

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 575**

51 Int. Cl.:

C07D 311/82 (2006.01)

C07D 493/10 (2006.01)

A61K 31/35 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2010 E 10817918 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.09.2015 EP 2464225**

54 Título: **Procedimiento para la síntesis de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Rosa de Bengala) y xantenos relacionados**

30 Prioridad:

18.09.2009 US 243701 P

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

19.10.2015

73 Titular/es:

**PROVECTUS PHARMATECH, INC. (100.0%)
7327 Oak Ridge Highway
Knoxville, TN 37931, US**

72 Inventor/es:

**SINGER, JAMIE;
WACHTER, ERIC A.;
SCOTT, TIMOTHY C.;
LUTZ, MARLON y
BABIAK, KEVIN**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 548 575 T3

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

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la síntesis de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5'7'-tetrayodo-3H-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Rosa de Bengala) y xantenos relacionados

Referencia cruzada a solicitud relacionada

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional con el Núm. de serie 61/243.701 presentada el 18 de Septiembre de 2009.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a métodos de preparación o síntesis y aislamiento de Rosa de Bengala altamente purificado, lactona de Rosa de Bengala y xantenos relacionados, y también se refiere a Rosa de Bengala altamente purificado, lactona de Rosa de Bengala y xantenos relacionados. Un aspecto de la presente invención se refiere a procedimientos sintéticos para preparar derivados de fluoresceína yodados que contienen a lo sumo 2% en peso, y preferiblemente menos de 0,15% en peso, de impurezas orgánicas individuales. El control de impurezas al nivel de 0,15% o 1500 ppm o menor es relevante para la utilidad farmacéutica ya que éste representa el umbral de la clasificación para el cumplimiento de las directrices de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH). Por lo tanto, otro aspecto de esta invención se refiere a la utilidad farmacéutica y a la identificación de los nuevos compuestos que se describen la presente memoria, para lo cual la síntesis anterior se ha diseñado específicamente para controlar su formación.

Antecedentes de la invención

Se cree que el motivo estructural de la fluoresceína y una etapa de ciclación de anhídrido ftálico y resorcinol fueron descritos por primera vez en 1871 por Baeyer (Berichte. 1871: 4, 555). Se cree que Graebe (Annalen. 1887: 18, 318) fue el primero en utilizar el anhídrido ftálico halogenado como sustrato en la ciclación señalando en su informe el uso de un exceso de anhídrido (1,3 equivalentes) con respecto al resorcinol. La yodación de diclorofluoresceína apareció en la literatura en 1887 con un informe de Le Royer (Annalen. 1887: 238, 359). En el siglo XX, surgieron varios usos para los análogos de fluoresceína. Los compuestos se han utilizado como colorantes textiles, tintes biológicos, elementos fundamentales para dispositivos de memoria no volátiles, sustratos para formación de imágenes térmicas y colorantes para alimentos y cosméticos. Por ejemplo, la eritrosina (FD&C Núm. 3) y la eritrosina parcialmente yodada (D&C. Núms. 11 y 12) se utilizan como alimentos, fármacos y tintes cosméticos. Un tetrayodo-xanteno en particular, Rosa de Bengala, se ha utilizado para la visualización de enfermedades oculares y, en forma radiomarcada, como un diagnóstico médico para la función hepática, que aparece en la Farmacopea de Estados Unidos en 1965.

La ciclación, sin embargo, para crear el núcleo xanteno de Rosa de Bengala no ha mejorado sustancialmente desde la tecnología de 1880 (masas fundidas a alta temperatura en calderos abiertos), a pesar de que el interés en la síntesis de los análogos no halogenados y la elaboración del motivo de fluoresceína es considerable. Los métodos sintéticos conocidos producen una gama de impurezas impredecibles y escasamente caracterizadas incluyendo disolventes residuales, compuestos inorgánicos y compuestos orgánicos derivados de las reacciones secundarias o procedimientos de degradación. Para muchos usos históricos en aplicaciones industriales, colorantes alimentarios o de diagnóstico, estas impurezas son permisibles. Por ejemplo, el Código de los Estados Unidos de Regulaciones Federales (CFR), permite un nivel de impureza de FD&C Núm. 3 (eritrosina) de no más de 1% de impurezas monoyodadas y no más de 9% de otras fluoresceínas yodadas inferiores. El CFR también permite impurezas residuales procedentes de la etapa de ciclación, tales como ácidos ftálico y resorcinol parcialmente yodados (por ejemplo, véanse: Kamikura, Shokuhin Eiseigaku Zasshi 1985: 26, 243 y Wada et al., Food. Add. Contam. 2004: 21, 1137).

Tales especificaciones históricas para el agente colorante son muy diferentes de las directrices modernas de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) para una nueva sustancia farmacológica, que requiere la presentación de informes de impurezas de 0,05% o mayores, la identificación completa de todas las impurezas orgánicas presentes a niveles de 0,1% o mayores, y la completa calificación toxicológica de las impurezas de más de 0,15% y proporcionan adicionalmente límites a las impurezas inorgánicas y límites especialmente estrictos a los disolventes residuales. Por lo tanto, cuando se introduce esta clase de compuestos en el organismo a dosis terapéuticas, la necesidad de tener una síntesis predecible y reproducible bien controlada se convierte en una prioridad. La generación impredecible de múltiples impurezas durante las etapas de síntesis o en la purificación no es una opción para su inclusión en tal especificación, especialmente con una formulación del producto farmacológico parenteral potencial.

Para preparar Rosa de Bengala de grado reactivo, la XXII Farmacopea de los Estados Unidos recomienda el uso de HCl para purificar Rosa de Bengala a través de una manipulación ácido/base. Los autores de la presente invención han encontrado que, sorprendentemente, cuando están presentes oxidantes como el peróxido de hidrógeno o la

oxona, el tratamiento de fluoresceínas yodadas con reactivos que contienen o pueden generar iones cloruro acuosos provoca una reacción secundaria donde uno o más de los sustituyentes pueden ser transhalogenados a Cl. Esto también puede ocurrir cuando están presentes radicales cloruro libres, ion hipoclorito o ácido hipocloroso. Esta reacción secundaria durante la preparación de Rosa de Bengala no ha sido descrita anteriormente y la etapa de ciclación, la etapa de yodación y cualquier esquema de purificación deben ser cuidadosamente controlados para prevenir esta reacción secundaria no deseable.

Si bien los análogos de fluoresceína yodados se han descrito anteriormente y a menudo recitan genéricamente la palabra "halógeno", ninguna de estas descripciones anteriores aparece para permitir la síntesis de fluoresceínas sustituidas con yodo-xanteno directamente a partir de yodo-resorcinoles. Además, ninguna de las descripciones anteriores parece requerir que esté presente al menos un yodo en la molécula, y ninguna reivindica una aplicabilidad farmacéutica de estos compuestos que es sin duda dependiente de yodo. El uso predominante de fluoresceínas con fines no terapéuticos ha dado como resultado una escasez de información con respecto a la descripción y la reducción a la práctica de los métodos requeridos para la preparación de ingredientes farmacéuticos activos de alta pureza en esta clase de compuestos, así como métodos para la identificación, caracterización y síntesis de subproductos minoritarios que pueden tener utilidad como agentes terapéuticos humanos o como colorantes. Los xantenos yodados han sido genéricamente incluidos como realizaciones en varias descripciones, y el Rosa de Bengala es un compuesto conocido descrito por primera vez en la década de 1880. Ninguna de estas referencias, sin embargo, ha descrito el aislamiento o la identificación, ni descrito ni indicado la posibilidad de la existencia, de los productos minoritarios transhalogenados compuestos de al menos un I y al menos un sustituyente Cl sobre el núcleo de xanteno. Los autores de la presente invención han descubierto que estos productos pueden existir en hasta 2% en peso en muestras comerciales de Rosa de Bengala. Además, las referencias anteriores aluden a la reducción de los contaminantes de xanteno yodados (por ejemplo, no está permitido más de 9% para la certificación de un colorante de eritrosina en el presente CFR 74.303), pero ninguna de estas referencias ha propuesto una estructura o un nombre para las versiones triyodadas que pueden estar sustituidas con hidrógeno, ya sea en la posición 2' o 4' o sus correspondientes atropisómeros (véanse las Figuras 1q y 1r más abajo y remitirse a la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.649.769 para una discusión de atropisomerismo en esta estructura). Las referencias anteriores tampoco ilustran o sugieren el aislamiento o permiten la síntesis de sustituciones de I/Cl independientes sobre el núcleo de xanteno. La presente invención identifica, caracteriza y establece métodos para controlar eficazmente la síntesis de estos subproductos para cumplir con los estándares requeridos para la utilidad en aplicaciones farmacéuticas. Además, el procedimiento de la presente invención evita la formación no deseable de estos subproductos, evita la necesidad de utilizar múltiples disolventes y establece un estricto control de los reactivos, todos los cuales mejoran la manipulación, el rendimiento, la pureza y la aplicabilidad del procedimiento para uso farmacéutico.

La solicitud de patente PCT publicada WO 02/05812 describe un medicamento para el tratamiento quimioterapéutico de la enfermedad. La referencia se refiere en particular a una xantina halogenada tal como Rosa de Bengala para su uso en el tratamiento de enfermedades y en la quimioterapia particular.

En Tetrahedron, vol. 41, núm. 11, 1 de Enero de 1985, páginas 2183 a 2190, J Lambert *et al* comentan derivados de Rosa de Bengala como sensibilizadores de oxígeno singlete. Se estudia la relación entre las propiedades estructurales y fotofísicas.

En J. Am. Chem. Soc., Vol. 106, núm. 20, 1 de enero de 1984, J. Lambert *et al* comentan derivados de Rosa de Bengala novedosos y su síntesis. Se comenta el equilibrio entre las formas quinoides y lactónicas de los compuestos.

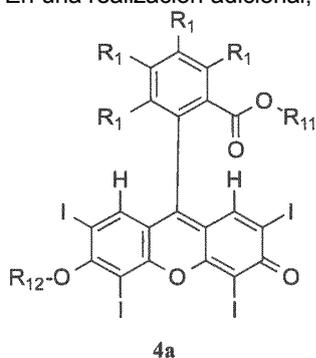
La solicitud PCT publicada WO2008/003954 describe agentes de diagnóstico por imágenes con colorante incluyendo Rosa de Bengala. El documento proporciona agentes de diagnóstico por imágenes específicos y comenta métodos de fabricación.

Compendio de la invención

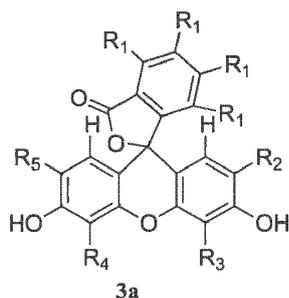
La presente invención se refiere a materiales y métodos para controlar el nivel de impurezas en xantenos yodados de **Fórmula 4a** fabricados para uso farmacéutico, los procedimientos para la fabricación de estos compuestos de xanteno yodados, y la descripción de impurezas transhalogenadas relacionadas pero previamente no previstas. La presente invención también se refiere a materiales y métodos para preparar los mismos y, en particular procedimientos para la preparación eritrosina (FD&C 3), Rosa de Bengala, y otros xantenos yodados relacionados con una pureza adecuada para uso farmacéutico. En una realización, este procedimiento sólo emplea un único disolvente orgánico, baja temperatura (menos de 100°C) y requiere el uso de aditivos y modificadores muy limitados y selectos para evitar la formación de impurezas. La evitación de la formación de impurezas transhalogenadas se puede llevar a cabo, por ejemplo, mediante la limitación del ión cloruro a menos de 1500 ppm en las mezclas de reacción, y especialmente en las mezclas de reacción durante la etapa de yodación. No se requieren etapas de extracción, cromatográficas o de concentración de disolvente, y los compuestos intermedios, así como los finales, se

pueden aislar mediante filtración o medios similares. La presente invención también se refiere a análogos específicos y nuevos compuestos, en particular los que se pueden elaborar o son evitados mediante el método descrito anteriormente. Estos compuestos se han aislado e identificado, y están adaptados para uso farmacéutico, medicinal, cosmético y colorante.

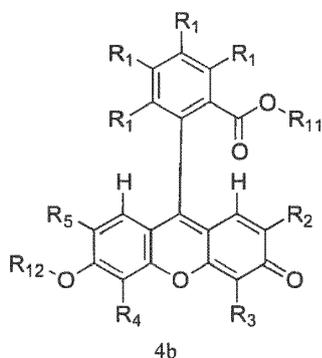
5 En una realización adicional, se proporciona un procedimiento para la producción de un compuesto de Fórmula 4a:



10 en donde R₁ es independientemente Cl o Br; R₁₁ y R₁₂ son independientemente H, Na, K, Li, o un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable, que comprende combinar un compuesto de Fórmula 3a, o un isómero quinoide del mismo en donde compuesto de Fórmula 3a, o el isómero quinoide del mismo, están sustancialmente libres de impurezas de iones cloruro e impurezas productoras de iones cloruro,



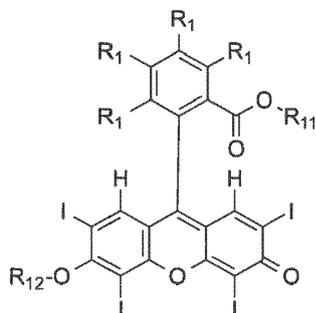
15 en donde R₁ es independientemente Cl o Br; R₂, R₃, R₄ y R₅ son H; cuyo método se lleva a cabo con al menos aproximadamente 4 equivalentes de yodo, en una solución sustancialmente libre de iones cloruro y sustancialmente libre de impurezas productoras de iones cloruro para formar el compuesto de Fórmula 4a caracterizado porque
 20 sustancialmente no hay formación de derivados transhalogenados del compuesto de fórmula 4b, en donde para las impurezas transhalogenadas del compuesto de Fórmula 4b, R₁ es independientemente Cl o Br; al menos uno de R₂, R₃, R₄ y R₅ es Cl y el resto son I; R₁₁ y R₁₂ son independientemente H, Na, K, Li, o un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable.



25 Los compuestos de Fórmula 3, que se describen en la presente memoria tienen propiedades útiles en las industrias farmacéutica, medicinal, cosmética y de colorantes.

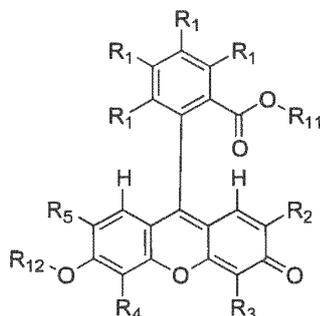
30 Los compuestos de **Fórmula 3**, los métodos para su producción, los medicamentos y usos definidos de este modo en la presente memoria deberá incluir todas las formas de este tipo de compuestos que han sido saponificados o se

han hecho reaccionar de otra manera para convertir dichos compuestos de su forma de lactona (**Fórmula 3**) a su forma quinoide, (**Fórmula 4a**), donde R₁₁ y R₁₂ son independientemente H o Na, K, Li u otro contraión capaz de formar una sal.



5 **FORMULA 4a**

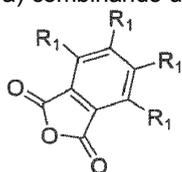
En una realización adicional, la presente invención se refiere a un método para la preparación de un compuesto de **Fórmula 4a** en donde R₁ es independientemente Cl o Br y R₁₁ y R₁₂ son independientemente H o Na, K, Li o u otro contraión capaz de formar una sal. La combinación de un compuesto de **Fórmula 3a** en el que R₁ es independientemente Cl o Br, y R₂, R₃, R₄ y R₅ son H, con yoduro en una solución sustancialmente libre de iones cloruro para formar un compuesto de **Fórmula 4a** en el que R₁ es independientemente Cl o Br, y R₁₁ y R₁₂ son independientemente H o Na, K, Li o u otro contraión capaz de formar una sal, proporciona una mejora sustancial respecto a los métodos anteriores para la preparación de un compuesto de **Fórmula 4a**, comprendiendo la mejora un inexistencia sustancial de derivados transhalogenados del compuesto de **Fórmula 4b** donde R₁ es independientemente Cl o Br, al menos uno de R₂, R₃, R₄ y R₅ es Cl y cualquiera de R₂, R₃, R₄ y R₅ que no sea Cl es I y R₁₁ y R₁₂ son independientemente H o Na, K, Li o u otro contraión capaz de formar una sal.



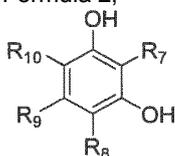
4b

20 En una realización adicional, la presente invención se refiere a un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 para la preparación de un compuesto de Fórmula 4a:

a) combinando un compuesto de Fórmula 1,

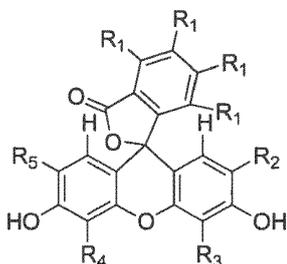


25 en donde R₁ es independientemente Cl o Br, con aproximadamente dos equivalentes de un compuesto de Fórmula 2,



2

en donde R_7 , R_8 , R_9 y R_{10} son H, en una solución ácida a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 20°C a aproximadamente 250°C para formar un compuesto de Fórmula 3a; aislando el compuesto intermedio de Fórmula 3a,



5

3a

en donde R_1 es independientemente Cl o Br y R_2 , R_3 , R_4 , R_5 y R_6 son H;

10 b) combinando el compuesto intermedio de Fórmula 3a con aproximadamente 4 equivalentes de yodo en una solución sustancialmente libre de iones cloruro y sustancialmente libre de impurezas productoras de iones cloruro a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 20°C a aproximadamente 100°C para formar el compuesto de Fórmula 3;

c) añadiendo un captador de yodo al compuesto de Fórmula 3;

d) acidulando el compuesto de Fórmula 3 a un pH de menos de aproximadamente 5 y enfriando a una temperatura de menos de aproximadamente 10°C;

15 e) aislando el compuesto de Fórmula 3 sustancialmente libre de impurezas transhalogenadas en donde R_1 es independientemente Cl o Br, al menos uno de R_2 , R_3 , R_4 y R_5 es Cl y el resto son I, y R_6 es H; y

f) convirtiendo el compuesto de fórmula 3 en un compuesto de **Fórmula 4a** sustancialmente libre de impurezas transhalogenadas de Fórmula 4b, en donde R_1 es independientemente Cl o Br; al menos uno de R_2 , R_3 , R_4 y R_5 es Cl y el resto son I; y R_{11} y R_{12} son independientemente H, Na, K, Li, o un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable.

20

Se prefiere adicionalmente en el método anterior para la preparación de un compuesto de **Fórmula 4a** que la solución ácida de la Etapa 1 en la que se combinan los compuestos de **Formula 1** y **Fórmula 2** esté libre o sustancialmente libre de iones cloruro y libre o sustancialmente libre de reactivos que puedan producir iones cloruro en la mezcla de reacción.

25

También se prefiere adicionalmente en el método anterior para la preparación de un compuesto de **Fórmula 4a** que el intermedio de **Fórmula 3a** en la etapa 2 esté libre o sustancialmente libre de iones cloruro y libre o sustancialmente libre de reactivos u otras impurezas que puedan producir iones cloruro en la mezcla de reacción.

30

También se prefiere adicionalmente en el método anterior para la preparación de un compuesto de **Fórmula 4a** que la solución en la que se combinan el compuesto intermedio de **Fórmula 3a** y el yodo tenga un pH alcalino.

35 En una variación en el método anterior para la preparación de un compuesto de **Fórmula 4a**, la Etapa 1 del método para la preparación de un compuesto de **Fórmula 4a** puede comprender la combinación de un compuesto de **Formula 1** con menos de dos equivalentes de un compuesto de **Fórmula 2**. Esta realización es menos preferida ya que el rendimiento de la **Fórmula 3** será un rendimiento más bajo que el proporcionado utilizando la estequiometría de la realización preferida.

40 Se prefiere en el método anterior para la preparación de un compuesto de **Fórmula 4a** que la solución acuosa de la Etapa (b) en la que se combinan el intermedio de Fórmula 3a y yodo tenga un pH alcalino.

Se prefiere adicionalmente que la mezcla de la Etapa (b) continúe durante un tiempo suficiente de manera que la conversión a la **Fórmula 3** sea completa en al menos 90%, y más preferiblemente al menos 95%, y más preferiblemente al menos 98%, estando generalmente este tiempo en el intervalo de aproximadamente 1 a 24 horas, y más preferiblemente de aproximadamente 2 a 18 horas.

45

En otra realización, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un compuesto de **Fórmula 4b** en donde R_1 es independientemente F, Cl, Br, I, H o alquilo C_1 - C_4 ; R_2 , R_3 , R_4 y R_5 son independientemente Cl, H o I, siendo I al menos un sustituyente seleccionado entre R_2 , R_3 , R_4 , R_5 y siendo Cl o H al menos otro sustituyente; y R_6 es independientemente H o alquilo C_1 - C_4 ; y todos los (a) formas tautoméricas, (b) atropisómeros, (c) formas de lactona cerradas como se representa en **Fórmula 3**, (d) enantiómeros de las formas de lactona representados en la **Fórmula 3**, y (e) sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

50

Breve descripción de los dibujos

La **Figura 1a** es una ilustración de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetracloro-2',4',5',7'-tetrayodofluoresceína o lactona de Rosa de Bengala;

La **FIGURA 1b** es una ilustración de 4,5,6,7-tetrabromo-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetrabromo-2',4',5',7'-tetrayodofluoresceína;

La **Figura 1c** es una ilustración de 2',4,5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-4',5',7'-triyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',4,5,6,7-pentacloro-4',5',7'-triyodofluoresceína;

La **FIGURA 1d** es una ilustración de 4,4',5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-2',5',7'-triyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,4',5,6,7-pentacloro-2',5',7'-triyodofluoresceína;

La **FIGURA 1e** es una ilustración de 2',4,5,6,7,7'-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',5'-diyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',4,5,6,7,7'-hexacloro-4',5'-diyodofluoresceína;

La **FIGURA 1f** es una ilustración de 4,4',5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-2',7'-diyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,4',5,5',6,7-hexacloro-2',7'-diyodofluoresceína;

La **FIGURA 1g** es una ilustración de 2',4,5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',7'-diyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',4,5,5',6,7-hexacloro-4',7'-diyodofluoresceína;

La **FIGURA 1h** es una ilustración de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5'-triyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetracloro-2',4',5'-triyodofluoresceína;

La **FIGURA 1i** es una ilustración de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',7'-triyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetracloro-2',4',7'-triyodofluoresceína;

La **FIGURA 1j** es una ilustración de 4,5,6,7-tetrabromo-2'-cloro-3',6'-dihidroxi-4',5',7'-triyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada de 2'-cloro-4,5,6,7-tetrabromo-4',5',7'-triyodofluoresceína;

La **FIGURA 1k** es una ilustración de 4,5,6,7-tetrabromo-4'-cloro-3',6'-dihidroxi-2',5',7'-triyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada de 4'-cloro-4,5,6,7-tetrabromo-2',5',7'-triyodofluoresceína;

La **FIGURA 1l** es una ilustración de 4,5,6,7-tetrabromo-2',7'-dicloro-3',6'-dihidroxi-4',5'-diyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',7'-dicloro-4,5,6,7-tetrabromo-4',5'-diyodofluoresceína;

La **FIGURA 1m** es una ilustración de 4,5,6,7-tetrabromo-4',5'-dicloro-3',6'-dihidroxi-2',7'-diyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4',5'-dicloro-4,5,6,7-tetrabromo-2',7'-diyodofluoresceína;

La **FIGURA 1n** es una ilustración de 4,5,6,7-tetrabromo-2',5'-dicloro-3',6'-dihidroxi-4',7'-diyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',5'-dicloro-4,5,6,7-tetrabromo-4',7'-diyodofluoresceína;

La **FIGURA 1o** es una ilustración de 4,5,6,7-tetrabromo-3',6'-dihidroxi-2',4',5'-triyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetrabromo-2',4',5'-triyodofluoresceína;

La **FIGURA 1p** es una ilustración de 4,5,6,7-tetrabromo-3',6'-dihidroxi-2',4',7'-triyodo-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetrabromo-2',4',7'-triyodofluoresceína;

La **FIGURA 1q** es una ilustración de un atropisómero (representación aR) de un xanteno asimétricamente sustituido; y

La **FIGURA 1r** es una ilustración de un atropisómero (representación aS) de un xanteno asimétricamente sustituido.

La **FIGURA 1s** es una ilustración de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5'-triyodo-7'-isopropil-3*H*-espiro [isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 7'-isopropil-4,5,6,7-tetracloro-2',4',5'-triyodofluoresceína.

La **FIGURA 1t** es una ilustración de sal disódica de ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(6-hidroxi-2,4,5,7-tetrayodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico, también denominada 4,5,6,7-tetracloro-2',4',5',7'-tetrayodofluoresceína disódica o Rosa de Bengala.

Descripción detallada de las realizaciones actualmente preferidas**Definiciones**

"Alquilo C₁-C₄" se refiere a grupos hidrocarbonados saturados de cadena lineal y ramificados, que tienen generalmente un número especificado de átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo C₁-C₄ incluyen, sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, s-butilo, i-butilo y t-butilo.

"Halo" y "halógeno" se puede usar indistintamente, y se refieren a funcionalidades fluoro, cloro, bromo, y yodo.

"Sustancialmente libre de cloruro" y términos similares se refiere a las condiciones de reacción, reactivos o intermedios que están libres de ion cloruro, impurezas que contienen ion cloruro, o impurezas que pueden producir iones cloruro, a un nivel de pureza suficiente para evitar la formación no deseable de impurezas transhalogenadas

de la **Fórmula 3**, **Fórmula 3a** o **Fórmula 4a** a niveles de 0,15% (p. ej., 1500 ppm) o más, o en donde dichas condiciones de reacción, reactivos o intermedios contienen ion cloruro, impurezas que contienen ion cloruro, o impurezas que pueden producir ion cloruro a un nivel de 1500 ppm o inferior.

- 5 "Sustancialmente libre de impurezas transhalogenadas" y términos similares se refiere a la presencia de compuestos de **Fórmula 3**, y **Fórmula 4b** en donde, R_1 es independientemente Cl o Br, al menos uno de R_2 , R_3 , R_4 y R_5 es Cl y el resto son I, a un nivel de 0,15% (por ejemplo, 1.500 ppm) o inferior.

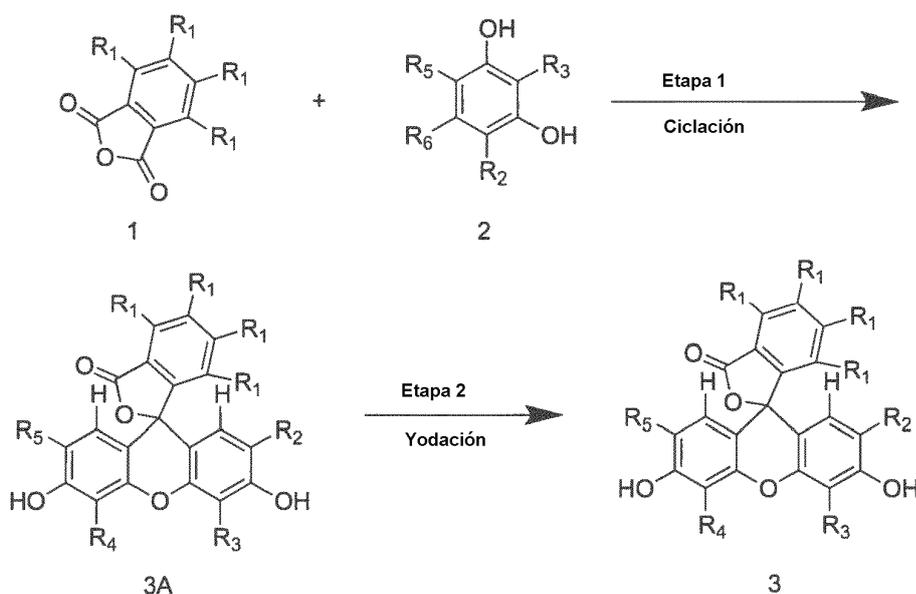
Representaciones estructurales genéricas

- 10 Las estructuras de los diversos productos intermedios y finales de **Fórmula 3**, **Fórmula 3a**, **Fórmula 3b**, **Fórmula 4a** y **Fórmula 4b** se ilustran en aras de simplicidad en su lactona o formas isoméricas quinoides genéricas, y pueden, dependiendo del pH o de otras condiciones, estar presentes en su forma isomérica alternativa (p. ej., quinoides en lugar de lactona, o lactona en lugar de quinoides). No se pretende que tal representación genérica limite la descripción a las formas isoméricas genéricas específicas ilustradas.

Esquemas de Reacción

- 20 El **Esquema I** muestra una realización de la presente invención que implica un método para preparar xantenos yodados (tales como, por ejemplo, de **Fórmula 3**). Este método incluye hacer reaccionar un anhídrido ftálico (**Fórmula 1**) con un exceso de un resorcinol (**Fórmula 2**) para proporcionar un compuesto de **Fórmula 3a** donde R_2 , R_3 , R_4 y R_5 no son I y al menos uno de R_2 - R_5 es H. Este compuesto, después del aislamiento mínimo, se somete a continuación a yodación para proporcionar un compuesto de **Fórmula 3** donde al menos uno de R_2 , R_3 , R_4 o R_5 está sustituido con I.

- 25 Esquema I



- 30 La reacción de ciclación, Etapa 1 anterior, se puede llevar a cabo, por ejemplo, utilizando ácido metanosulfónico (AMS) de puro hasta 10% en agua, a temperaturas de 0°C a reflujo. En una realización preferida, el ácido metanosulfónico puro se utiliza a 85°C - 95°C, durante 1-16 horas. En una realización preferida adicional, se utilizan entre 2-6 volúmenes de AMS, más preferiblemente entre 4 y 5 volúmenes de AMS, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 4,8 volúmenes de AMS. Alternativamente, se pueden utilizar ácido p-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido sulfúrico o ácido trifluorometanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido acético, ácido propiónico, ácido trifluoroacético, ácido canforsulfónico, o una solución ácida compuesta de uno o más de un ácido alquilsulfónico o ácido arilsulfónico con un punto de fusión inferior a aproximadamente 250°C, un ácido alquilcarboxílico o ácido arilcarboxílico con un punto de fusión inferior a aproximadamente 250°C, un ácido de Brønsted no cloruro, un ácido de Lewis no cloruro o inmovilizado con cloruro, o sus respectivas preparaciones unidas a polímeros o salinas, o soluciones acuosas de los mismos, solos o combinados con ácido metanosulfónico para efectuar la ciclación.

La ciclación a la **Fórmula 3a** se puede efectuar utilizando sustancialmente cantidades estequiométricas de reactivos (por ejemplo, con una razón de resorcinoles de **Fórmula 2** a anhídridos ftálicos de **Formula 1** de 2:1). En una

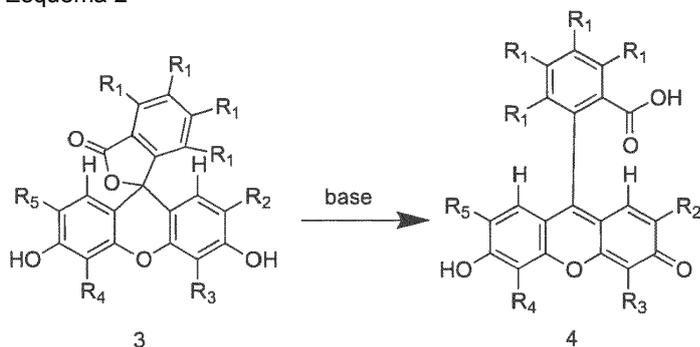
realización adicional, puede ser preferible llevar a cabo la reacción con un exceso de resorcinol (p. ej., de aproximadamente 2,5 equivalentes a aproximadamente 3 o más equivalentes, y más preferiblemente aproximadamente 3,2 o más equivalentes) con el fin de asegurar el consumo completo del anhídrido ftálico. Después del aislamiento de la **Fórmula 3a**, el sólido resultante se puede re-suspender con o sin agitación, preferiblemente calentando de 50°C a 70°C, para mejorar la pureza, utilizando agua y una combinación de acetona y agua o DMF y agua, y más preferiblemente utilizando acetona y agua a aproximadamente 60°C. El aislamiento y la re-suspensión se pueden repetir hasta que la sustancia de **Fórmula 3a** tiene una pureza deseada.

La reacción de yodación, Etapa 2 anterior, se puede llevar a cabo utilizando un exceso molar de yodo (I₂), Preferiblemente en condiciones alcalinas. Por ejemplo, la reacción se puede llevar a cabo utilizando hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, bicarbonato de sodio o bicarbonato de potasio 0,1-5 M, a temperaturas de 0°C a reflujo. En una realización preferida, esta reacción se puede llevar a cabo utilizando NaOH de 0,4 a 1,0 M a 70°C-95°C. Se pueden utilizar KI, NaI o una mezcla de NaI y KI para solubilizar yodo en la mezcla de reacción, por ejemplo utilizando NaI a 1-2,5 equivalentes. Los tiempos de reacción varían de 1-24 horas, y dependen del número de átomos de yodo añadidos al sistema anular de xanteno.

En una realización adicional, es posible controlar el grado de yodación variando el tiempo de reacción, la temperatura, o la concentración base. El yodo para esta reacción también se puede generar in situ utilizando un agente oxidante tal como oxona o peróxido de hidrógeno y sales yoduro seleccionadas entre yoduro de potasio, yoduro de litio, yoduro de sodio o alguna mezcla de los mismos. En este ejemplo concreto, es preferible evitar la inclusión de componentes en la mezcla de reacción que podrían conducir a transhalogenación indeseable, tales como cloruro acuoso, cloro, HCl u otros componentes capaces de producir iones de halógeno, a menos que cualquier agente oxidante, incluyendo oxígeno atmosférico y yodo, haya sido eliminado o inactivado antes de la adición de tales componentes. Por ejemplo, el hipoclorito de sodio es un componente particularmente indeseable en esta mezcla de reacción, ya que es una fuente de iones cloruro lábiles y un oxidante potente, también los iones cloruro, radicales cloruro, otros derivados de hipoclorito, ácido hipocloroso y mezclas de los mismos pueden dar lugar a la reacción secundaria indeseable. Al final de la reacción, la mezcla se puede enfriar a aproximadamente -20°C a 10°C, preferiblemente por debajo de 10°C, y el yodo se puede inactivar mediante la adición de un captador de yodo, tal como tiosulfato de sodio, tiosulfato de potasio, tiosulfato de amonio, sulfito de potasio, sulfito de sodio o una mezcla de los mismos. En una realización preferida, se utiliza sulfito de sodio para la inactivación.

El aislamiento fácil de la **Fórmula 3** es posible si a continuación se ajusta el pH de la reacción, preferiblemente manteniendo la temperatura por debajo de 10°C y utilizando ácido sulfúrico acuoso puro a una solución acuosa al 1%, preferiblemente una solución acuosa de ácido sulfúrico al 5%, hasta que el pH se ajusta a entre 1,5 y 5, haciendo que **Fórmula 3** precipite de la solución. En una realización preferida, el pH se ajusta a entre pH 1,5 y pH 3. Después del aislamiento de la **Fórmula 3**, el sólido resultante se puede re-suspender y aislar adicionalmente a temperatura ambiente para eliminar las impurezas, por ejemplo, utilizando agua y una combinación de acetona y agua o DMF y agua, preferiblemente acetona y agua. Adicionalmente, el pH se puede ajustar a 5 o más para solubilizar la **Fórmula 3** como **Fórmula 4a** antes de la conversión de nuevo en la **Fórmula 3** para el aislamiento en condiciones alcalinas.

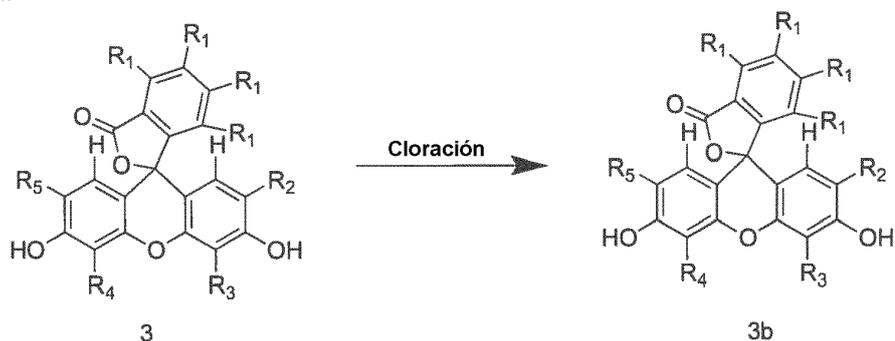
Esquema 2



El **Esquema II** muestra otra realización de la presente invención, en donde los compuestos de **Fórmula 3** también pueden existir en una forma quinoid (**Fórmula 4**) a pH sustancialmente neutro o alcalino, y estos quinoides pueden existir en forma de sales, donde uno o ambos grupos hidroxilo se sustituyen con un contraión alcalino, R₁₁ y/o R₁₂, incluyendo ion Na, K o Li.

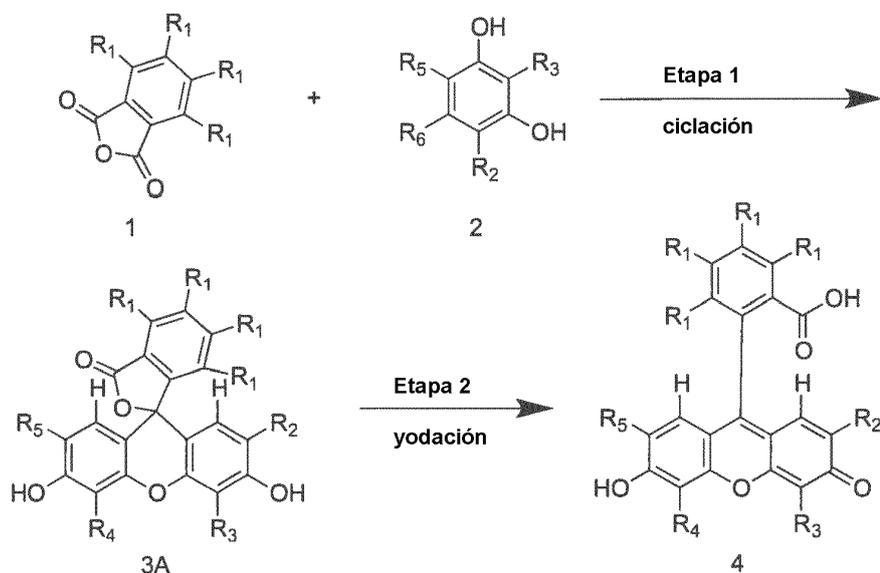
El **Esquema III** muestra un método de sustitución de I por Cl para generar compuestos de **Fórmula 3b**, donde al menos una posición seleccionada de entre R₂, R₃, R₄ y R₅ es Cl, partiendo de compuestos de **Fórmula 3** donde al menos una posición seleccionada de entre R₂, R₃, R₄ y R₅ es I.

Esquema III



5 El **Esquema IV** muestra otra realización de la presente invención, en donde los compuestos de **Fórmula 4** también pueden aislarse como productos de este procedimiento (**Fórmula 4a**) e impurezas (**Fórmula 4b**), y estos quinoides pueden existir en forma de sales, donde uno o ambos grupos hidroxilo en R_{11} y/o R_{12} se sustituyen por un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable, incluyendo ion H, Na, K o Li.

10 Esquema IV



15 Las realizaciones preferidas de la presente invención se refieren a compuestos de **Fórmula 3** y **Fórmula 4a** donde R_1 es independientemente Cl o Br, y R_2 - R_5 se seleccionan independientemente entre Cl, I o H, donde al menos 1 átomo de hidrógeno está presente en R_2 - R_5 o al menos un átomo de cloro está presente en R_2 - R_5 , e incluyendo atropisómeros cuando sea aplicable.

20 Un conjunto de realizaciones específicas descritas algunas impurezas incluyen los siguientes compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables y se nombran como la forma de lactona (**Fórmula 3**) y la forma quinoides (**Fórmula 4**), y se ilustran en la **Figura 1**:

25 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetracloro-2',4',5',7'-tetrayodofluoresceína, véase la **Figura 1a**, y su forma isomérica quinoides 2,3,4,5-tetracloro-6-(6-hidroxi-2,4,5,7-tetrayodo-3-oxo-3H-xanten-9-il)benzoico, véase la **Figura 1t**, comúnmente referido como Rosa de Bengala, o en su forma de sal disódica como Rosa de Bengala disódica;

30 4,5,6,7-tetrabromo-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetrabromo-2',4',5',7'-tetrayodofluoresceína, véase la **Figura 1b**, y su forma isomérica quinoides ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(6-hidroxi-2,4,5,7-tetrayodo-3-oxo-3H-xanten-9-il)benzoico;

2',4,5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-4',5',7'-triyodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',4,5,6,7-pentacloro-4',5',7'-triyodofluoresceína, véase la **Figura 1c**, y sus formas isoméricas quinoides ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(2-cloro-6-hidroxi-4,5,7-triyodo-3-oxo-3H-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(7-

cloro-6-hidroxi-2,4,5-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,4',5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-2',5',7'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,4',5,6,7-pentacloro-2',5',7'-triyodofluoresceína, véase la **Figura 1d**, y sus formas isoméricas quinoideas ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(4-cloro-6-hidroxi-2,5,7-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(5-cloro-6-hidroxi-2,4,7-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

2',4,5,6,7,7'-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',5'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',4,5,6,7,7'-hexacloro-4',5' -diyodofluoresceína, véase la **Figura 1e**, y su forma quinoide ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(2,7-dicloro-6-hidroxi-4,5-diyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,4',5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-2',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,4',5,5',6,7-hexacloro-2',7'-diyodofluoresceína, véase la **Figura 1f**, y su forma quinoide ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(4,5-dicloro-6-hidroxi-2,7-diyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

2',4,5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',4,5,5',6,7-hexacloro-4',7'-diyodofluoresceína, véase la **Figura 1g**, y sus formas isoméricas quinoideas ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(2,5-dicloro-6-hidroxi-4,7-diyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(4,7-dicloro-6-hidroxi-2,5-diyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetracloro-2',4',5'-triyodofluoresceína, véase la **Figura 1h**, y sus formas isoméricas quinoideas 2,3,4,5-tetracloro-6-(6-hidroxi-2,4,5-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(6-hidroxi-4,5,7-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',7'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetracloro-2',4',7'-triyodofluoresceína, véase la **Figura 1i**, y sus formas isoméricas quinoideas ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(6-hidroxi-2,4,7-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(6-hidroxi-2,5,7-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,5,6,7-tetrabromo-2'-cloro-3',6'-dihidroxi-4',5',7'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2'-cloro-4,5,6,7-tetrabromo-4',5',7'-triyodofluoresceína, véase la **Figura 1j**, y sus formas isoméricas quinoideas ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(2-cloro-6-hidroxi-4,5,7-triyodo-3-oxo-9,9a-dihidro-3*H*-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(7-cloro-6-hidroxi-2,4,5-triyodo-3-oxo-9,9a-dihidro-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,5,6,7-tetrabromo-4'-cloro-3',6'-dihidroxi-2',5',7'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4'-cloro-4,5,6,7-tetrabromo-2',5',7'-triyodofluoresceína, véase la **Figura 1k**, y sus formas isoméricas quinoideas ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(4-cloro-6-hidroxi-2,5,7-triyodo-3-oxo-9,9a-dihidro-3*H*-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(5-cloro-6-hidroxi-2,4,7-triyodo-3-oxo-9,9a-dihidro-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,5,6,7-tetrabromo-2',7'-dicloro-3',6'-dihidroxi-4',5'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',7'-dicloro-4,5,6,7-tetrabromo-4',5' -diyodofluoresceína, véase la **Figura 1l**, y su forma quinoide ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(2,7-dicloro-6-hidroxi-4,5-diyodo-3-oxo-9,9a-dihidro-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,5,6,7-tetrabromo-4',5'-dicloro-3',6'-dihidroxi-2',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4',5'-dicloro-4,5,6,7-tetrabromo-2',7'-diyodofluoresceína, véase la **Figura 1m**, y su forma quinoide ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(4,5-dicloro-6-hidroxi-2,7-diyodo-3-oxo-9,9a-dihidro-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,5,6,7-tetrabromo-2',5'-dicloro-3',6'-dihidroxi-4',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 2',5'-dicloro-4,5,6,7-tetrabromo-4',7'-diyodofluoresceína, véase la **Figura 1n**, y sus formas isoméricas quinoideas ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(2,5-dicloro-6-hidroxi-4,7-diyodo-3-oxo-9,9a-dihidro-3*H*-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(4,7-dicloro-6-hidroxi-2,5-diyodo-3-oxo-9,9a-dihidro-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,5,6,7-tetrabromo-3',6'-dihidroxi-2',4',5'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetrabromo-2',4',5'-triyodofluoresceína, véase la **Figura 1o**, y sus formas isoméricas quinoideas ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(6-hidroxi-2,4,5-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(6-hidroxi-4,5,7-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

4,5,6,7-tetrabromo-3',6'-dihidroxi-2',4',7'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetrabromo-2',4',7'-triyodofluoresceína, véase la **Figura 1p**, y sus formas isoméricas quinoideas ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(6-hidroxi-2,4,7-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico o isómero ácido 2,3,4,5-tetrabromo-6-(6-hidroxi-2,5,7-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico;

la forma aR, véase la **Figura 1q**, y la forma aS, véase la **Figura 1r**, de los atropisómeros posibles siempre que uno de estos compuestos no esté sustituido simétricamente sobre el núcleo de xanteno; y

4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5'-triyodo-7'-isopropil-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, también denominada 4,5,6,7-tetracloro-7'-isopropil-2',4',5'-triyodofluoresceína, véase la **Figura 1s**, y su forma isomérica quinoide ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(7-isopropil-6-hidroxi-2,4,5-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico y ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(2-isopropil-6-hidroxi-4,5,7-triyodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico.

Los compuestos de **Fórmula 3** o **Fórmula 4a** de la presente invención pueden contener centros quirales y por lo tanto pueden existir en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas.

Del mismo modo, la forma quinoide de los compuestos de **Fórmula 3** o **Fórmula 4a** donde el anillo xanteno no es simétrico debido a sustituyentes diferentes en los anillos arílicos de xanteno correspondientes (es decir, por ejemplo, $R_2 \neq R_5$ cuando $R_3 = R_4$ o $R_3 \neq R_4$ cuando $R_2 = R_5$, tales como las formas quinoideas de los compuestos representados en **Figuras 1c, 1d, 1g, 1h, 1i, 1j, 1k, 1o, 1p**) puede existir en forma de atropisómeros estables (como se ilustra en **Figuras 1q y 1r**). El procedimiento descrito la presente memoria abarca tanto la minimización de la cantidad relativa de pares atropisoméricos racémicos cuando pueden aparecer como impurezas de reacción, así como la preparación de estos atropisómeros en forma de mezclas racémicas.

En la medida en que los compuestos de **Fórmula 3** son compuestos ácidos, son capaces de formar una amplia variedad de sales diferentes con diversas bases inorgánicas y orgánicas. Las sales de adición de bases de los compuestos ácidos de la presente invención se preparan fácilmente mediante el tratamiento de la lactona de **Fórmula 3** con al menos uno o dos equivalentes de la base mineral o orgánica elegida en un disolvente orgánico acuoso o adecuado, tal como etanol o metanol. Tras la evaporación del disolvente, la filtración o utilizando directamente una solución acuosa de la sal resultante, la sal deseada se obtiene fácilmente en forma quinoide como se describe por **Fórmula 4a**. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, las formadas con sodio, calcio, potasio, magnesio, meglumina, amonio, aluminio, zinc, piperazina, trometamina, litio, colina, dietilamina, 4-fenilciclohexilamina y benzatina.

Ejemplos

Se pretende que los siguientes ejemplos son ilustrativos, y representen realizaciones específicas de la presente invención.

Métodos generales

Todas las reacciones se llevaron a cabo en recipientes abiertos. Los recipientes fueron cubiertos en ocasiones para protegerlos de la luz ambiente. Todas las reacciones se llevaron a cabo en atmósfera de nitrógeno, argón u otra atmósfera inerte a menos que se indique lo contrario. Todos los disolventes y reactivos utilizados fueron de fuentes comerciales, y no se realizó purificación adicional. Las reacciones se controlaron mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) utilizando un detector Agilent 1100 Series con bomba cuaternaria/longitud de onda variable (225 nm de longitud de onda de detección) con la columna Supelco Ascentis Express C18 (4,6x150 mm, 2,7 μ m, a 40°C, MeCN/H₃PO₄ al 0,5% en H₂O, gradiente 65/35 a 90/10 funcionando durante 30 min) o el mismo aparato utilizando una columna Symmetry Shield® de Waters RP-18 (4,6x150 mm, 5 μ m a 40°C, MeCN/10 mM K₃PO₄ a pH 3 en H₂O +MeCN al 5%, gradiente 10/90 a 80/20 durante 25 minutos o isocrático 65/35); espectrometría de masas (trampa Agilent LC/MSD o Waters LCMS con condiciones de cromatografía similares a la HPLC, modificadas con ácido fórmico); y/o cromatografía en capa fina (TLC) con luz ultravioleta y una tinción de yodo para la visualización. La cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) se realizó utilizando un Thar SFC 80 con una columna RegisCell (3 x 25 cm), cargando 20-22 mg/inyección a una concentración de 4,5 mg/ml en etanol. La resonancia magnética nuclear de protón (RMN ¹H) se registró a 300 MHz en un Varian INOVA 300 o Varian Gemini 2000 o a 400 MHz en un Varian Oxford 400, cada uno utilizando TMS como patrón interno. Los desplazamientos químicos se presentan (como unidades δ en partes por millón, ppm) con respecto al singlete a 2,50 ppm para DMSO-d₆ referenciado a tetrametilsilano (TMS) a 0 ppm. Las constantes de acoplamiento (J) se presentan en Hertzios (Hz). Los espectros de resonancia magnética nuclear de Carbono-13 desacoplada de ruido (RMN ¹³C) se registró a 75 MHz en un Varian INOVA 300, a 100 MHz en un Varian Oxford 400, o a 75 MHz en un espectrómetro Varian Gemini 2000. Los desplazamientos químicos se presentan como δ en ppm con respecto a la línea central del septete a 39,5 ppm para DMSO-d₆, los datos espectroscópicos de UV-VIS se obtuvieron en un espectrofotómetro de doble haz Hitachi U-2810 o en un Espectrofotómetro de barrido Spectronic Genesys 2 barriendo de 200 a 600 nm, anchura de rendija 1,5 nm, longitud de la trayectoria 10,0 mm.

Ejemplo 1 - Preparación de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (lactona de Rosa de Bengala, Figura 1a)

Etapa 1: Ciclación. Un matraz de fondo redondo de 500 mL se equipó con una manta calefactora, un termopar J-Kem, una barra de agitación magnética grande, un conducto de entrada de nitrógeno, y una placa de agitación magnética. Este aparato se cargó con anhídrido tetracloroftálico (1,00 eq, 50,00 g, 174,9 mmoles), resorcinol (2,10

eq, 40,44 g, 367,3 mmoles) y ácido metanosulfónico puro (250 mL). La mezcla de reacción resultante era una suspensión a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno y se calentó a 90°C para proporcionar una solución de color rojo-naranja oscuro. La reacción se mantuvo a 90°C durante 5 horas, y a continuación se añadieron 5,78 g adicionales de resorcinol (0,3 eq, 52,47 mmoles). La reacción continuó en agitación a 90°C durante 2,5 horas. Se considera que se completa la reacción cuando la cantidad de anhídrido tetracloroftálico residual es <1,0% mediante HPLC. Un matraz de fondo redondo de 1 L (3 bocas) equipado con un agitador mecánico, baño de hielo y termopar J-Kem se cargó con agua USP a temperatura ambiente (500 mL). La mezcla de reacción a 90°C se añadió lentamente a través del conducto de transferencia al agua USP a <10°C utilizando una presión positiva de nitrógeno. Durante la transferencia de la mezcla de reacción al agua, se controló la velocidad de transferencia de manera que la temperatura de la mezcla para sofocar el agua no superara los 60°C. Se utilizaron 100 mL adicionales de agua USP para enjuagar el reactor y a continuación se transfirieron al reactor que contenía el agua. La suspensión de color verde-pardo resultante se dejó enfriar gradualmente a temperatura ambiente (RT) y se agitó a RT durante 30 min adicionales. Los sólidos se aislaron mediante filtración a vacío. El reactor se enjuagó con agua USP (alícuotas de 2 x 250 mL), y estos enjuagues se utilizaron para enjuagar la torta húmeda. La torta húmeda se retiró seca durante 60 min, y después se secó a vacío a 70°C durante la noche para proporcionar 88,60 g de sólidos de color pardo verdoso. Este material, junto con 550 mL de acetona se añadió a un matraz de fondo redondo de 2 L equipado con un agitador mecánico, un termopar J-Kem, una manta calefactora, un conducto de entrada de nitrógeno, y un adaptador en Y con un condensador de reflujo. La suspensión resultante se calentó a reflujo durante 1,5 horas, después de lo cual se trató con 530 mL de agua USP (añadida lentamente mediante un embudo de adición durante 60 min) de manera que la temperatura permaneció a $\geq 56^\circ\text{C}$. Durante la adición del agua, se observó que la temperatura subía (la temp. máxima alcanzada fue de 62°C). Una vez completada la adición de agua, la suspensión de color pardo amarillento se mantuvo a reflujo durante 3 horas, y después se enfrió gradualmente a RT durante aproximadamente 30-40 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales, y después la suspensión de color pardo amarillento se recogió mediante filtración a vacío. El reactor se enjuagó con acetona acuosa al 50% (v/v, 4 x 100 mL), y estos enjuagues se utilizaron para enjuagar la torta húmeda. La torta húmeda se dejó retiró seca durante 48 h y a continuación se secó adicionalmente a vacío a 70°C durante la noche para proporcionar 74,43 g (rendimiento 90,5% a 96,8% de pureza AUC) de tetraclorofluoresceína en forma de un sólido de color pardo-amarillo. RMN ^1H (300 MHz; DMSO d_6) δ 10,23 (s, 2H), 6,95 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,69 (d, J = 2,1 Hz, 2H), 6,57 (d de d, J = 8,7 Hz, 2H).

Etapa 2: Yodación. Un matraz de fondo redondo de 500 mL (3 bocas) se equipó con un condensador de reflujo, un adaptador en Y, un termopar J-Kem, un agitador mecánico, una manta calefactora, y un conducto de entrada de nitrógeno. El reactor se purgó con nitrógeno y se cubrió con papel de aluminio. Este se cargó con 10,00 gramos de tetraclorofluoresceína (21,3 mmoles), 30 mL de una solución de NaOH 5 M y 300 mL de agua USP para proporcionar una solución de color rojo oscuro. A continuación, se cargaron en el reactor 7,03 gramos de yoduro de sodio (46,9 mmoles) y 32,4 g de yodo (127,7 mmoles). La mezcla de reacción se dejó agitando a temperatura ambiente durante 30 min, a continuación se calentó a 90°C. El análisis mediante HPLC de una alícuota de la mezcla de reacción indicó el consumo completo de la sustancia de partida, los intermedios no parcialmente yodados, y la conversión completa en el producto deseado. Después de calentar la reacción a 90°C durante 1,5 horas, el calor se desconectó, y la mezcla de reacción se dejó enfriar gradualmente a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La mezcla de reacción de color púrpura-rosa oscuro se enfrió a <10°C con un baño de hielo. El pH de la mezcla de reacción fue de 7,13. Se añadió sulfito de sodio (6,70 g) a la mezcla de reacción en pequeñas porciones. Se cargaron 75 mL de acetona en el reactor a <10°C, y la mezcla se dejó agitando durante 10 min a <10°C. Mientras a <10°C, se añadió gota a gota una solución acuosa al 5% de H₂SO₄ (24 mL) hasta alcanzar un pH de 2,03 y proporcionó una suspensión de color rosa. Esta suspensión de reacción se recogió mediante filtración a vacío. El reactor se enjuagó con acetona acuosa al 25% (v/v, 4 x 100 mL) y los enjuagues se utilizaron para enjuagar la torta húmeda. La torta húmeda se retiró seca durante 3 horas y se secó a vacío a 60°C durante la noche para proporcionar 25,81 g de sólidos de color rosa. Estos sólidos y 225 mL de acetona se añadieron a un matraz de fondo redondo de 1 L (3 bocas) equipado con un agitador mecánico, un termopar J-Kem, y un adaptador en Y con entrada de nitrógeno. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min, a continuación, se añadieron 255 mL de agua USP durante 10 min para proporcionar una suspensión. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 2,25 horas, y después se filtró mediante filtración a vacío para aislar los sólidos. El reactor se enjuagó con acetona acuosa al 50% (1 x 75 mL), y esto se usó para enjuagar la torta húmeda. A continuación, la torta húmeda se lavó con acetona acuosa al 50% (2 x 75 mL) y agua USP (1 x 75 mL), se retiró seca durante 1 hora y se secó adicionalmente a 80°C para proporcionar 18,68 g de producto (rendimiento 90,2%, sólidos de color rosa coral, pureza HPLC AUC de 99,5%) de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona. RMN ^1H (300 MHz; DMSO d_6) 6 10,27 (s, 2H), 7,59 (s, 2H). RMN ^{13}C (300 MHz; DMSO d_6) 6 163,2, 158,6, 151,9, 146,7, 138,8, 136,5, 135,3, 131,2, 126,8, 124,6, 110,8, 81,8, 79,3, 77,0. EM Trampa MDS: m/z 974,8 (M + 1)⁺ (masa exacta 973,67). UV-VIS λ_{max} = 557 nm en metanol; punto de fusión (pf), determinado por calorimetría diferencial de barrido (DSC) = 215°C.

Ejemplo 2 - Preparación de 4,5,6,7-tetrabromo-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Figura 1b)

Etapa 1: El tratamiento de anhídrido tetrabromoftálico (28,63 g, 61,74 mmoles) y resorcinol (17 g, 154,4 mmoles) en 143 mL de ácido metanosulfónico de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 Etapa 1 proporcionó 33,64 g de tetrabromofluoresceína que se aisló en forma de un sólido de color beige claro (rendimiento de 84,1%, pureza AUC de 97,4%). RMN H^1 (300 MHz; DMSO d_6) δ 10,17 (s, 2H), 6,86 (d, J = 8,64 Hz, 2H), 6,65 (d, J = 2,34 Hz, 2H), 6,54 (d de d, J = 8,7 Hz, 2H).

Etapa 2: El tratamiento de tetrabromofluoresceína (22 g, 33,96 mmoles), yodo (51,71 g, 203,7 mmoles) y yoduro de sodio (11,22 g, 74,85 mmoles) de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 Etapa 2 proporcionó 36,02 g (31,2 mmoles, rendimiento de 92,1%, pureza AUC de 96,3%) de 4,5,6,7-tetrabromo-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona que se aisló en forma de un sólido de color rosa claro. RMN H^1 (300 MHz; DMSO d_6) δ 10,22 (s, 2H), 7,49 (s, 2H). RMN C^{13} (300 MHz; DMSO d_6) δ 163,9, 158,8, 152,5, 149,9, 137,3, 136,7, 133,5, 127,5, 124,6, 121,1, 111,5, 82,0, 80,3, 77,4. EM Trampa MDS: m/z 1152,6 ($M + 1$)⁺ (masa exacta 1.151,48). UV-VIS λ_{max} = 558 nm en metanol, pf (determinado mediante DSC) = 227°C.

Ejemplo 3 - Preparación de 2',4,5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-4',5',7'-triyodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Figura 1c)

Etapa 1: El tratamiento de anhídrido tetracloroftálico (5 g, 17,48 mmoles), 4-clororesorcinol (2,78 g, 19,23 mmoles) y resorcinol (2,12 g, 19,23 mmoles) de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 Etapa 1 proporcionó 7,24 g de 2',4,5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona pura en 18,6% que se recogió y se llevó a la siguiente etapa en forma de una mezcla.

Etapa 2: La 2',4,5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (7,24 g, 15,4 mmoles) se yodó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, Etapa 2. A continuación, el producto bruto (5,47 g) se aisló mediante purificación SFC (flujo total de 80 g/min, co-disolvente al 40% (EtOH/TFA al 0,5%) en CO₂, 140 bar, 254 nm en una columna RegisPack de 3x25 cm 5 m) para proporcionar 427 mg (rendimiento de 0,54 mmoles, 34,7%) de 2',4,5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-4',5',7'-triyodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona, sólido de color rosa claro con una pureza mediante HPLC AUC de 95,8%. RMN H^1 (300 MHz; DMSO d_6) δ 10,85 (s, 1H), 10,2 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,38 (s, 1H). RMN C^{13} (300 MHz; DMSO d_6) δ 163,4, 159,0, 155,8, 152,3, 151,2, 146,9, 139,1, 136,9, 135,7, 131,6, 128,2, 127,1, 125,1, 116,9, 111,0, 109,7, 82,3, 80,0, 78,4, 78,4, 77,5. EM Trampa MDS: m/z 882,7 ($M + 1$)⁺ (masa exacta 882,2). UV-VIS λ_{max} = 554 nm en metanol.

Ejemplo 4 - Degradación de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona a 4,4',5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-2',5',7'-triyodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona y 4,4',5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-2',7'-diyodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Figuras 1a, 1d y Si)

A 100 mg (0,10 mmoles) de 4,5,6,7-tetracloro de-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona se le añadieron 1,0 mL de acetonitrilo y 2,0 mL de hipoclorito de sodio acuoso al 12,5% a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se dejó agitando a RT durante 1 hora. El análisis mediante HPLC indicó dos nuevas impurezas a un tiempo de retención de 8,38 min y 9,93 min (27,8% y 45,6%, respectivamente), quedando sin reaccionar 26,6% de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona. El análisis espectral de masas mostró iones M-1: M-1 = 791,7 que corresponde a una impureza de hexacloro, M-1 = 881,4 que corresponde a una impureza de pentacloro y M-1 = 973,2 que corresponde a la lactona de Rosa de Bengala. Los compuestos transhalogenados se prepararon individualmente a continuación (véanse los ejemplos 5 y 7), para confirmar las asignaciones estructurales y se correlacionaron con los productos de este ejemplo utilizando HPLC.

Ejemplo 5 - Preparación de 4,4',5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-2',5',7'-triyodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Figura 1d)

Etapa 1: Se combinaron anhídrido tetracloroftálico (2,5 g, 8,74 mmoles), 2-clororesorcinol (1,33 g, 9,18 mmoles) y resorcinol (1,01 g, 9,18 mmoles) con 12,5 mL de ácido metanosulfónico puro y se calentaron a 90°C durante 19 h, a continuación a 97°C durante 10 h después de lo cual la mezcla caliente se añadió cuidadosamente a 25 mL de agua con hielo. Esta suspensión se extrajo en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera, después se secó sobre sulfato de sodio. El producto se aisló a través de un tapón de gel de sílice utilizando tolueno:dioxano:hexano:ácido acético al 66%:14%:18%:4% como eluyente. Se recogieron 1,95 g de 4,4',5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona pura en 46,4% y se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 2: La 4,4',5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (1,95 g, 4,15 mmoles) se yodó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, Etapa 2. Rendimiento bruto, 2,70 g de una mezcla. El producto se aisló mediante purificación SFC (flujo total de 80 g/min, co-disolvente IPA al 40% en CO₂, 140 bar, 254 nm en una columna RegisPack de 3x25 cm 5 m) para proporcionar 630 mg (0,7 mmoles, rendimiento de 38,5%, pureza AUC de 98,7%) de 4,4',5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-2',5',7'-triyodo-3H-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona en forma de un sólido de color rosa. RMN H^1 (300 MHz; DMSO d_6) δ 11,05 (s, 1H), 10,3 (s, 1H), 8,3 (s, 1H), 7,55

(d, 2H). RMN C¹³ (300 MHz; DMSO d₆) δ 163,2, 158,6, 154,7, 150,7, 148,0, 146,7, 138,7, 136,5, 135,3, 134,5, 131,3, 126,8, 124,6, 110,5, 110,4, 82,4, 82,1, 79,3, 77,6. EM Trampa MDS: m/z 882,7 (M + 1)⁺ (masa exacta 882,2). UV-VIS λ_{max} = 555 nm en metanol.

5 Ejemplo 6 - Preparación de 2',4,5,6,7,7'-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',5'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Figura 1e)

10 Etapa 1: El tratamiento de anhídrido tetracloroftálico (5 g, 17,49 mmoles) y 4-clororesorcinol (6,32 g, 43,73 mmoles), de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 Etapa 1, proporcionó 10,31 g de producto bruto. La suspensión de una porción de 9,25 g de esto en DMF:agua (1:1) seguido de filtración, proporcionó 9,70 g (complejo de DMF 2:1 17,16 mmoles, rendimiento 92,3%) de 2',4,5,6,7,7'-hexacloro-3',6'-dihidroxi-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona que se aisló en forma de un sólido de color naranja. RMN H¹ (300 MHz; DMSO d₆) δ 11,13 (s, 2H), 7,31 (s, 2H), 6,89 (s, 2H).

15 Etapa 2: El tratamiento de la 2',4,5,6,7,7'-hexacloro-3',6'-dihidroxi-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (2 g, 3,71 mmoles) de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, Etapa 2 proporcionó 2,56 g (3,22 mmoles, rendimiento 87,3%) de 2',4,5,6,7,7'-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',5'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona que se aisló en forma de un sólido de color rosa-naranja con una pureza HPLC AUC de 97,9%. RMN H¹ (300 MHz; DMSO d₆) δ 10,90 (s, 2H), 7,48 (s, 2H). RMN C¹³ (300 MHz; DMSO d₆) δ 163,2, 154,7, 147,1, 146,8, 138,7, 135,3, 134,5, 131,3, 126,7, 124,5, 110,3, 107,7, 82,6, 79,0. EM Trampa MDS: m/z 791,0 (M + 1)⁺ (masa exacta 790,77). UV-VIS λ_{max} = 551 nm en metanol.

25 Ejemplo 7 - Preparación de 4,4',5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-2',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Figura 1f)

30 Etapa 1: El tratamiento de anhídrido tetracloroftálico (5 g, 17,49 mmoles) y 2-cloro-resorcinol (7,58 g, 41,98 mmoles) de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, Etapa 1, proporciona 9,3 g del producto bruto. La suspensión de 8 g del producto en bruto 9,3 g en DMF: agua (1: 1), seguido de filtración proporciona 8,65 g (16,05 mmoles, 91,7% de rendimiento AUC) de 4,4',5,5',6,7-hexacloro -3',6'-dihidroxi-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona que se aisló en forma de un sólido de color naranja. RMN H¹ (300 MHz; DMSO d₆) δ 11,09 (s, 2H), 7,03 (d, J = 9 Hz, 2H), 6,81 (d, J = 8,7 Hz, 2H).

35 Etapa 2: El tratamiento de la 4,4',5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (2 g, 3,71 mmoles) de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, Etapa 2 proporcionó 2,20 g (2,78 mmoles, rendimiento 75,1%) de 4,4',5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-2',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona que se aisló en forma de un sólido de color rosa-naranja con una pureza mediante HPLC AUC de 97,7%. RMN H¹ (300 MHz; DMSO d₆) δ 11,05 (s, 2H), 7,58 (s, 2H). RMN C¹³ (300 MHz; DMSO d₆) δ 163,2, 154,7, 147,1, 146,8, 138,7, 135,3, 134,5, 131,3, 126,7, 124,5, 110,3, 107,7, 82,8, 79,0. EM Trampa MDS: m/z 791,0 (M + 1)⁺ (masa exacta 790,77). UV-VIS λ_{max} = 554 nm en metanol.

40 Ejemplo 8 - Preparación de 2',4,5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Figura 1g)

45 Etapa 1: El tratamiento de anhídrido tetracloroftálico (5 g, 17,48 mmoles), 4-clororesorcinol (2,78 g, 19,23 mmoles) y 2-clororesorcinol (2,78 g, 19,23 mmoles) de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, Etapa 1 proporcionó 6,2 g de producto crudo (puro en aproximadamente 54% mediante HPLC 2',4,5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona) que se recogió y llevó a la siguiente etapa en forma de una mezcla.

50 Etapa 2: La 2',4,5,5',6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (6,2 g, 54,4% de compuesto deseado, 6,25 mmoles) se yodó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, Etapa 2, produciendo 7,16 g (60,8% de compuesto deseado, 5,50 mmoles, rendimiento de 88%). El producto en bruto (3,37 g, 60,8% de compuesto deseado, 2,59 mmoles) se aisló mediante purificación SFC (flujo total de 80 g/min, co-disolvente al 40% (IPA/EtOH 50/50 TFA al 0,5% en CO₂, 140 bar, 254 nm en una columna de RegisPack de 5 m 3x25 cm) para proporcionar 427 mg (0,54 mmoles, 20,8% de recuperación a partir de SFC) de 2',4,5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona en forma de un sólido de color rosa claro. RMN H¹ (300 MHz; DMSO d₆) δ 11,05 (s, 1H), 10,85 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,40 (s, 1H). RMN C¹³ (300 MHz; DMSO d₆) δ 163,1, 155,4, 154,7, 149,6, 148,0, 146,5, 138,7, 135,3, 134,5, 131,3, 127,9, 126,8, 124,7, 116,7, 110,3, 109,0, 107,5, 82,4, 79,6, 78,5. EM Trampa MDS: m/z 790,7 (M + 1)⁺ (masa exacta 790,7). UV-VIS λ_{max} = 552 nm en metanol.

60 Ejemplo 9 - Degradación de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona a 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',7'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Figuras 1a y 1i)

A 6,5 g (6,67 mmoles) de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona se les añadieron 130 mL de acetona, 30 mL de agua y 6,6 g de yoduro de sodio (44,0 mmoles). La mezcla se calentó a reflujo durante 82,5 h y el análisis mediante HPLC indicó que 35,4% del compuesto del título estaba presente en una mezcla con la sustancia de partida. La mezcla de reacción se diluyó con 130 mL de agua y 150 mL de acetato de etilo y se dejó reposar durante la noche a temperatura ambiente. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con 100 mL de acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio, obteniéndose 6,73 g de producto bruto que contenía 35,4% del compuesto del título mediante HPLC. El compuesto del título se aisló mediante cromatografía sobre gel de sílice a partir de una porción de este material utilizando tolueno:dioxano:hexano:ácido acético al 66%:14%:18%:4%. Después de etapas de cromatografía sucesivas, se aisló 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',7'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona en forma de un sólido de color rojo (90 mg). RMN ^1H (300 MHz; DMSO d_6) δ 11,26 (s, 1H), 10,19 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 6,84 (s, 1H). RMN ^{13}C (300 MHz; DMSO d_6) δ 163,4, 159,0, 158,3, 151,8, 150,8, 147,2, 138,6, 136,9, 135,1, 126,7, 124,5, 110,6, 108,8, 101,7, 81,2, 88,7, 77,1. EM Trampa MDS: m/z 848,8 (M + 1)⁺ (masa exacta 847,7). UV-VIS λ max = 539 nm en metanol.

Ejemplo 10 - Preparación de 4,5,6,7-tetracloro-2',4',5'-triyodofluoresceína (Figura 1h) y compuestos relacionados mediante yodación incompleta

Un matraz de fondo redondo de 500 mL se cargó con 10 g (21,3 mmoles) tetraclorofluoresceína, 13 mL de NaOH 5 M, 300 mL de agua, 7,08 g de NaI (47,2 mmoles) y 16,24 g de yodo (64 mmoles). La solución se calentó a 50°C durante 6,5 h antes de enfriarla a temperatura ambiente. Se añadió hidrógenosulfito de sodio seguido de ácido acético hasta que el pH fue de 3,7. La mezcla se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua y después con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a vacío. Se aislaron 18,2 g de una espuma de color rojizo-anaranjado en forma de una mezcla de 46% de 4,5,6,7-tetracloro-4',5'-diyodofluoresceína y 43% del compuesto del título, 4,5,6,7-tetracloro-2',4',5'-triyodofluoresceína pureza mediante HPLC AUC. LCMS MS Scan 800-1000: m/z 846,52 (M-1)⁻ (masa exacta 847,7). UV-VIS λ max = 540 nm en PBS. En comparación con el ejemplo 1, donde 6 equivalentes de yodo a 90°C producen una conversión sustancialmente cuantitativa para el producto tetrayodado, esta reacción que utiliza calentamiento más leve y 3 equivalentes de yodo produce una mezcla con impurezas yodadas inferiores. Esto demuestra la utilidad de la variación de las condiciones de reacción para controlar el rendimiento de productos yodados inferiores.

Ejemplo 11 - Degradación de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona a 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5'-triyodo-7'-isopropil-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona (Figuras 1a y 1s)

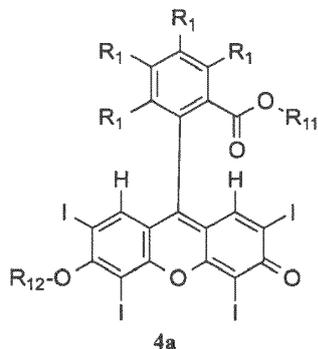
A un matraz de fondo redondo cargado con ZnCl₂ (0,5 mL, 0,50 mmoles), cloruro de isopropilmagnesio (0,23 mL, 0,45 mmoles), y Bis(PPh₃)₂PdCl₂ (cantidad catalítica) en THF a temperatura ambiente, se le añadieron 200 mg (0,21 mmoles) de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona en 2 mL de THF. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 38 h. La reacción se sofocó con 5 mL de agua USP, 0,5 mL de ácido acético y 2 gotas de ácido sulfúrico 5M. La capa orgánica se lavó con agua USP (3 mL), se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío. Se aislaron 195 mg de un sólido de color naranja-rojo en forma de una mezcla de 2,3% del compuesto del título y 42,9% de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5',7'-tetrayodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona mediante HPLC. Para confirmar la estructura, se llevó a cabo un aislamiento del compuesto del título en el siguiente ejemplo.

Ejemplo 12 - Aislamiento de 4,5,6,7-tetracloro-3',6'-dihidroxi-2',4',5'-triyodo-7'-isopropil-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona a partir de sal disódica de ácido 2,3,4,5-tetracloro-6-(6-hidroxi-2,4,5,7-tetrayodo-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico (Figuras 1s a 1t)

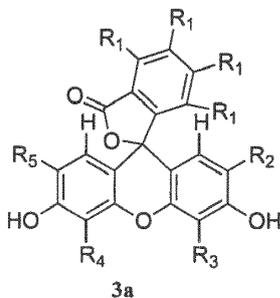
Se disolvieron 118 g (0,11 mol) de sal disódica de Rosa de Bengala de grado comercial en 985 mL de agua USP y se aciduló a pH 1-2 con 400 mL de HCl 1 M para proporcionar una suspensión. La suspensión se extrajo con 1800 mL de acetato de etilo y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo con una

REIVINDICACIONES

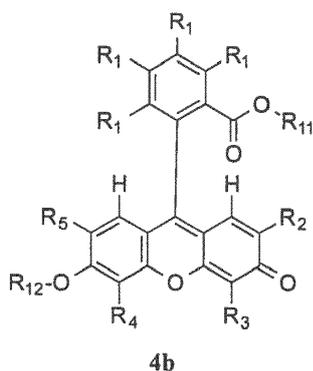
1. Un procedimiento para la producción de un compuesto de Fórmula 4a:



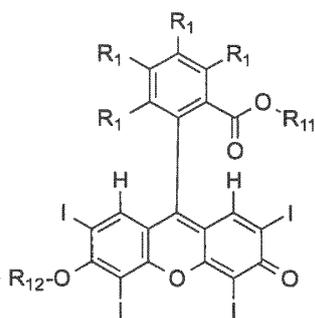
5 en donde R₁ es independientemente Cl o Br; R₁₁ y R₁₂ son independientemente H, Na, K, Li, o un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable, que comprende combinar un compuesto de Fórmula 3a, o un isómero del mismo en donde el compuesto quinoide de Fórmula 3a, o el isómero quinoide del mismo, están sustancialmente libres de impurezas de iones cloruro y de impurezas productoras de iones cloruro



10 en donde R₁ es independientemente Cl o Br; R₂, R₃, R₄ y R₅ son H; cuyo método se lleva a cabo con al menos aproximadamente 4 equivalentes de yodo, en una solución sustancialmente libre de iones cloruro y sustancialmente libre de impurezas productoras de iones cloruro para formar el compuesto de Fórmula 4a, **caracterizado porque** no hay sustancialmente formación de derivados transhalogenados del compuesto de Fórmula 4b, en donde para las impurezas transhalogenadas del compuesto de Fórmula 4b, R₁ es independientemente Cl o Br; al menos uno de R₂, R₃, R₄ y R₅ es Cl y el resto son I; R₁₁ y R₁₂ son independientemente H, Na, K, Li, o un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable;



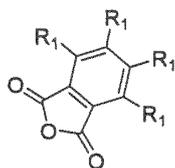
20 2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 para la preparación de un compuesto de Fórmula 4a:



4a

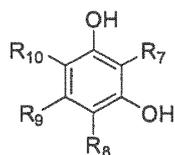
en donde R₁ es independientemente Cl o Br, y R₁₁ y R₁₂ son independientemente H o un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable, que comprende:

a) combinar un compuesto de Fórmula 1,



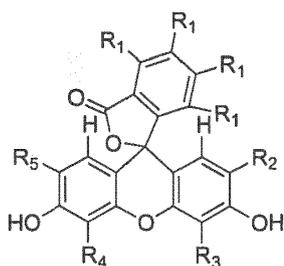
1

5 en donde R₁ es independientemente Cl o Br, con aproximadamente dos equivalentes de un compuesto de Fórmula 2,



2

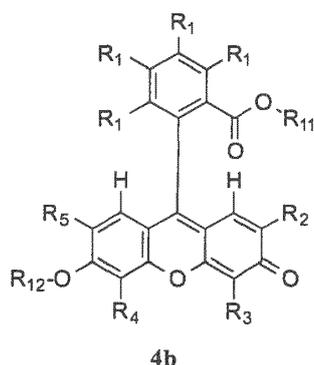
10 en donde R₇, R₈, R₉ y R₁₀ son H, en una solución ácida sustancialmente libre de iones cloruro y sustancialmente libre de impurezas productoras de iones cloruro, para formar un compuesto intermedio de Fórmula 3a,



3a

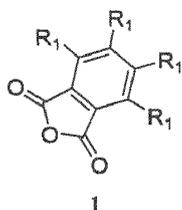
en donde R₁ es independientemente Cl o Br y R₂, R₃, R₄ y R₅ son H;

15 b) combinar el compuesto intermedio de Fórmula 3a con al menos aproximadamente 4 equivalentes de yodo en una solución sustancialmente libre de iones cloruro y sustancialmente libre de impurezas productoras de iones cloruro de para formar el compuesto de Fórmula 4a sustancialmente libre de impurezas transhalogenadas del compuesto de Fórmula 4b en donde R₁ es independientemente Cl o Br; al menos uno de R₂, R₃, R₄ y R₅ es Cl y el resto son I; y R₁₁ y R₁₂ son independientemente H, Na, K, Li, o un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable;

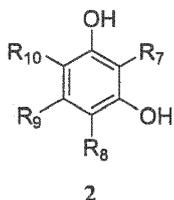


3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 para la preparación de un compuesto de **Fórmula 4a** que comprende:

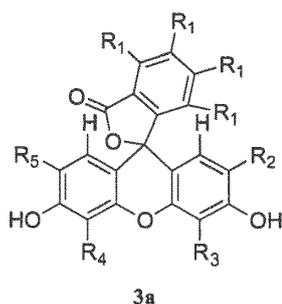
- 5 a) combinar un compuesto de Fórmula 1,



en donde R₁ es independientemente Cl o Br, con aproximadamente dos equivalentes de un compuesto de Fórmula 2,



- 10 en donde R₇, R₈, R₉ y R₁₀ son H, en una solución ácida a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 20°C a aproximadamente 250°C para formar un compuesto de Fórmula 3a;
b) aislar el compuesto intermedio de Fórmula 3a,



en donde R₁ es independientemente Cl o Br y R₂, R₃, R₄ y R₅ son H;

- 15 c) combinar el compuesto intermedio de Fórmula 3a con aproximadamente 4 equivalentes de yodo en una solución sustancialmente libre de iones cloruro y sustancialmente libre de impurezas productoras de iones cloruro a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 20°C a aproximadamente 100°C a formar el compuesto de Fórmula 3;
d) añadir un captador de yodo al compuesto de Fórmula 3;
20 e) acidular el compuesto de Fórmula 3 a un pH de menos de aproximadamente 5 y enfriar a una temperatura de menos de aproximadamente 10°C;
f) aislar el compuesto de Fórmula 3 sustancialmente libre de impurezas transhalogenadas en donde R₁ es independientemente Cl o Br, al menos uno de R₂, R₃, R₄ y R₅ es Cl y el resto son I; y
g) convertir el compuesto de Fórmula 3 en un compuesto de Fórmula 4a sustancialmente libre de

impurezas transhalogenadas de **Fórmula 4b**, en donde R_1 es independientemente Cl o Br; al menos uno de R_2 , R_3 , R_4 y R_5 es Cl y el resto son I; y R_{11} y R_{12} son independientemente H, Na, K, Li, o un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable.

- 5 4. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde una impureza transhalogenada del compuesto de **Fórmula 3** y/o de **Fórmula 4a** comprende menos de aproximadamente 0,15 por ciento en peso, y/o en donde la solución comprende menos de aproximadamente 1.500 ppm de cloruro, preferiblemente en donde la solución que contiene el compuesto intermedio de Fórmula 3a y yodo comprende menos de aproximadamente 1.500 ppm de cloruro.
- 10 5. El procedimiento de la reivindicación 3 o la reivindicación 4, en donde el procedimiento comprende adicionalmente la adición de un captador de yodo a la solución después de la formación del compuesto de Fórmula 3, en donde el captador se selecciona entre tiosulfato de sodio, tiosulfato de potasio, tiosulfato de amonio, sulfito de potasio, sulfito de sodio y mezclas de los mismos, preferiblemente en donde el captador de yodo es sulfito de sodio, y/o, preferiblemente, en donde la adición de captador de yodo se realiza a una temperatura de aproximadamente 10°C o inferior.
- 15 6. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en donde la acidulación comprende la adición de un ácido libre de iones cloruro a la solución que contiene la Fórmula 3, preferiblemente en donde el ácido libre de iones de cloruro comprende ácido sulfúrico a una concentración de aproximadamente 1 por ciento a aproximadamente 5 por ciento, y donde este ácido sulfúrico se añade en cantidad suficiente para ajustar el pH de la solución para que esté en el intervalo de aproximadamente pH 2 a aproximadamente pH 5, preferiblemente en donde el pH se ajusta a aproximadamente 3.
- 20 7. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en donde el aislamiento comprende suspender el compuesto de Fórmula 3 en un disolvente seleccionado entre agua, dimetilformamida, acetona y mezclas de los mismos; filtrar al vacío; y enjuagar el producto filtrado resultante con un disolvente seleccionado entre agua, dimetilformamida, acetona y mezclas de los mismos.
- 25 8. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en donde dicho compuesto de fórmula 3, en donde R_1 es independientemente Cl o Br, y R_2 , R_3 , R_4 , R_5 son I, se convierte en la forma quinoide de Fórmula 4a, en donde R_{11} y R_{12} son independientemente H o un contraión capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable.
- 30 9. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde las impurezas transhalogenadas comprenden al menos un compuesto seleccionado entre: 2',4,5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-4',5',7'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona; 4,4',5,6,7-pentacloro-3',6'-dihidroxi-2',5',7'-triyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona; 2',4,5,6,7,7'-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',5'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona; 4,4',5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-2',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona; 2',4,5,5',6,7-hexacloro-3',6'-dihidroxi-4',7'-diyodo-3*H*-espiro[isobenzofuran-1,9'-xanten]-3-ona; uno de sus quinoídes isoméricos; y sus mezclas.
- 35 40 10. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde la solución ácida comprende al menos un ácido seleccionado entre un ácido alquilsulfónico o ácido arilosulfónico con un punto de fusión de menos de aproximadamente 250°C, un ácido alquilcarboxílico o ácido arilcarboxílico con un punto de fusión de menos de aproximadamente 250°C, un ácido de Brønsted no cloruro, un ácido de Lewis no cloruro, una preparación unida a polímero de los mismos, una sal de los mismos, una solución acuosa de los mismos, solos o combinados con ácido metanosulfónico, preferiblemente en donde la solución ácida comprende al menos un ácido seleccionado entre ácido p-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido sulfúrico, ácido trifluorometanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido acético, ácido propiónico, ácido trifluoroacético, ácido canforsulfónico, un preparación unida a polímero de los mismos, una sal de los mismos, un solución acuosa de los mismos, y mezclas de los mismos, solos o combinados con ácido metanosulfónico, preferiblemente en donde la solución ácida comprende ácido metanosulfónico.
- 45 50 11. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde los compuestos de Fórmula 2 y de Fórmula 1 se combinan a una razón en el intervalo de aproximadamente 2,5:1 a aproximadamente 3,2:1, y/o en donde el procedimiento comprende adicionalmente calentar los compuestos de Fórmula 1 y Fórmula 2 en la solución ácida a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 85°C a aproximadamente 95°C durante un período de tiempo de aproximadamente 1 a aproximadamente 16 horas.
- 55 60 12. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde el procedimiento comprende adicionalmente aislar el compuesto intermedio de Fórmula 3a, preferiblemente en donde el aislamiento comprende suspender el compuesto intermedio de Fórmula 3a, recoger el compuesto intermedio de Fórmula 3a, y enjuagar el compuesto intermedio de Fórmula 3a con un disolvente sustancialmente libre de iones cloruro, y/o, preferiblemente, en donde el disolvente comprende una mezcla de acetona y agua calentada a aproximadamente 60°C.

- 5 13. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque el procedimiento comprende adicionalmente calentar el compuesto intermedio combinado de Fórmula 3a y yodo en solución alcalina a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 20°C a aproximadamente 100°C durante un período de tiempo en el intervalo de aproximadamente 1 a 24 horas, preferiblemente en donde el procedimiento comprende
- 10 14. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde la solución alcalina comprende al menos una base seleccionada entre hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de litio, bicarbonato de sodio, bicarbonato de potasio, y mezclas de los mismos, preferiblemente en donde la solución comprende hidróxido de sodio a una concentración de 0,4 a 1,0 M.
- 15 15. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde el procedimiento comprende adicionalmente la adición de al menos un agente solubilizante de yodo a la solución que comprende el compuesto intermedio de Fórmula 3a y yodo en donde el agente solubilizante de yodo se selecciona entre yoduro de potasio, yoduro de litio, yoduro de sodio, y sus mezclas.
- 20 16. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde el yoduro se genera in situ mediante la adición a la solución de un agente oxidante y una sal yoduro en donde la solución está sustancialmente libre de iones cloruro, radicales libres de iones cloruro, hipoclorito, ácido hipocloroso o mezclas de los mismos.
- 25 17. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde el procedimiento comprende adicionalmente la adición de un captador de yodo a la solución después de la formación del compuesto de **Fórmula 4a**, en donde el captador se selecciona entre tiosulfato de sodio, tiosulfato de potasio, tiosulfato de amonio, sulfito de potasio, sulfito de sodio y mezclas de los mismos, preferiblemente en donde el captador de yodo es sulfito de sodio, preferiblemente en donde la adición del captador de yodo se realiza a una temperatura de aproximadamente 10°C o inferior.
- 30 18. El procedimiento de cualquier reivindicación precedente, en donde R₁₁ y R₁₂ comprenden sodio.

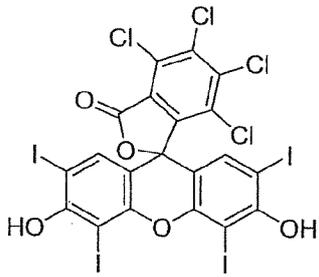


Figura 1a

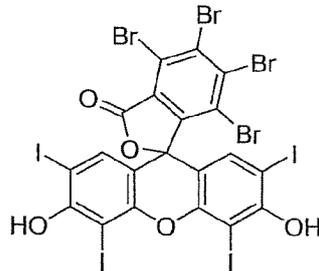


Figura 1b

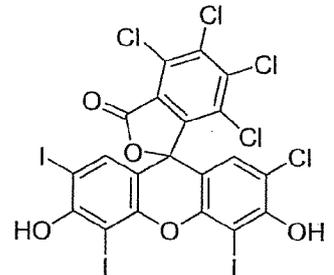


Figura 1c

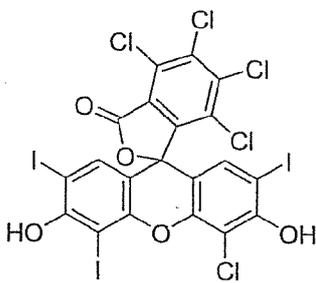


Figura 1d

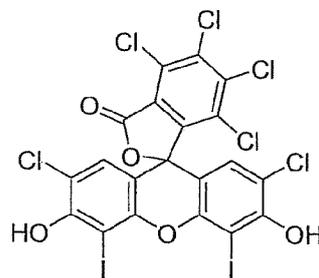


Figura 1e

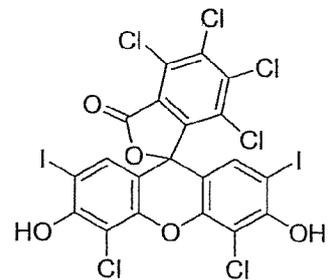


Figura 1f

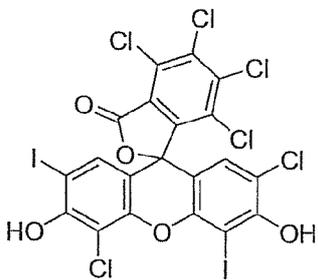


Figura 1g

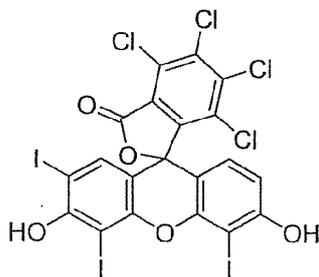


Figura 1h

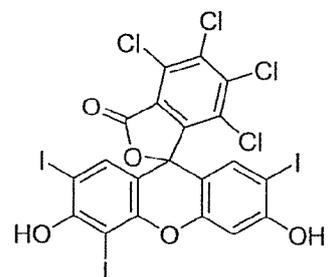


Figura 1i

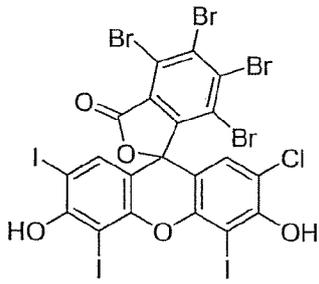


Figura 1j

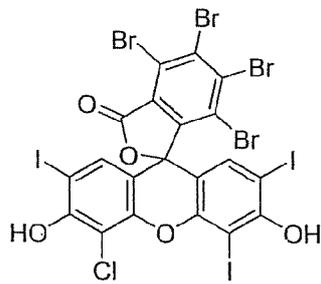


Figura 1k

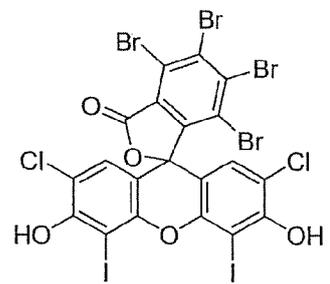


Figura 1l



Figura 1m

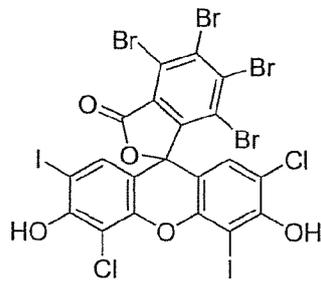


Figura 1n

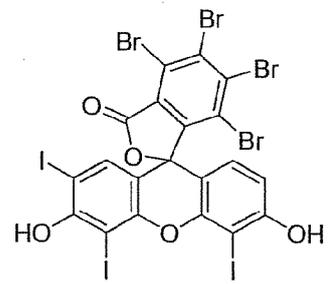


Figura 1o



Figura 1p

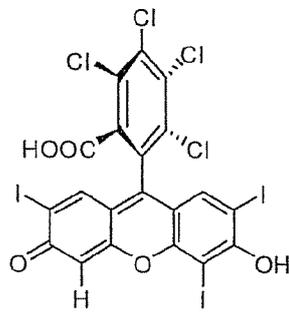


Figura 1q

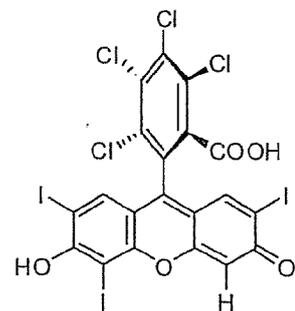


Figura 1r

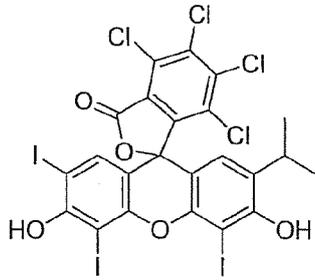


Figura 1s

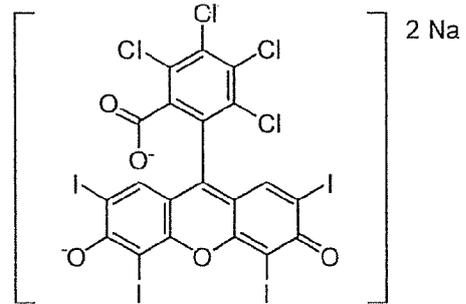


Figura 1t