórmula (I) que aparece a continuación:



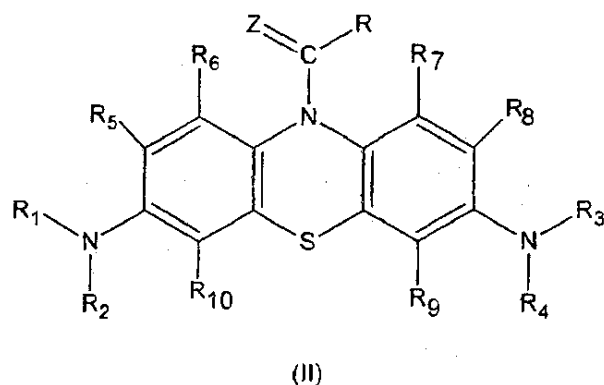
(I)

donde cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ puede seleccionarse independientemente uno de otros, del grupo constituido por:

- un átomo de hidrógeno,
- grupos C₁-C₆-alquilo, lineales ramificados o cíclicos, saturados o no saturados, opcionalmente sustituidos por varias funciones seleccionadas entre un átomo de halógeno, una función C₁-C₆-alcoxi, C₁-C₆-alquilocarbonilo, -CONH₂,
- grupos arilo opcionalmente sustituidos por una o más funciones seleccionadas entre: un C₁-C₄-alquilo, un átomo de halógeno, una función C₁-C₆-alcoxi, C₁-C₆-alquilocarbonilo, -CONH₂,
de donde se entiende que dos grupos R_i (i = 1, 2... 10) colocados sucesivamente en la figura (I) pueden unirse para formar un ciclo. 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 opcionalmente sustituida de tal modo que forme un cuarto ciclo,
además cada uno de R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ pueden seleccionarse, independientemente uno de otros, entre los átomos de halógeno: F, Cl, Br, I,
X⁻ representa un anión orgánico o inorgánico.

Los aniones que se pueden emplear incluyen, por ejemplo, los aniones de los ácidos minerales tales como por ejemplo ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico; los aniones de los ácidos orgánicos tales como por ejemplo, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzoico, e incluyen también OH⁻.

Este método se caracteriza porque comprende al menos una etapa donde un compuesto de la Fórmula (II):



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

- 20
- un grupo fenilo o bencilo, opcionalmente sustituido por uno o más funciones seleccionadas entre: un C₁-C₄-alquilo, un átomo de halógeno, un C₁-C₄-halogenoalquilo, un grupo nitro,
 - un grupo C₁-C₈-alquilo, lineal, ramificado o cíclico,
 - un grupo C₁-C₈-alquilamino,
 - un grupo C₁-C₈-alcoxi,
 - un grupo feniloxi o benciloxi opcionalmente sustituido en el núcleo aromático por una o más funciones seleccionadas entre: un C₁-C₄-alquilo, un átomo de halógeno, un C₁-C₄-halogenoalquilo, un grupo nitro,
- Z representa un átomo seleccionado entre O y S.

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

35 Cuando la purificación se realiza mediante filtración sobre un soporte susceptible de retener los compuestos metálicos, dicha base puede seleccionarse entre: un gel de sílice, un gel de alúmina (neutro, base o ácido), una diatomita opcionalmente modificada, celita, una membrana microporosa, resinas injertadas por grupos captadores de metales y fibras injertadas por grupos captadores de metales, tales como las 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, en particular, 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®.

45 El compuesto de la Fórmula (II) se puede obtener a partir del compuesto de la Fórmula (I), mediante reducción del compuesto de la Fórmula (I) y después mediante reacción de la función amina del ciclo fenotiacinio con un grupo protector apropiado R-CZ-Y donde R y Z tienen la misma definición que anteriormente y Y representa un grupo seleccionado entre: un átomo de halógeno como F, Cl, I, Br, un grupo C₁-C₆-alcoxi, un grupo -OCOR (anhídrido), un grupo hidroxilo, opcionalmente en presencia de un activador del tipo dicitohexilcarbodiimida (DCC). Ventajosamente, R se selecciona entre un grupo fenilo, un grupo toluilo.

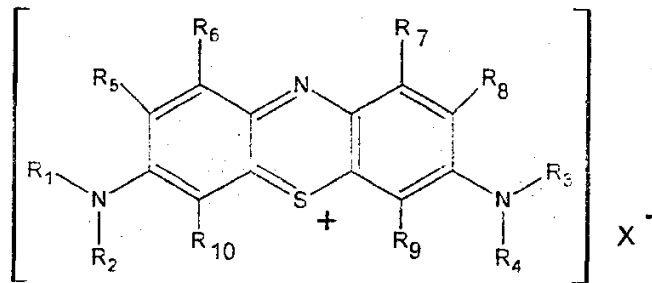
50 Cuando el compuesto de la Fórmula (II) se obtiene a partir del compuesto de la Fórmula (I), el método global es una purificación del compuesto de la Fórmula (I). No obstante, el compuesto de la Fórmula (II) se puede obtener por otros métodos que no utilizan el producto (I) como producto inicial.

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

55 El compuesto representado por la Fórmula (I), se puede representar con varias estructuras que parecen equivalentes. Por ejemplo y de manera no limitante, a continuación se presenta una figura de otras estructuras que son equivalentes a la de la Fórmula (I):

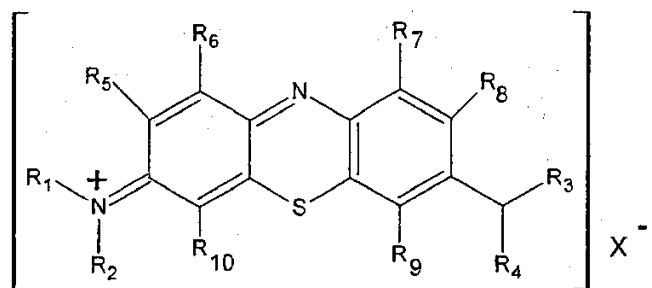
5

10



15

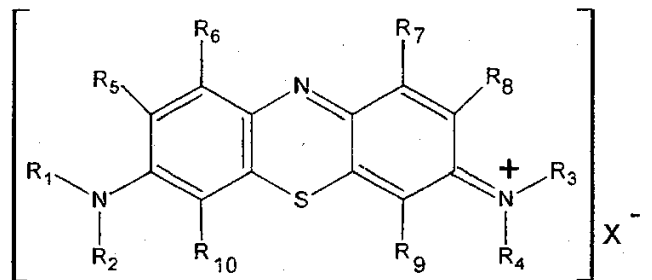
20



25

30

35



40

En la Fórmula (I) y en la Fórmula (II), preferentemente R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, pueden ser idénticos o diferentes y se seleccionan entre un átomo de hidrógeno y un C1-C4-alquilo. Ventajosamente, R₅, R₈, R₉ y R₁₀ representan H.

45

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

- X representa Cl u OH,
- R₁, R₂, R₃, R₄, son idénticos o diferentes y se seleccionan entre un átomo de hidrógeno y metilo,
- R₆ representa un átomo de hidrógeno,
- R₇ representa un átomo de hidrógeno,
- Z representa O.

50

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

55

De acuerdo con otra modalidad, el compuesto de la Fórmula (I) es cloruro de dimetilitionina o azul A, o cloruro de trimetilitionina o azul B, o cloruro de monometilitionina o azul C.

60

De acuerdo con la invención, el método de preparación del compuesto de la Fórmula (I), comprende al menos una etapa de purificación de un compuesto de la Fórmula (II), en particular esta purificación comprende al menos una etapa de filtración de un compuesto de la Fórmula (II) en un soporte susceptible de retener los compuestos metálicos, como un gel de sílice, un gel de alúmina (neutro, base o ácido), una diatomita opcionalmente modificada, una resina funcionalizada por captadores

de metales, fibras funcionalizadas por captadores de metales, celita, una membrana microporosa o cualquier otro soporte capaz de retener los compuestos metálicos.

5 De manera más detallada, de acuerdo con esta modalidad, el compuesto de la Fórmula (II) se disuelve en un solvente apropiado, se prepara un filtro con el soporte de filtración que se introduce en un recipiente apropiado, como una columna de vidrio, un filtro de vidrio sinterizado o una secadora industrial. El recipiente lleno con el soporte de filtración seleccionado se humedece, preferentemente con el mismo solvente en el cual se disuelve el compuesto de la Fórmula (II).

10 La solución que contiene el compuesto de la Fórmula (II) se deposita sobre el filtro, la solución que atraviesa el filtro se recupera, y el filtro se enjuaga varias veces con un solvente idéntico o diferente al que sirve para disolver el compuesto de la Fórmula (II). Las fracciones eluidas se recuperan y opcionalmente se concentran.

15 Entre los solventes que se pueden emplear para disolver los compuestos de la Fórmula (II) se pueden citar preferentemente: solventes clorados, tales como, por ejemplo, diclorometano o cloroformo, alcoholes tales como isopropanol, etanol, metanol o acetonitrilo, acetato de etilo, tetrahidrofurano, o una mezcla de estos solventes.

20 La solución del compuesto de la Fórmula (II) tiene ventajosamente una concentración que oscila entre 1 g/l y 10^3 g/l. Las concentraciones más bajas conducen a utilizar volúmenes de solvente demasiado grandes que tienen consecuencias sobre la seguridad y el tamaño del material. Las concentraciones más altas son poco posibles debido a la solubilidad de los productos.

25 Se prevé utilizar alrededor 0,1 a 10 kg de soporte de filtración por kg de producto a filtrar. Se prevé ventajosamente enjuagar el filtro con 0,1 a 50 l de solvente por kg de producto de la Fórmula (II) hasta la elución total del producto de la Fórmula (II). El método de la invención tiene la ventaja de eliminar las impurezas metálicas del producto de la Fórmula (II).

Si se decide purificar el compuesto de la Fórmula (II) mediante cristalización, ventajosamente se selecciona un solvente entre: un alcohol tal como el etanol, un solvente clorado tal como el cloruro de metileno.

30 De manera ventajosa, la preparación del compuesto de la Fórmula (II) se lleva a cabo a partir del compuesto de la Fórmula (I) que se hace reaccionar con un grupo protector R-CZ-Y donde Y se selecciona ventajosamente entre: F, Cl, Br, I, un grupo C_1 - C_6 -alcoxi, un grupo -OCOR (anhídrido), un grupo hidroxilo, opcionalmente en presencia de un activador del tipo dicitohexilcarbodiimida (DCC).

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

La reacción es exotérmica, y se utilizan preferentemente medios de enfriamiento que permiten mantener la temperatura de la mezcla aproximadamente a la temperatura ambiente.

40 El producto inicial (I) es comercial, o preparado por métodos conocidos, como los descritos en la patente WO 2006/032879.

45 Generalmente, los productos de Fórmula (I) se preparan mediante métodos de síntesis que utilizan derivados metálicos que se encuentran como impurezas en los productos (I). Este es el caso del azul de metileno, y también del azul A, el azul B y el azul C.

Los compuestos de la Fórmula (I) no pueden separarse de sus impurezas metálicas y orgánicas de manera directa, simple y eficaz. Los métodos utilizados en la técnica precedente recurren a recristalizaciones sucesivas que no tienen rendimientos satisfactorios y que conducen a productos cuyo porcentaje de impurezas residuales es difícil de controlar.

50 Por otro lado, los productos de la Fórmula (I) tienen la propiedad de quelar los metales mientras los productos (II) no se quelatan. Por consiguiente, su purificación es mucho más eficaz que la purificación directa de los compuestos de la Fórmula (I).

55 En las distintas etapas del método de la invención, se prevé el uso de materiales no metálicos, reactivos y solventes desprovistos de residuos metálicos para no introducir contaminación externa.

60 Una vez que se haya purificado el producto de la Fórmula (II), en particular sometido a una filtración, de acuerdo con el método de la invención, se procede, ventajosamente, a una etapa de desprotección de la amina del ciclo fenotiacina del compuesto de la Fórmula (II). Esta desprotección se lleva a cabo utilizando cualquier medio conocido por los especialistas, evitando la introducción de contaminantes metálicos y en condiciones que eviten la degradación del compuesto de la

5 Fórmula (I). Entre los medios que se pueden emplear para la desprotección del grupo R-CZ- se pueden citar: quinonas, tales como, por ejemplo, 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), HNO₃, HClO₄, I₂, HCl, H₂SO₄, H₂O₂, un tratamiento con radiaciones ultravioletas. Preferentemente, para esta etapa se utiliza una quinona, y de manera muy preferida 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona. De manera ventajosa, esta reacción de desprotección se lleva a cabo en un solvente seleccionado entre: acetato de etilo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, acetona. El solvente preferido para esta etapa es acetonitrilo.

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

15 En función del medio de desprotección empleado, podría ser necesario hacer un intercambio de iones para obtener el compuesto de la Fórmula (I) que contiene el anión X⁻ deseado. Preferentemente, este intercambio de iones se realiza mediante tratamiento con HCl, ventajosamente en acetato de etilo. Podrían usarse otros solventes, pero algunos pueden conducir a la formación de productos secundarios.

20 Las condiciones de desprotección de los compuestos de la Fórmula (II) antes mencionadas son especialmente ventajosas debido a que permiten obtener un compuesto de la Fórmula (I) sin introducir durante esta etapa impurezas metálicas o formar impurezas orgánicas. De acuerdo con una modalidad de la invención, se puede prever purificar el compuesto de la Fórmula (II) con otros medios de filtración que no sean una base susceptible de retener los metales, como, por ejemplo, mediante cristalización en un solvente apropiado. De acuerdo con esta modalidad, a continuación el compuesto de la Fórmula (II) se desprotege con ayuda de cualquier medio de desprotección que no comprenda la utilización de compuestos metálicos, en particular con ayuda de una quinona, en particular DDQ, preferentemente en las condiciones antes mencionadas.

25 Por tanto, otro objetivo de la invención es un método de preparación de compuestos que responden a la Fórmula (I) antes mencionada, caracterizado porque comprende al menos una etapa de desprotección del grupo R-CZ- de la amina del ciclo fenotiacina del compuesto de la Fórmula (II) con ayuda de medios de desprotección que no comprenden el uso de compuestos metálicos.

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

35 Entre los medios que se pueden usar para la desprotección del grupo R-CZ- se pueden citar: las quinonas, como, por ejemplo, 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), HNO₃, HClO₄, I₂, HCl, H₂SO₄, H₂O₂, un tratamiento con radiaciones ultravioletas. Preferentemente, para esta etapa se utiliza una quinona, y de manera muy preferida 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona. Ventajosamente se emplean las condiciones de aplicación del DDQ mencionadas anteriormente.

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

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

50 En particular, el método de preparación o 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 método de la invención da acceso a un azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina que tiene un porcentaje de pureza superior al 97%, preferentemente superior al 98%, y con mayor preferencia superior al 99%, medido por HPLC (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 método de la invención da acceso a un azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina que tiene un porcentaje de pureza superior al 97%, preferentemente superior al 98%, aún mejor superior al 99%, medida por CLHP en las condiciones de la farmacopea europea 5.4 (edición de abril de 2006) y contiene menos de 0,5 µg/g de estaño por g de azul de metileno.

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

10 El método de la invención es el único que permite acceder, en cantidades industriales, a un azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina que contiene menos de 3% de impurezas, preferentemente menos de 2%, aún mejor menos de 1%, medido por CLHP en las condiciones de la farmacopea europea 5.4 (edición de abril de 2006) y un porcentaje de impurezas metálicas inferior a 20 µg/g, ventajosamente inferior a 15 µg/g, aún más ventajosamente inferior a 10 µg/g.

15 La solicitud describe un compuesto de la Fórmula (I), con exclusión del azul de metileno o cloruro de tetrametilitionina y que contiene un porcentaje total de impurezas metálicas 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 más de las siguientes condiciones:

- pureza superior al 97%, preferentemente superior al 98%, aún mejor superior al 99%, medida por HPLC en las condiciones de la farmacopea europea 5.4 (edición de abril de 2006)
- porcentaje de aluminio inferior a 5 µg/g, ventajosamente inferior a 4 µg/g, aún más ventajosamente inferior a 3 µg/g,
- porcentaje de cadmio inferior a 0,1 µg/g, ventajosamente inferior a 0,05 µg/g, aún mejor inferior a 0,02 µg/g,
- porcentaje 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.

25 El azul de metileno se usa desde hace décadas en el tratamiento de distintas infecciones. Se utiliza como agente antiséptico, antiinfeccioso, como antídoto y como agente de diagnóstico. Recientemente, se dio a conocer su actividad antiviral, y se podría usar en la preparación de un medicamento destinado a luchar contra una patología tal como una infección, en particular, un choque séptico, la presencia de contaminantes patogénicos en la sangre o el plasma, una reacción hemodinámica excesiva, una infección por VIH, virus del Nilo, virus de la hepatitis C, enfermedad de Alzheimer, malaria, cáncer de mama, trastornos maniaco-depresivos.

Finalmente también se podría usar en cosmético o para productos destinados a una aplicación oftálmica.

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

40 La solicitud describe un medicamento que incluye un azul de metileno de la invención, en un soporte farmacéuticamente aceptable.

El soporte y las cantidades de azul de metileno a administrar son bien conocidas por los especialistas.

45 Además, la invención tiene como objetivo un método de preparación de un medicamento que contiene un compuesto de la Fórmula (I), caracterizado porque este método comprende al menos una etapa del método como la que se menciona anteriormente, en particular una etapa de purificación del compuesto de la Fórmula (I) y/o una etapa de desprotección del compuesto (II) en (I).

Parte experimental

50 Se purifica un azul de metileno comercial de acuerdo con el método de la figura 1.

1. Síntesis del azul de metileno leuco benzoilo (Etapa A)

55 En un reactor revestido de 120 L provisto de una agitación y bajo nitrógeno se introduce:

- 80 L de agua destilada,
- 4,2 kg (10,7 moles) de azul de metileno comercializado por la sociedad LEANCARE LTD bajo la referencia CI 52015, que contiene grandes cantidades de impurezas metálicas (Al, Fe, Cu, Cr).

60

Se agitan durante 15 minutos y luego se añaden 6,9 kg de hidrosulfito de sodio Na_2SO_4 en solución acuosa al 85%. La coloración cambia de azul a beige. Se continúa agitando durante otros 45 minutos, luego se añaden 2,69 kg de soda en forma de bolitas. La temperatura de la reacción se mantiene entre 18 y 20 °C. La adición dura 30 minutos y se mantienen la agitación durante otros 30 minutos. A continuación se añaden gota a gota 7,90 L de cloruro de benzoilo. La mezcla de reacción toma una coloración verde-beige. La adición dura 2 horas y a continuación se continúa agitando durante 20 horas.

Tratamiento:

Una vez que se detenga la agitación, se deja decantar 15 minutos y se aspira el sobrenadante. Se añaden 80 L de agua (25 volúmenes) y luego de agitarla y decantarla, se aspira de nuevo el sobrenadante. Se añaden 24 L de EtOH y después de agitar durante aproximadamente 5 minutos se añaden 16 L de agua. Luego de agitarla durante 15 minutos, la mezcla se filtra sobre el medio. Esta operación se repite 3 veces. Después de secado se obtienen 2,9 kg (IDT: 66%) de azul de metileno leuco benzoilo.

2. Purificación

Se usan 4,25 kg de azul de metileno leuco benzoilo provenientes de la primera etapa, diluidos en 30 L de CH_2Cl_2 . Se filtra sobre 3 partes de sílice (Merck Gerudan Si60) (11,5 kg) y 0,5 kg de arena de Fontainebleau, se enjuaga con 30 litros de CH_2Cl_2 . Se elimina el CH_2Cl_2 mediante evaporación al vacío. Se añaden 6 L de etanol. Se agita en frío, luego se filtra sobre el medio. Se seca al vacío. Se obtienen 3,4 kg de azul de metileno leuco benzoilo purificado (IDT: 80%).
Pureza: + 99% CLHP

Metales: en la Tabla 1 se muestra el contenido en metales (en $\mu\text{g/g}$) para 3 ensayos.

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. Eliminación del benzoilo

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

- 45 L de acetonitrilo (ACN)
- 1,6 kg del azul de metileno leuco benzoilo de la segunda etapa y se agita. Se agita durante 30 minutos a temperatura ambiente, luego se baja la temperatura a -18 °C. Se añaden en una porción 950 g de DDQ diluidos en 4 L de ACN. Se agita durante 2 horas a -18 °C. Se filtra. Se obtiene un complejo de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiacina con DDQ que se utiliza directamente en la etapa siguiente.

4. Salificación

En el reactor revestido esmaltado, se reintroduce la torta resultante de la tercera etapa en varios pedazos. Se añaden 4 L de AcOEt. Se hace girar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se baja la temperatura a -18 °C. Se añaden 2,5 kg de

HCl en 16 L de AcOEt (solución 4N). Se agita durante 2 horas a -18 °C. Se filtra y luego se reintroduce la torta en el reactor. Se añaden 30 L de AcOEt a -18 °C y se filtra de nuevo.

5. Neutralización

5

Se añaden 30 L de acetona, luego una solución de 200 g de NaH diluidos en 500 ml de agua. Se filtra. Se introduce el producto resultante de la cuarta etapa en el reactor con 30 L de acetona. Se agita el medio durante 1 hora a temperatura ambiente. El pH es de 4,0. Se filtra. Se deja al vacío sobre el medio.

10 6. Purificación e hidratación

En un reactor esmaltado de 40 L bajo N₂, a temperatura ambiente, se introdujeron 1,9 kg del producto de la quinta etapa y 30 L de la mezcla 50/50 de CH₂Cl₂/EtOH. Se calienta al 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 solvente (3 horas). El medio se vuelve a colocar en el reactor. Se añade 1 L de agua microfiltrada. Se enfría a -18 °C. Se añaden 40 L de AcOEt y se agita durante la noche en frío. Se filtra. Se une con 10 L de AcOEt. Se obtienen 1,4 kg de azul de metileno purificado en forma trihidratada.

15

En la Tabla 2, se analizan y se reportan las impurezas metálicas.

20

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

30

35

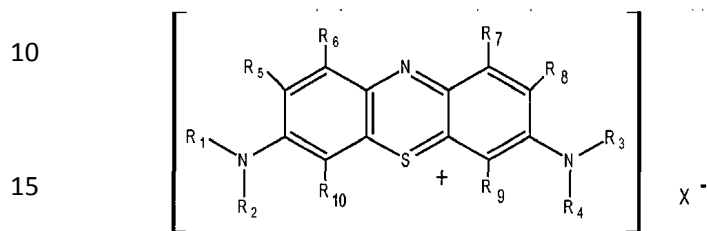
40

Tabla 2

45

Reivindicaciones

5 1. Método para la preparación de un compuesto que responde a la Fórmula (I) que aparece a continuación:



(I)

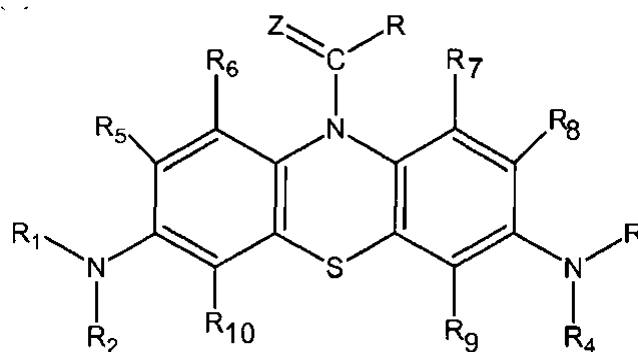
20 donde cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ puede seleccionarse, independientemente uno del otro, del grupo constituido por:

- 25
- un átomo de hidrógeno,
 - grupos C₁-C₆-alquilo, lineales ramificados o cíclicos, saturados o no saturados, opcionalmente sustituidos por varias funciones seleccionadas entre un átomo de halógeno, una función C₁-C₆-alcoxi, C₁-C₆-alquiloxicarbonilo, -CONH₂,
 - grupos arilo opcionalmente sustituidos por uno o más funciones seleccionadas entre: un C₁-C₄-alquilo, un átomo de halógeno, una función C₁-C₆-alcoxi, C₁-C₆-alquiloxicarbonilo, -CONH₂,

30 además cada uno de R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, pueden seleccionarse independientemente uno de otros, entre los átomos de halógeno: F, CL, Br, I,

X⁻ representa un anión orgánico o inorgánico,

caracterizado porque comprende al menos una etapa donde un compuesto de la Fórmula (II) :



55 en el que R representa un grupo seleccionado entre:

- un grupo fenilo o bencilo, opcionalmente sustituido por uno o más funciones seleccionadas entre: un C₁-C₄-alquilo, un átomo de halógeno, un C₁-C₄-halogenoalquilo, un grupo nitro,
- un grupo C₁-C₈-alquilo, lineal, ramificado o cíclico,
- un grupo C₁-C₈-alquilamino,
- un grupo C₁-C₈-alcoxi,
- un grupo feniloxi o benciloxi opcionalmente sustituido sobre el núcleo aromático por uno o más funciones seleccionadas entre: un C₁-C₄-alquilo, un átomo de halógeno, un C₁-C₄-halogenoalquilo, un grupo nitro,

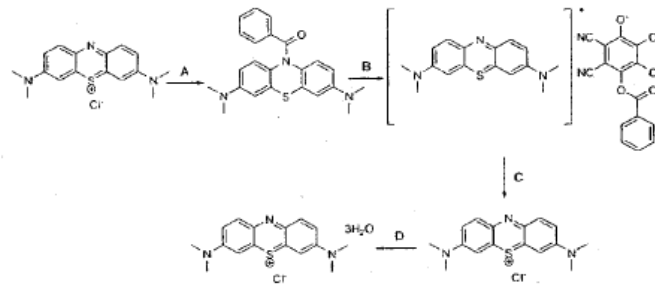
Z representa un átomo seleccionado entre O y S,

se somete a una etapa de purificación en condiciones que permiten separar compuestos metálicos de los compuestos de la Fórmula (II). Esta etapa comprende al menos una filtración en una base de filtración elegida entre: un gel de sílice, un gel de alúmina neutro, base o ácido, una membrana microporosa, una resina incorporada por grupos captadores de metales, fibras incorporadas por grupos captadores de metales.

- 5
2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, son idénticos o diferentes y se seleccionan entre el átomo de hidrógeno y un C₁-C₄-alquilo.
- 10
3. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual se verifican una o varias de las condiciones siguientes:
- R₅, R₈, R₉ y R₁₀ representan H.
 - X representa Cl u OH,
 - R₁, R₂, R₃, R₄, son idénticos o diferentes y se seleccionan entre un átomo de hidrógeno y metilo,
 - R₆ representa un átomo de hidrógeno,
 - R₇ representa un átomo de hidrógeno
 - Z representa O.
- 15
4. Método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el compuesto de la Fórmula (I) es cloruro de tetrametiltionina o azul de metileno.
- 20
5. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el cual el compuesto de la Fórmula (I) se selecciona entre:
- 25
- cloruro de dimetiltionina o azul A,
 - cloruro de trimetiltionina o azul B,
 - cloruro de monometiltionina o azul C.
- 30
6. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual para la filtración, el compuesto de la Fórmula (II) se disuelve en un solvente seleccionado entre los solventes clorados, como diclorometano o cloroformo, los alcoholes como etanol, isopropanol, metanol, acetonitrilo, acetato de etilo, tetrahidrofurano, o una mezcla de estos solventes.
- 35
7. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el cual el soporte de filtración se selecciona entre: un gel de sílice.
- 40
8. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además una etapa de desprotección de la amina del ciclo fenotiacina del compuesto de la Fórmula (II) con ayuda de un medio seleccionado entre: las quinonas, como la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona, HNO₃, HClO₄, I₂, HCl, H₂SO₄, H₂O₂, un tratamiento con radiaciones ultravioletas.
- 45
9. Método de acuerdo con la reivindicación 8, en el cual la desprotección se realiza por la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona.
- 50
10. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 y 9, caracterizado porque comprende además una etapa de intercambio de iones, mediante tratamiento con HCl
11. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual se obtiene un azul de metileno (cloruro de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiacina-5-ium) que comprende menos de 3% de impurezas y una tasa de impurezas metálicas inferior a 20 µg/g.
- 55
12. Método de acuerdo con la reivindicación 11, en el cual se obtiene un azul de metileno que contiene menos de 3% de impurezas y una tasa de impurezas metálicas inferior a 15 µg/g, ventajosamente inferior a 10 µg/g.
13. Método para la preparación de un medicamento que comprende un compuesto de la Fórmula (I) tal como se define en la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de la Fórmula (I) se prepara mediante un método que comprende al menos una etapa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

14. Método de acuerdo con la reivindicación 13, en el cual el compuesto de la Fórmula (I) es azul de metileno.

Esquema sintético del azul de metileno



- A. $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$, NaOH, cloruro de benzoilo
- B. DDQ/ CH_3CN
- C. Intercambio de iones NaOH/ H_2O pH 4
- D. Hidratación (H_2O)

Figura 1