

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 557 554**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/22** (2006.01)

**A61K 31/555** (2006.01)

**A61P 31/00** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.07.2010 E 10771346 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.09.2015 EP 2459567**

54 Título: **Derivado de ftalocianina que consiste en una mezcla de 4 isómeros**

30 Prioridad:

**30.07.2009 IT FI20090168**

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

**27.01.2016**

73 Titular/es:

**MOLTENI THERAPEUTICS S.R.L. (100.0%)  
Via I Barontini, 8, Località Granatieri  
50018 Scandicci (FI), IT**

72 Inventor/es:

**RONCUCCI, GABRIO;  
DEI, DONATA;  
CHITI, GIACOMO y  
NISTRI, DANIELE**

74 Agente/Representante:

**RUO, Alessandro**

Observaciones :

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

**ES 2 557 554 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

Derivado de ftalocianina que consiste en una mezcla de 4 isómeros

5 **Campo de la invención**

[0001] La invención se refiere al campo de los compuestos fotosensibilizadores para uso terapéutico.

**Técnica anterior**

10

[0002] Se sabe que las moléculas que contienen el macrociclo de ftalocianina de cromo/fluoróforo producen especies reactivas de oxígeno, tales como radicales u oxígeno singlete, por interacción con luz visible.

15

[0003] Por estas propiedades, los compuestos de ftalocianina se han propuesto en terapia fotodinámica (en lo sucesivo se indican con las iniciales "PDT") tanto para el tratamiento terapéutico como para fines de diagnóstico antes del tratamiento.

20

[0004] Ejemplos de estos compuestos se describen por Ogura et al. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines 2006, 10, 1116-1124.

[0005] Agentes fotosensibilizadores útiles en PDT son los compuestos de ftalocianina de cinc y sus conjugados descritos en la patente EP 906 758, por el solicitante.

25

[0006] Además, el documento EP 1 444 236 y en el documento EP 1 883 640 (ambos por el solicitante) describen respectivamente un proceso para la separación de mezclas de regioisómeros y un proceso para la preparación de cloruros de compuestos de ftalocianina.

30

[0007] Los compuestos descritos y obtenidos según los procesos indicados en los documentos anteriores han demostrado ser agentes fotosensibilizadores eficaces en el tratamiento de PDT, tanto para tumores como para infecciones microbianas; en particular, el producto tetrayoduro de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc, correspondiente al Ejemplo 53 del documento EP 906 758, ha demostrado ser particularmente activo. Se sabe que los derivados de ftalocianina tetra-sustituídos, tales como el compuesto tetrayoduro de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc, correspondiente al Ejemplo 53 de EP 906 758, se obtienen como una mezcla de cuatro isómeros de posición (véase la Fig. 1), identificados según las clases de simetría ( $D_{2h}$ ,  $C_{4h}$ ,  $C_s$ ,  $C_{2v}$ ), y en lo sucesivo llamados respectivamente con las letras del alfabeto (A, B, C, D). Los isómeros anteriormente dichos se forman durante la síntesis del macrociclo de ftalocianina en porcentajes relativos que se diferencian del teórico (definido por estadística y respectivamente iguales al 12,5 %, 12,5 %, 50 % y 25 %) en función del método de síntesis usado, la naturaleza de los sustituyentes de ftalonitrilo empleados para la preparación y, finalmente, del metal central insertado, pero que son constantes, dado el mismo compuesto y método (Phthalocyanines: Properties and Applications, Volumen 4, Capítulo 1 C. C. Leznoff y A. B. P. Lever (York University, Canadá). VCH: New York, 1996).

40

[0008] Como resultado, un compuesto particular, preparado mediante un método de síntesis específico, tal como el Ejemplo 53 del documento EP 906 758, tendrá una distribución de isómeros típica y reproducible.

45

[0009] También usando el proceso de síntesis descrito en la patente EP 1 883 640, mediante el cual el compuesto ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc se obtiene como tetracloruro (Ejemplo 4), la nueva sal está en cualquier caso presente como una mezcla de cuatro isómeros, según la distribución de isómeros esperada y ya obtenida con el proceso indicado en el documento EP 906 758.

50

[0010] La distribución de isómeros exacta de un derivado de ftalocianina tetra-sustituído particular puede conocerse y controlarse usando el proceso de separación descrito en la patente EP 1 444 236.

55

[0011] Durante los estudios de caracterización del ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc (tetrayoduro o tetracloruro), el solicitante ha descubierto que el compuesto identificado anteriormente, obtenido por los siguientes procesos de síntesis conocidos, contiene sustancias relacionadas en un porcentaje superior al 0,1 %, cuya reducción/eliminación es difícil de lograr. Incluso usando el proceso de síntesis descrito en la patente europea EP 1 883 640 y, por tanto, preparando dicho compuesto como cloruro (Ejemplo 4), aunque se obtiene una mejora en términos de solubilidad y pureza de producto, no es posible reducir dichas impurezas en el producto final por debajo del 0,1 % en peso (umbral por encima del cual se requiere identificación estructural y cualificación toxicológica). Además, las sustancias relacionadas descritas anteriormente tienen similitudes estructurales considerables en comparación con la sustancia activa, son capaces de interactuar con la radiación de la luz usada en PDT y, a diferencia de todas las otras impurezas, no pueden eliminarse de lotes del derivado de amonio ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc (tetrayoduro o tetracloruro). Por tanto, todavía hay una necesidad de mejorar la pureza del compuesto tetracloruro de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc, en vista de su uso como

65

principio activo.

### Breve descripción de las figuras

5 [0012]

La Fig. 1 muestra la estructura química de los cuatro isómeros del compuesto ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc (tetracloruro).

10 La Fig. 2 muestra la vía sintética que va a usarse para la obtención del compuesto de fórmula (I) con bajo contenido del isómero B en comparación con la vía usada para obtener el compuesto (VI), que tiene distribución de isómeros por estadística.

Las Fig. 3 a y b muestran respectivamente los cromatogramas de HPLC del compuesto (II) y del compuesto (III).

15 La Fig. 4 muestra los cromatogramas de HPLC superpuestos para el compuesto (II) después de la solubilización en DMF y en mezcla de THF/MeOH (1:1).

Las Fig. 5 a y b muestran respectivamente los cromatogramas del producto de fórmula (VI) y del producto de fórmula (I).

### Resumen de la invención

20

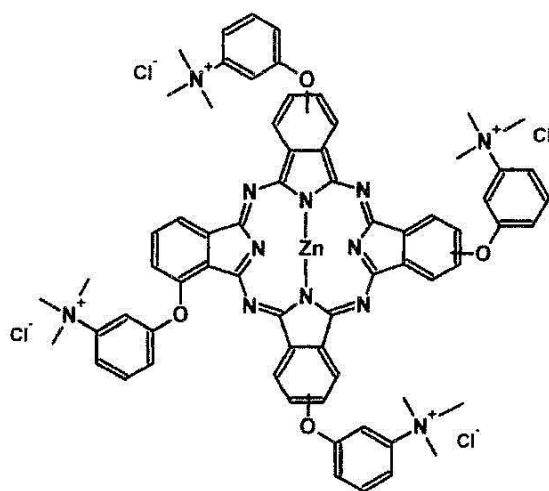
[0013] La presente invención se refiere a un compuesto de ftalocianina de fórmula (I) como se indica más adelante, que consiste en 4 isómeros en los que el isómero B está presente en una cantidad igual o inferior al 1 % en peso.

### 25 Descripción detallada de la invención

[0014] El solicitante ha encontrado ahora sorprendentemente que las sustancias relacionadas no deseadas encontradas en el producto ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc (tanto en forma de yoduro (V) como de cloruro (VI)) se derivan de impurezas presentes que se forman durante el proceso sintético del producto intermedio de amino (II).

[0015] El solicitante también ha encontrado sorprendentemente que estas impurezas pueden eliminarse mediante un proceso de cromatografía del producto intermedio, caracterizado por eliminación significativa simultánea del isómero B, uno de los cuatro isómeros de posición de la sustancia activa. El solicitante, basándose en las afinidades cromatográficas existentes entre el isómero B y las sustancias relacionadas no deseadas, también ha definido la cantidad máxima de isómero B que debe estar presente en el compuesto (I) para que tenga una cantidad simultánea de impurezas no deseadas  $\leq 0,1$  % en peso. Se ha encontrado que el valor del porcentaje de B se corresponde con el 1 % en peso.

40 [0016] Por tanto, la materia de la presente invención es el derivado de ftalocianina de fórmula (I)

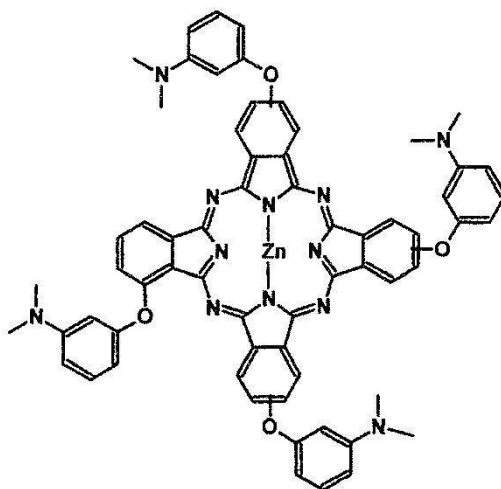


(con bajo contenido de isómero B)

(I)

que consiste en 4 isómeros: A, B, C y D identificados según las clases de simetría  $D_{2h}$ ,  $C_{4h}$ ,  $C_s$ ,  $C_{2v}$ , respectivamente,

en el que el isómero B es  $\leq 1\%$  en peso y el isómero A es  $\leq 12,5\%$  en peso obtenido mediante un proceso que comprende una purificación cromatográfica del compuesto de fórmula (II)

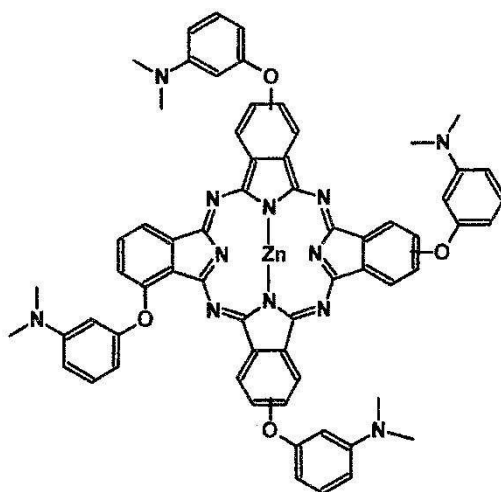


(distribución de isómeros por estadística)

(II)

5

para dar el producto intermedio de amina de fórmula (III)



(con bajo contenido del isómero B)

(III)

10 en el que dicha purificación cromatográfica se lleva a cabo usando una columna cromatográfica, en la que la fase estacionaria es gel de sílice hecho de partículas de gel de sílice formadas irregularmente o de forma esférica, con tamaño de partícula en el intervalo 5-75  $\mu\text{m}$  y tamaño de poro en el intervalo 60-150 Angstrom y en el que la fase móvil consiste en dos fases X e Y en la que X consiste en una mezcla 94/5/1 de diclorometano/tetrahidrofurano/metanol e Y consiste en *n*-hexano o *n*-heptano y la elución se realiza eluyendo con X/Y 3/1 en condiciones isocráticas.

15

[0017] El estado de la técnica más próximo a la materia de la presente invención se representa por el compuesto descrito en el Ejemplo 53 del documento EP 906 758. El Ejemplo 53 tiene los mismos sustituyentes en el macrociclo de ftalocianina, pero sin embargo se diferencia de (I) por dos características principales y mutuamente relacionadas:

20

1) los cuatro isómeros de posición están presentes según la distribución esperada de la síntesis del núcleo de ftalocianina, de hecho después de su formación ninguno de los isómeros obtenidos se elimina parcialmente o totalmente;

las impurezas no deseadas están presentes en una cantidad  $\geq 0,1\%$  en peso, que hace al Ejemplo 53 del documento EP 906 758 menos adecuado para ser usado como principio activo. En cambio, las impurezas anteriormente dichas son en su lugar inferiores al 0,1% en los lotes de producto (I), obtenidos según un proceso de preparación que incluye las siguientes etapas (véase también la Fig. 2, en la que la síntesis que conduce a la obtención de (I) se compara con el proceso descrito en las patentes EP 906 758 y EP 1 883 640, en el que la etapa de cromatografía ii) no se realiza):

- i) Tetramerización catalizada por base de 3-dimetilaminofenoxifaltonitrilo y purificación preliminar del producto intermedio de aminoftalocianina (II) obtenido;
- ii) Purificación cromatográfica del compuesto (II) para dar el producto intermedio de amino "con bajo contenido del isómero B" (III);
- iii) Metilación del producto intermedio de amino (III) con un agente metilante adecuado para dar el producto intermedio de la sal de amonio "con bajo contenido del isómero B" (IV);
- iv) Intercambio iónico del producto intermedio de la sal de amonio (IV) para dar la sal de amonio "con bajo contenido del isómero B" en forma de cloruro (I).

**[0018]** Para la preparación del producto deseado (I), el solicitante ha descubierto que las impurezas del producto intermedio (II), que son aquellas que hacen al compuesto (VI) inadecuado para los fines deseados, no pueden eliminarse aparte de usando purificación por cromatografía adicional de este producto intermedio (II).

**[0019]** El solicitante también ha descubierto sorprendentemente que el proceso de cromatografía que permite la eficaz separación de las impurezas no deseadas del producto intermedio de amino (II) implica una co-elución con las impurezas anteriormente mencionadas de uno de los cuatro isómeros de posición (isómero B), que así se elimina principalmente del resto de la mezcla de isómeros. El producto intermedio de amino (III) obtenido de esta purificación por cromatografía tiene una distribución de isómeros diferente, y es, por tanto, un nuevo compuesto con respecto al compuesto (II), además de estar eficazmente purificado de las impurezas inicialmente presentes.

**[0020]** Con referencia al proceso sintético descrito en la Fig. 2, la sal de amonio (IV) obtenida por metilación del producto intermedio (III) tiene una composición de isómeros diferente de (V) y es, por tanto, un nuevo compuesto con pureza mejorada. Asimismo, el cloruro (I) final obtenido mediante el intercambio iónico de (IV) tiene una distribución de isómeros diferente y es, por tanto, un nuevo compuesto con respecto a (VI). Finalmente, el compuesto (I) es más puro que (VI).

**[0021]** El solicitante también ha descubierto sorprendentemente e inesperadamente que la nueva distribución de isómeros de producto (I) "con bajo contenido del isómero B" con respecto a aquella indicada en las patentes EP 906 758 y EP 1 883 640, respectivamente los compuestos (V) y (VI), no implica ninguna diferencia en términos de actividad farmacológica y toxicológica.

**[0022]** En otras palabras, el producto así obtenido, en el que el porcentaje relativo de uno de los cuatro isómeros (B) es sustancialmente reducido, mantiene las propiedades terapéuticas de la mezcla original y tiene pureza mejorada, ambos requisitos fundamentales para el uso de (I) como sustancia activa farmacéutica y, por tanto, para la aplicación práctica de las propiedades terapéuticas reivindicadas. Además, la eliminación casi total del isómero B, que se produce como consecuencia de purificación cromatográfica, conduce a una serie de ventajas adicionales del compuesto (I), tanto al nivel de producto final como de los productos intermedios del proceso, en vista de la preparación y uso de (I) como sustancia activa, ventajas que se presentan a continuación. La mala solubilidad del isómero B del producto intermedio de amino (II), debido a su estructura simétrica, hace que las disoluciones de (II) sean variables en términos de distribución de isómeros general, debido a que puede producirse la incompleta disolución y/o precipitación. Esto tiene lugar tanto durante la síntesis como en el transcurso de los controles analíticos, con disminución consecuente de la reproducibilidad del proceso de síntesis y dificultad de validación y uso rutinario de métodos analíticos, problemas que son, sin embargo, totalmente inexistentes para el producto intermedio (III).

**[0023]** Además, el bajo contenido del isómero B facilita la caracterización, por medio de métodos de cromatografía por HPLC, del producto (I) (y, por los mismos motivos, del último producto intermedio del proceso (IV)) que produce un mejor control de la reproducibilidad de los lotes de síntesis.

**[0024]** La purificación cromatográfica del producto intermedio de amino (II), que permite la eliminación de las impurezas no deseadas y la mayoría del isómero B, que conduce al producto intermedio (III), se lleva a cabo usando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla constante o variable de disolventes orgánicos como fase móvil. Para la purificación anterior puede usarse cada uno de los siguientes métodos: Cromatografía ultrarrápida (FC), cromatografía de líquidos de presión media (MPLC) y cromatografía líquida de alta presión preparativa (HPLC prep).

**[0025]** En una condición preferida, la purificación se realiza en FC o MPLC.

**[0026]** Según el método de purificación seleccionado, la fase estacionaria puede estar hecha de partículas de gel de sílice formadas irregularmente o de forma esférica, con tamaño de partícula en el intervalo 5-75  $\mu\text{m}$  y tamaño de

poro en el intervalo 60-150 Angstrom.

**[0027]** El gel de sílice puede cargarse antes del ciclo de cromatografía o usarse como cartuchos/columnas previamente cargados.

**[0028]** En una condición preferida, la fase estacionaria está hecha de partículas de gel de sílice irregularmente formadas, con tamaño de partícula en el intervalo 20-75  $\mu\text{m}$  y tamaño de poro de 60 Angstrom.

**[0029]** En una condición preferida particular, la fase estacionaria puede usarse para varios ciclos cromatográficos.

**[0030]** Se usa una mezcla constante o variable de dos fases X e Y como fase móvil en la que X consiste en una mezcla 94/5/1 de diclorometano/tetrahidrofurano/metanol e Y consiste en *n*-hexano o *n*-heptano.

**[0031]** La elución se realiza eluyendo con X/Y 3/1 en condiciones isocráticas o la elución se realiza inicialmente eluyendo con X/Y 3/1 (hasta que empiece la elución de los isómeros C y D) y luego con X/Y 4/1 hasta que se complete la elución del isómero A.

**[0032]** El proceso cromatográfico descrito puede aplicarse a muestras del compuesto (II) que tienen diferente distribución de isómeros inicial (dependiendo tanto del método sintético como de los tratamientos pre-cromatográficos llevados a cabo), permitiendo en cualquier caso la eliminación total de sustancias relacionadas no deseadas y reduciendo el contenido del isómero B, con impacto mínimo sobre los porcentajes de los otros tres isómeros.

**[0033]** Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración no limitante de la presente invención.

### Ejemplo 1

#### Sintético preparación del compuesto de fórmula (I)

#### i) Síntesis y purificación preliminar de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilamino fenoxi)]cinc (compuesto II)

**[0034]** En atmósfera de nitrógeno, se solubilizan 55 g de 3-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)ftalonitrilo (0,21 moles) en 300 ml de DMF. Posteriormente se añaden 18,3 g de  $\text{Zn}(\text{AcO})_2$  (0,11 moles) y 150 ml de DBU (1 mol) y la mezcla de reacción se calienta entonces a 130  $^{\circ}\text{C}$  y se mantiene a esta temperatura, en la oscuridad, en atmósfera de nitrógeno y bajo agitación vigorosa durante 12 horas. A continuación, la mezcla de reacción se enfría a 0  $^{\circ}\text{C}$ , se trata con 1,8 l de  $\text{H}_2\text{O}$  desionizada y se mantiene con agitación a 0  $^{\circ}\text{C}$  durante media hora, entonces la suspensión se filtra, se lava el sólido con  $\text{H}_2\text{O}$  en porciones (1,3 l totales) y MeOH (1x750 ml + 1x180 ml).

**[0035]** Entonces el producto se somete a purificación cromatográfica sobre gel de sílice (fase móvil:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$  50/1), seguido de tratamiento del sólido purificado con éter etílico (200 ml) durante 1 hora, filtración y lavado del sólido con éter etílico (2x25 ml).

**[0036]** El producto así purificado se solubiliza en 0,5 l de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se reprecipita añadiendo 4 l de *n*-hexano. Después de la filtración, lavar con *n*-hexano (2x1l) y secar, se obtienen 60,1 g de compuesto (II).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 9,22-8,69 (m, 4H), 8,17-7,89 (m, 4H), 7,75-7,37 (m, 4H), 7,20-6,40 (m, 16H), 3,02-2,80 (m, 24H) ppm.

ESI-EM:  $m/z$  1117,4 [(M+H) $^+$ ] en modo positivo

Datos de HPLC (véase la Fig. 3a):

- Distribución de isómeros: B = 13,9%; A = 5,7 %; C+D = 80,4 %
- Sustancias relacionadas = 0,8 %.

#### ii) Purificación cromatográfica del compuesto (II) para dar ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (compuesto III)

**[0037]** Se solubilizan 25 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc (II) en 200 ml de una mezcla de eluyentes X/Y 3/1 en la que X = DCM/THF/MeOH 94/5/1 e Y = *n*-hexano. La disolución se carga sobre una columna de cromatografía (diámetro 100 mm, altura 460 mm) en gel de sílice preacondicionado con X/Y 3/1. La elución se realiza a un flujo de 130 ml/min usando como fase móvil X/Y 3/1, durante la elución del isómero B y hasta que la elución inicial de los isómeros C/D, luego con X/Y 4/1 durante la elución de los isómeros C/D y A. Las fracciones se controlan por CCF ( $\text{SiO}_2$ , X/Y 4/1): todas las fracciones en las que los isómeros C+D y/o el isómero A están presentes se combinan y se concentran dando 17,5 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (III).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 9,19-8,68 (m, 4H), 8,16-7,90 (m, 4H), 7,74-7,40 (m, 4H), 7,20-6,49 (m, 16H), 3,02-2,80 (m, 24H) ppm.

ESI-EM:  $m/z$  1117,4 [(M+H)<sup>+</sup>] en modo positivo

Datos de HPLC (véase la Fig. 3b):

- Distribución de isómeros: B ≤ 0,1 %; A = 6,1 %; C+D = 93,9 %
- Sustancias relacionadas ≤ 0,1 %.

iii) Síntesis de tetrayoduro de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (compuesto IV)

10 **[0038]** Se solubilizan 34 g (0,03 moles) de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc obtenido como se ha descrito anteriormente en el punto ii) en 850 ml de NMP, a la disolución se añaden entonces 85 ml (1,4 moles) de Mel y la mezcla de reacción se mantiene en la oscuridad, con agitación, en atmósfera de nitrógeno, a temperatura ambiente durante 96 horas.

15 **[0039]** La mezcla de reacción se diluye con 1,7 l de MeOH, entonces se trata con 6,8 l de éter etílico, obteniéndose una suspensión que se deja con agitación durante media hora y reposar durante 1 hora, luego se filtra; el sólido se lava con éter etílico (2x0,5 l), obteniéndose 60 g de producto húmedo (rendimiento incalculable) que se encontró que era tetrayoduro de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (IV), caracterizado por espectrometría de masas y RMN.

20 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 9,49-7,20 (m, 28H), 3,79-3,58 (m, 36H) ppm. ESI-EM:  $m/z$  294,1 [(M-4I)<sup>4+</sup>] en modo positivo.

iv) Tratamiento con resina de intercambio iónico que conduce a la obtención de tetracloruro de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N,N-trimetilamoniofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (compuesto I)

25

**[0040]** Se solubilizan 60 g del compuesto (IV) en 5,5 l de MeOH, y la disolución se pasa a través de una columna cromatográfica, que tiene como fase estacionaria 500 g de resina Amberlite<sup>®</sup> IRA 400 (CI), previamente lavada con disolución acuosa de ácido HCl 0,5 M y acondicionada con MeOH. Al eluato (aproximadamente 6 l), mantenido con agitación, se añade lentamente éter etílico (24 l), la suspensión obtenida se deja reposar durante una hora y luego se filtra. El sólido se lava con éter etílico (2x250 ml) y se seca sobre el filtro durante aproximadamente una hora dando 36 g del compuesto (I). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 9,45-7,23 (m, 28H), 3,77-3,58 (m, 36H) ppm.

30 RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 160,5, 160,4, 160,3, 157,9, 154,4, 154,1, 153,9, 153,5, 153,2, 153,1, 153,0, 152,7, 152,5, 151,9, 150,6, 150,5, 150,2, 149,6, 149,5, 149,1, 142,0, 141,9, 141,8, 132,1, 131,3, 129,4, 129,3, 129,1, 127,7, 127,5, 123,0, 122,8, 122,7, 120,7, 120,4, 118,6, 118,2, 118,0, 117,6, 116,5, 114,7, 113,4, 111,0, 57,3, 57,2 ppm.

35 UV-vis (DMF) λ<sub>máx</sub> (%): 690(100), 621(16), 391(17), 327(17).

UV-vis (H<sub>2</sub>O) λ<sub>máx</sub> (%): 691(100), 643(49), 331(45).

ESI-EM:  $m/z$  294,1 [(M-4Cl)<sup>4+</sup>] en modo positivo

HRMS:  $m/z$  294,1114 [(M-4Cl)<sup>4+</sup>] en modo positivo. Δ = 1,08 ppm de la masa teórica de C<sub>68</sub> H<sub>64</sub> N<sub>12</sub> O<sub>4</sub> Zn

Distribución de isómeros: A = 6,5 %, B < 0,2 %, C = 62,0 %, D = 31,5 %.

40

## Ejemplo 2

**[0041]**

- A partir de un lote del compuesto (II) con la siguiente distribución de isómeros:

45 A = 8,6 %, B = 4,0 %, C+D = 87,4 %;

- Realizar la purificación por cromatografía (etapa ii)) como se describe:

Se disuelven 28,6 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc (II) en 192 ml de una mezcla de eluyentes X/Y 3/1 en la que X = DCM/THF/MeOH 94/5/1 e Y = *n*-hexano. La muestra se carga en una columna cromatográfica (d = 100 mm, h = 460 mm) rellena de gel de sílice Davisil 60 (40-63 μm) acondicionado con X/Y 3/1. La elución (flujo: 130 ml/min) se realiza con X/Y 3/1 hasta que se eluye todo el isómero B, entonces la relación de la mezcla X/Y se lleva a 4/1 y así se mantiene para la elución de los isómeros C, D y A. Las fracciones seleccionadas se recogen y se secan dando 23,2 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (III), obteniéndose la siguiente distribución de isómeros: A = 7,8 %, B = 0,3 %, C+D = 91,9 %;

50 - Realizar las etapas iii) y iv) en este lote del compuesto (III):

Se obtiene un lote del compuesto (I) con la siguiente distribución de isómeros: A = 8,2 %, B = 0,4 %, C = 65,5 %, D = 25,9 %.

## Ejemplo 3

60

**[0042]**

- A partir de un lote del compuesto (II) con la siguiente distribución de isómeros:

65 A = 7,9 %, B = 9,9 %, C+D = 82,2 %;

- Realizar la purificación por cromatografía (etapa ii)) como se describe:

Se disuelven 40,0 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc (II) en 192

ml de una mezcla de eluyentes X/Y 3/1 en la que X = DCM/THF/MeOH 94/5/1 e Y = *n*-hexano. La muestra se carga en una columna cromatográfica (d = 100 mm, h = 460 mm) rellena de gel de sílice Davisil 60 (20-45 µm) acondicionado con X/Y 3/1. La elución (flujo: 130 ml/min) se realiza con X/Y 3/1 hasta que se eluye todo el isómero B, entonces la relación de la mezcla X/Y se lleva a 4/1 y así se mantiene para la elución de los isómeros C, D y A. Las fracciones seleccionadas se recogen y se secan dando 30,1 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (III), obteniéndose la siguiente distribución de isómeros: A = 7,5 %, B = 0,3 %, C+D = 92,2 %;

- Realizar las etapas iii) y iv) en este lote del compuesto (III):

Se obtiene un lote del compuesto (I) con la siguiente distribución de isómeros: A = 7,8 %, B = 0,3 %, C = 64,9 %, D = 27,0 %.

#### Ejemplo 4

##### [0043]

- A partir de un lote del compuesto (II) con la siguiente distribución de isómeros:

A = 7,7 %, B = 4,4 %, C+D = 87,9 %;

- Realizar la purificación por cromatografía (etapa ii)) como se describe:

Se disuelven 49,6 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc (II) en 235 ml de una mezcla de eluyentes X/Y 3/1 en la que X = DCM/THF/MeOH 94/5/1 e Y = *n*-hexano. La muestra se carga en una columna cromatográfica (d = 100 mm, h = 460 mm) rellena de gel de sílice Davisil 60 (20-45 µm) acondicionado con X/Y 3/1. La elución (flujo: 130 ml/min) se realiza con X/Y 3/1 hasta que se eluye todo el isómero B, entonces la relación de la mezcla X/Y se lleva a 4/1 y así se mantiene para la elución de los isómeros C, D y A. Las fracciones seleccionadas se recogen y se secan dando 38,2 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (III), obteniéndose la siguiente distribución de isómeros: A = 7,6 %, B = 0,9 %, C+D = 91,5 %;

- Realizar las etapas iii) y iv) en este lote del compuesto (III):

Se obtiene un lote del compuesto (I) con la siguiente distribución de isómeros: A = 5,6 %, B = 0,9 %, C = 61,4 %, D = 32,1 %.

#### Ejemplo 5

##### [0044]

- A partir de un lote del compuesto (II) con la siguiente distribución de isómeros:

A = 7,0 %, B = 4,6 %, C+D = 88,4 %;

- Realizar la purificación por cromatografía (etapa ii)) como se describe:

Se disuelven 32,0 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc (II) en 288 ml de diclorometano. La muestra se carga en una columna cromatográfica (d = 100 mm, h = 460 mm) rellena de gel de sílice Davisil 60 (40-63 µm) y acondicionado con X/Y 3/1. La elución (flujo: 130 ml/min) se realiza en modo isocrático con la fase móvil X/Y 3/1, las fracciones seleccionadas se recogen y se secan dando 30,1 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (III), obteniéndose la siguiente distribución de isómeros: A = 6,2 %, B < 0,1 %, C+D = 93,8 %;

- Realizar las etapas iii) y iv) en este lote del compuesto (III):

Se obtiene un lote del compuesto (I) con la siguiente distribución de isómeros: A = 6,4 %, B = 0,2 %, C = 55,8 %, D = 37,6 %.

#### Ejemplo 6

##### [0045]

- A partir de un lote del compuesto (II) con la siguiente distribución de isómeros:

A = 6,9 %, B = 7,8 %, C+D = 85,3 %;

- Realizar tres purificaciones por cromatografía (etapa ii) a,b,c) en la misma fase estacionaria, como se describe:

a) Se disuelven 17,6 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc (II) en 256 ml de diclorometano. La muestra se carga en una columna cromatográfica (d = 100 mm, h = 460 mm) rellena de gel de sílice Davisil 60 (40-63 µm) acondicionado con X/Y 3/1. La elución (flujo: 130 ml/min) se realiza en modo isocrático con la fase móvil X/Y 3/1, las fracciones seleccionadas se recogen y se secan dando 13,1 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (III), obteniéndose la siguiente distribución de isómeros: A = 5,1 %, B < 0,2 %, C+D = 94,9 %;

b) Después de un lavado de la columna con 16 l de fase móvil X/Y 3/1, se realiza el segundo ciclo: se disuelven 14,4 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc (II) en 256 ml de diclorometano. La muestra se carga en una columna cromatográfica (d = 100 mm, h = 460 mm) rellena de gel de sílice Davisil 60 (40-63 µm) y acondicionado con X/Y 3/1. La elución (flujo: 130



ml/min) se realiza en modo isocrático con la fase móvil X/Y 3/1, las fracciones seleccionadas se recogen y se secan dando 10,2 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (III), obteniéndose la siguiente distribución de isómeros: A = 3,5 %, B = 0,5 %, C+D = 96,0 %;

c) Después de un lavado de la columna con 16 l de fase móvil X/Y 3/1, se realiza la tercera serie: se disuelven 11,2 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc (II) en 256 ml de diclorometano. La muestra se carga en una columna cromatográfica (d = 100 mm, h = 460 mm) rellena de gel de sílice Davisil 60 (40-63 µm) y acondicionada con X/Y 3/1. La elución (flujo: 130 ml/min) se realiza en modo isocrático con la fase móvil X/Y 3/1, las fracciones seleccionadas se recogen y se secan dando 7,9 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (III), obteniéndose la siguiente distribución de isómeros: A = 3,5 %, B = 0,5 %, C+D = 96,0 %;

- Realizar las etapas iii) y iv) en los lotes de compuesto (III) obtenidos de la etapa ii a, b, c. Se obtienen tres lotes compuesto (I) con la siguiente distribución de isómeros:

a) A = 4,8 %, B ≤ 0,2 %, C = 56,9 %, D = 38,2 %;  
 b) A = 3,2 %, B = 0,4 %, C = 57,2 %, D = 39,2 %;  
 c) A = 3,3 %, B = 0,5 %, C = 56,8 %, D = 39,4 %.

## Ejemplo 7

### [0046]

- A partir de un lote del compuesto (II) con la siguiente distribución de isómeros:

A = 6,7 %, B = 6,5 %, C+D = 86,8 %;

- Realizar la purificación por cromatografía (etapa ii) como se describe:

Se disuelven 1,8 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc (II) en 12 ml de una mezcla de eluyentes X/Y 3/1 en la que X = DCM/THF/MeOH 94/5/1 e Y = n-hexano. La muestra se carga en una columna pre-rellena cromatográfica (cartucho SNAP KP-Sil de Biotage, gel de sílice 100 g, malla 40-63 µm) pre-acondicionada con X/Y 3/1. La elución (flujo: 40 ml/min) se realiza con X/Y 3/1 hasta que se eluye todo el isómero B, entonces la relación de la mezcla X/Y se lleva a 4/1 y así se mantiene para la elución de los isómeros C, D y A. Las fracciones seleccionadas se recogen y se secan dando 1,4 g de ftalocianinato de [1,8(11),15(18),22(25)-tetraquis-(3-N,N-dimetilaminofenoxi)]cinc "con bajo contenido del isómero B" (III), obteniéndose la siguiente distribución de isómeros: A = 7,4 %, B = 0,4 %, C+D = 92,2 %;

- Realizar las etapas iii) y iv) en este lote del compuesto (III):

Se obtiene un lote del compuesto (I) con la siguiente distribución de isómeros: A = 7,6 %, B = 0,5 %, C = 62,6 %, D = 29,3 %.

## Ejemplo 8

Prueba experimental de la dificultad de la preparación de disoluciones de (II), debido a la baja solubilidad del isómero B.

[0047] Se solubilizan dos muestras del mismo lote de producto intermedio (II) (2 mg/ml) en DMF y THF/MeOH 1/1. Las disoluciones se diluyen apropiadamente y se analizan en HPLC. Como se muestra en la Tabla 1, y en la Fig. 4, las dos muestras tienen un porcentaje diferente de isómero B, que es mucho menor en la muestra que procede de la disolución en THF/MeOH 1/1. Esto es debido a la precipitación del isómero B en la disolución de THF/MeOH 1/1, como consecuencia de la menor solubilidad del isómero B en comparación con los otros isómeros. Este comportamiento puede conducir a la preparación de muestras que tienen composición variable y, por último lugar, a la producción de datos analíticos no fiables que incluyen aquellos referentes a los otros isómeros

**Tabla 1.** Análisis de HPLC de la distribución de isómeros de dos muestras del mismo lote del compuesto (II)

% de isómeros	Compuesto (II) de la disolución madre 2 mg/ml en DMF An. N. 0315/09	Compuesto (II) de la disolución madre 2 mg/ml en THF/MeOH (1:1) An. N. 0315/09
% de A	A: 5,9 %	A: 6,7 %
% de C+D	C+D: 79,2 %	C+D: 86,7 %
% de B	B: 14,9 %	B: 6,6 %

## Ejemplo 9

[0048] Demostración de la no resolución entre los picos de HPLC de los isómeros B y C del compuesto (VI) La Fig. 5 compara los cromatogramas de HPLC con respecto a la distribución de isómeros de una muestra de compuesto (VI) (5a) y de una muestra de compuesto (I) (5b). Es evidente que la resolución entre los picos con respecto a los isómeros B y C no es completa; cuando la presencia del isómero B es más del 1 %, se introduce un error no

despreciable en la cuantificación de las abundancias de los isómeros, haciendo que el método descrito sea inadecuado para la caracterización de lotes de un principio activo. En cambio, el problema no existe si un lote del compuesto (I) se analiza, ya que la cantidad muy pequeña del isómero B genera un error de estimación despreciable de la relación de los isómeros A, C y D.

5 [0049] El compuesto de fórmula (I), preparado como se describe, puede usarse como principio activo en la preparación de composiciones farmacéuticas, incluidas aquellas que pretenden ser usadas para terapia fotodinámica, que comprenden, en combinación con el principio activo anteriormente dicho, excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Estas composiciones farmacéuticas pueden pretender ser usadas para 10 tanto administración sistémica como tópica a seres humanos y animales y pueden estar en disolución, suspensión, crema, pomada, gel o forma de espray. También es posible la administración de composición de liberación controlada. Estas composiciones farmacéuticas también pueden contener un agente quelante de metales, teniendo preferentemente los agentes quelantes de metales especificidad por los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ .

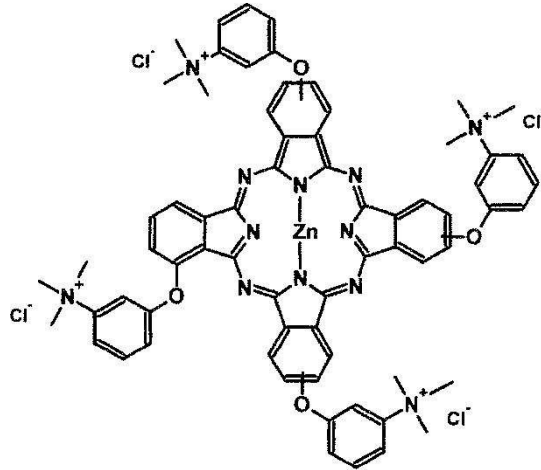
15 [0050] En una condición particularmente preferida, dicho agente quelante de metales está seleccionado del grupo que consiste en ácido etilendiamina-N,N,N',N'-tetraacético (EDTA), ácido 1,2-diaminociclohexano-N,N,N',N'-tetraacético (CDTA) y ácido dietilentriaminapentaacético (DTPA).

20 [0051] Debido al mecanismo de acción no específico (multi-diana), las composiciones farmacéuticas anteriormente dichas, que contienen el derivado de ftalocianina de fórmula (I), pueden pretender ser usadas para tratamiento fotodinámico de diversas patologías (infecciones microbianas, enfermedades hiperproliferativas, psoriasis, queratosis actínica y patologías pre-tumorales o tumorales). En una condición particularmente preferida, las composiciones farmacéuticas que contienen el derivado de ftalocianina de fórmula (I) pretenden ser usadas para el 25 tratamiento fotodinámico preventivo o curativo de infecciones microbianas.

[0052] Finalmente, el derivado de fórmula (I) también puede usarse como componente de dispositivos médicos, en particular en la desinfección de heridas, como agente de esterilización, también *ex vivo*, y como agente de diagnóstico *in vivo*.

REIVINDICACIONES

1. Proceso para la preparación de un derivado de fórmula (I)



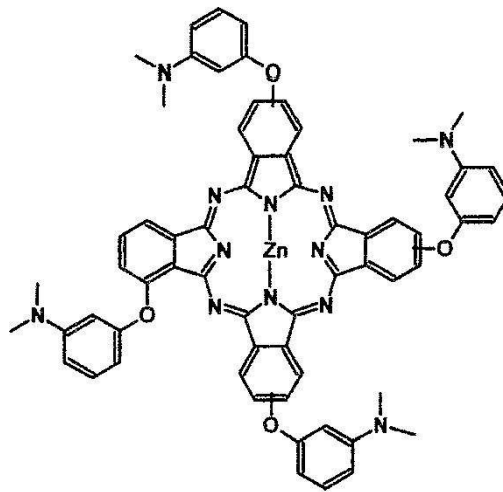
(con bajo contenido en isómero B)

(I)

5

que consiste en 4 isómeros: A, B, C y D identificados según las clases de simetría  $D_{2h}$ ,  $C_{4h}$ ,  $C_s$ ,  $C_{2v}$  respectivamente, en el que el isómero B es  $\leq 1$  % en peso y el isómero A es  $\leq 12,5$  % en peso que comprende una purificación cromatográfica del compuesto de fórmula (II)

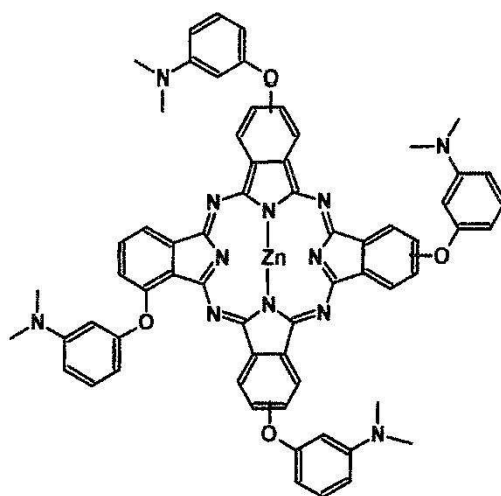
10



(distribución de isómeros por estadística)

(II)

para dar el producto intermedio de amina de fórmula (III)



(con bajo contenido del isómero B)

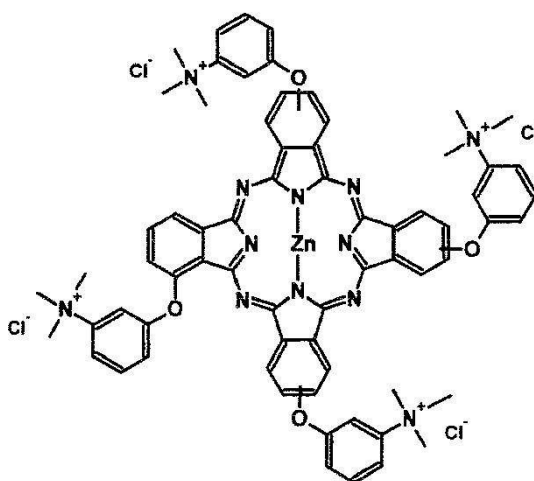
(III)

en el que dicha purificación cromatográfica se lleva a cabo usando una columna cromatográfica en la que la fase estacionaria es gel de sílice hecho de partículas de gel de sílice formadas irregularmente o de forma esférica, con tamaño de partícula en el intervalo 5-75  $\mu\text{m}$  y tamaño de poro en el intervalo 60-150 Angstrom y en el que la fase móvil consiste en dos fases X e Y en la que X consiste en una mezcla 94/5/1 de diclorometano/tetrahidrofurano/metanol e Y consiste en *n*-hexano o *n*-heptano y la elución se realiza eluyendo con X/Y 3/1 en condiciones isocráticas.

- 5
- 10 **2.** Proceso según la reivindicación 1, en el que dicha elución, una vez empieza la elución de los isómeros C y D, va seguida de elución con X/Y 4/1 hasta que se completa la elución del isómero A.

**3.** Proceso según las reivindicaciones 1 y 2, en el que la fase estacionaria se usa para más de un ciclo cromatográfico.

- 15 **4.** Derivado de ftalocianina de fórmula (I)



(con bajo contenido del isómero B)

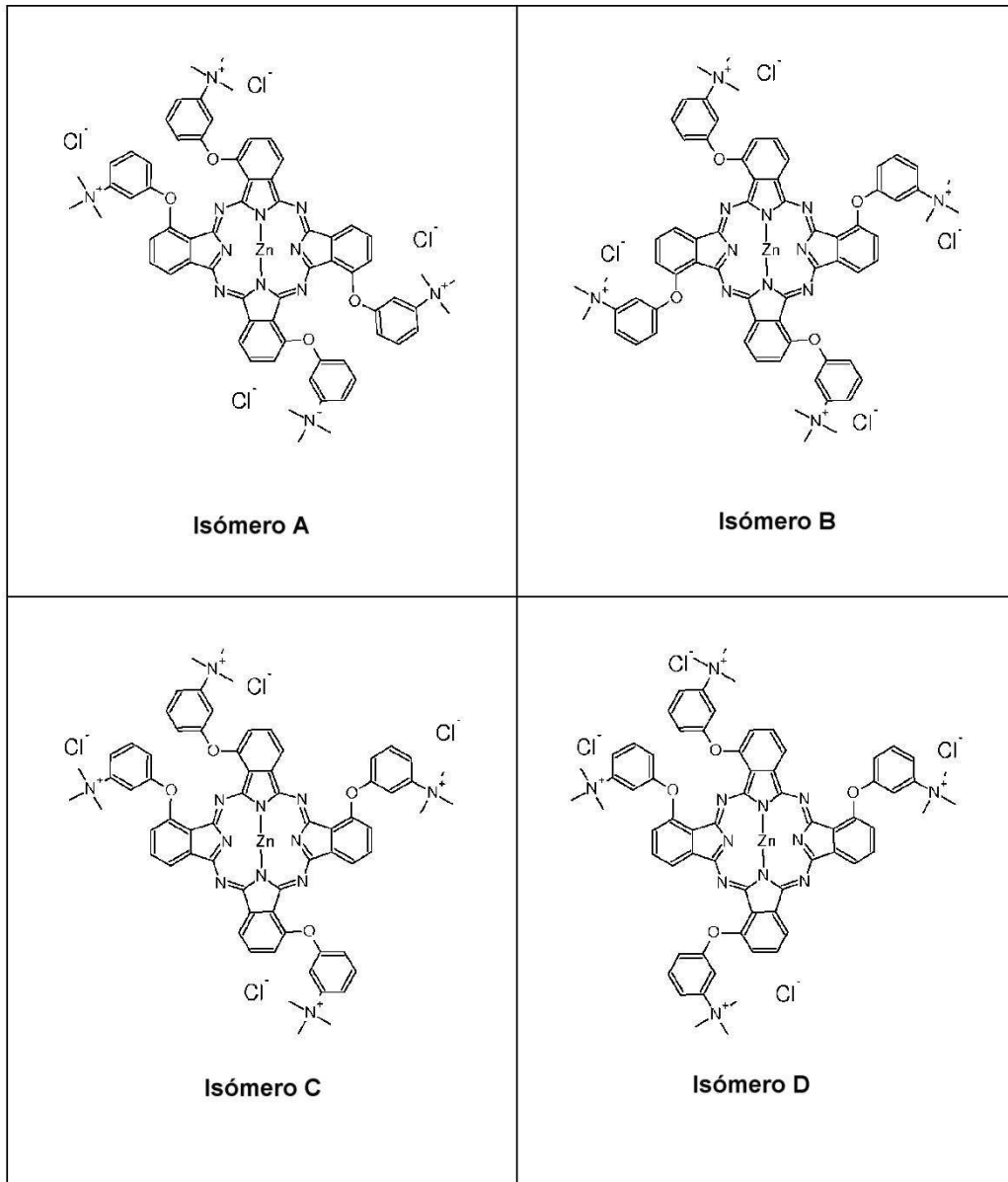
(I)

- 20 en el que el isómero B es  $\leq 1\%$  en peso y el isómero A es  $\leq 12,5\%$  en peso obtenido mediante un proceso según la reivindicación 1.

**5.** Derivado de ftalocianina de fórmula (I) según la reivindicación 4, en el que el isómero B es  $\leq 0,2\%$  en peso y el isómero A es  $\leq 12,5\%$  en peso.

25

6. Derivado de ftalocianina de fórmula (I) según la reivindicación 5, en el que los isómeros A/C/D están presentes en los siguientes contenidos relativos: 5,5-7,0 % / 56,0-63,5 % / 30,0-38,0 %.
- 5 7. Composiciones farmacéuticas que comprenden como principio activo un derivado de ftalocianina de fórmula (I) según las reivindicaciones 4 - 6 en combinación con excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables, posiblemente en combinación con agentes quelantes.
- 10 8. Compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 4 - 6 para su uso en el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas, psoriasis, queratosis actínica y patologías pre-tumorales o tumorales.
- 15 9. Compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 4 - 6 para su uso en el tratamiento por PDT de enfermedades hiperproliferativas, psoriasis, queratosis actínica y patologías pre-tumorales o tumorales.
- 10 11. Compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 4 - 6 para su uso en el tratamiento preventivo o curativo de infecciones microbianas.
- 20 12. Compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 4 - 6 para su uso en el tratamiento fotodinámico preventivo o curativo de infecciones microbianas.
- 25 13. Compuesto según la reivindicación 12 en el que dichos dispositivos médicos son para la desinfección de heridas, como agente de esterilización, también *ex vivo*, y como agente de diagnóstico *in vivo*.
14. Compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 4 - 6 para su uso en el tratamiento preventivo o curativo de infecciones microbianas en animales.



**Figura 1**

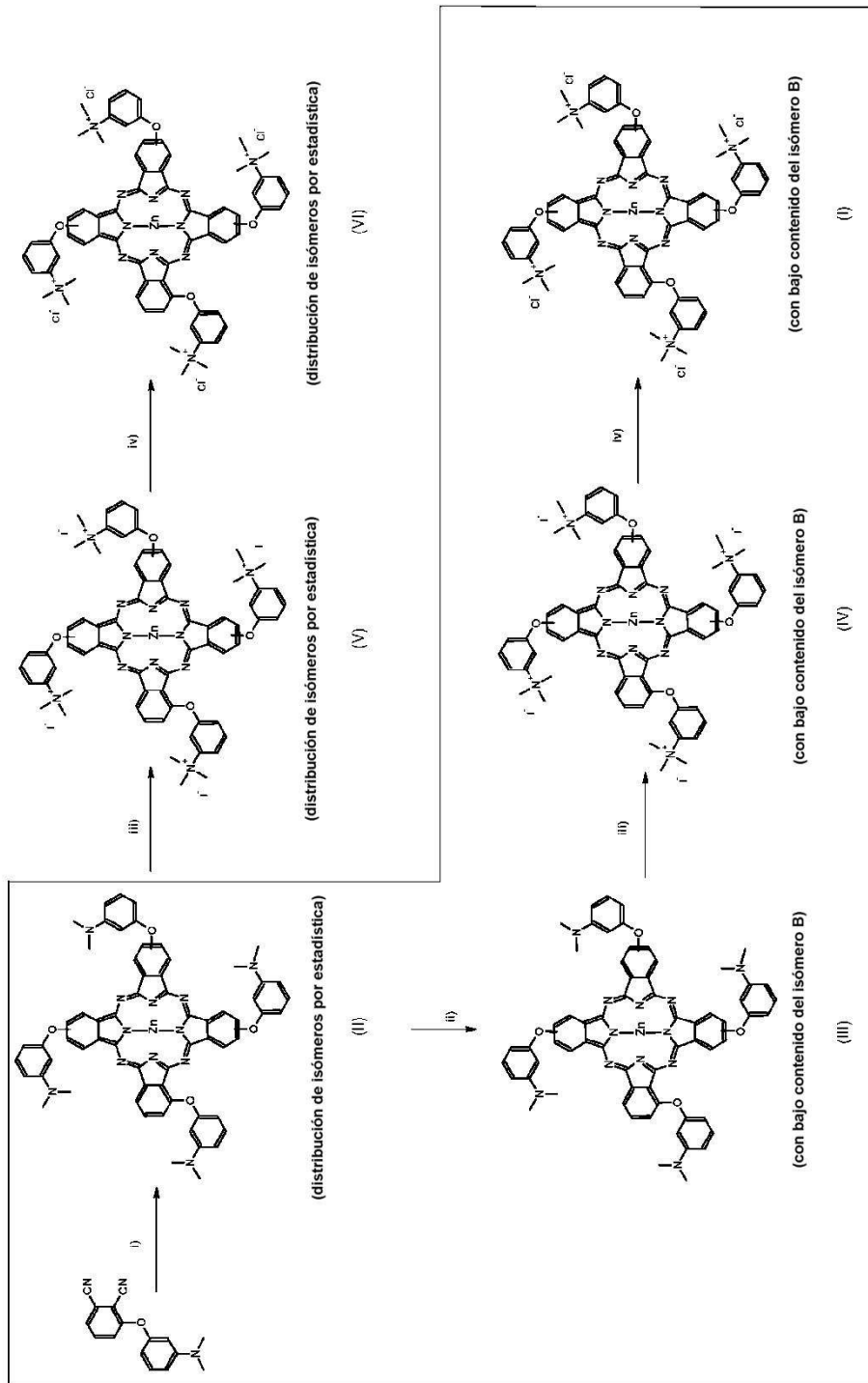
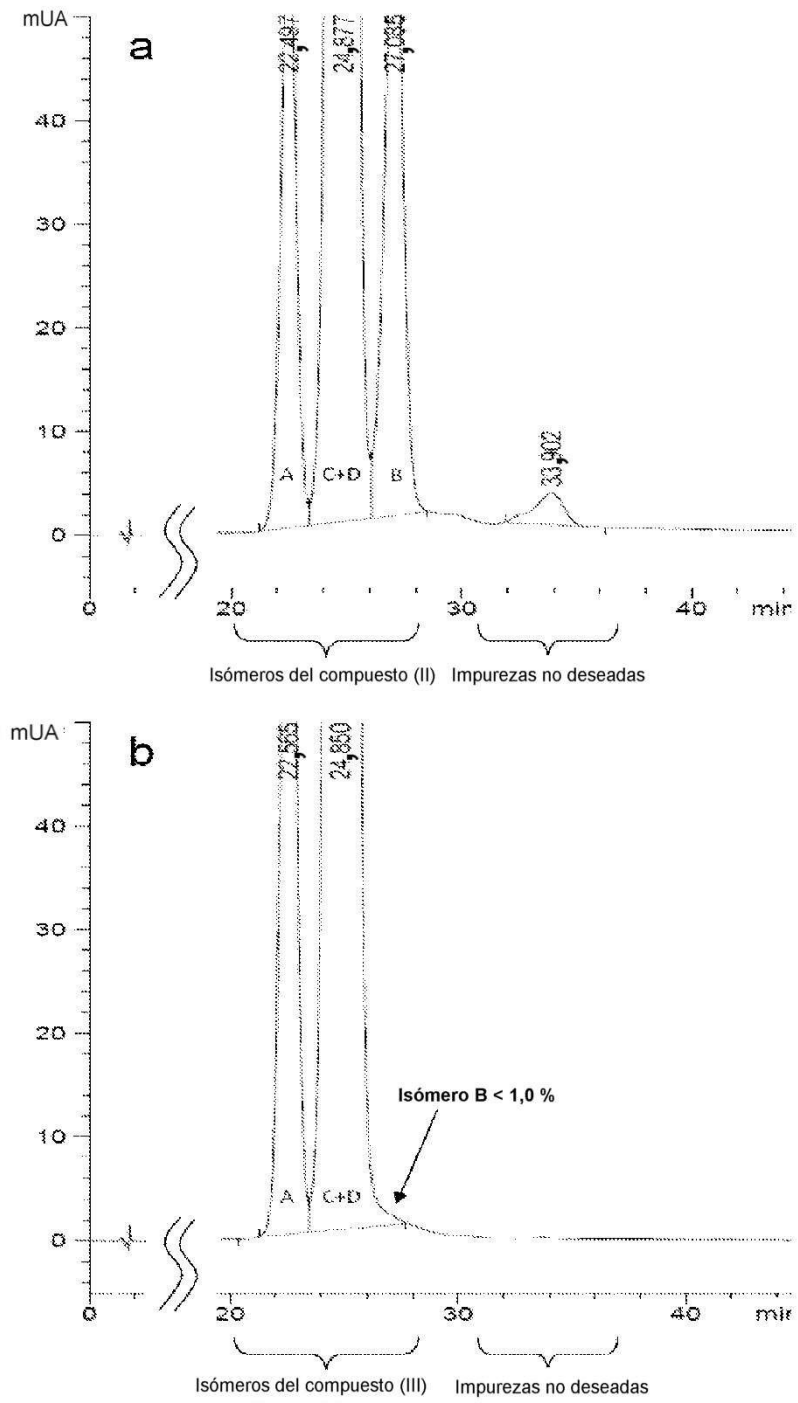


FIGURA 2



**FIGURA 3**



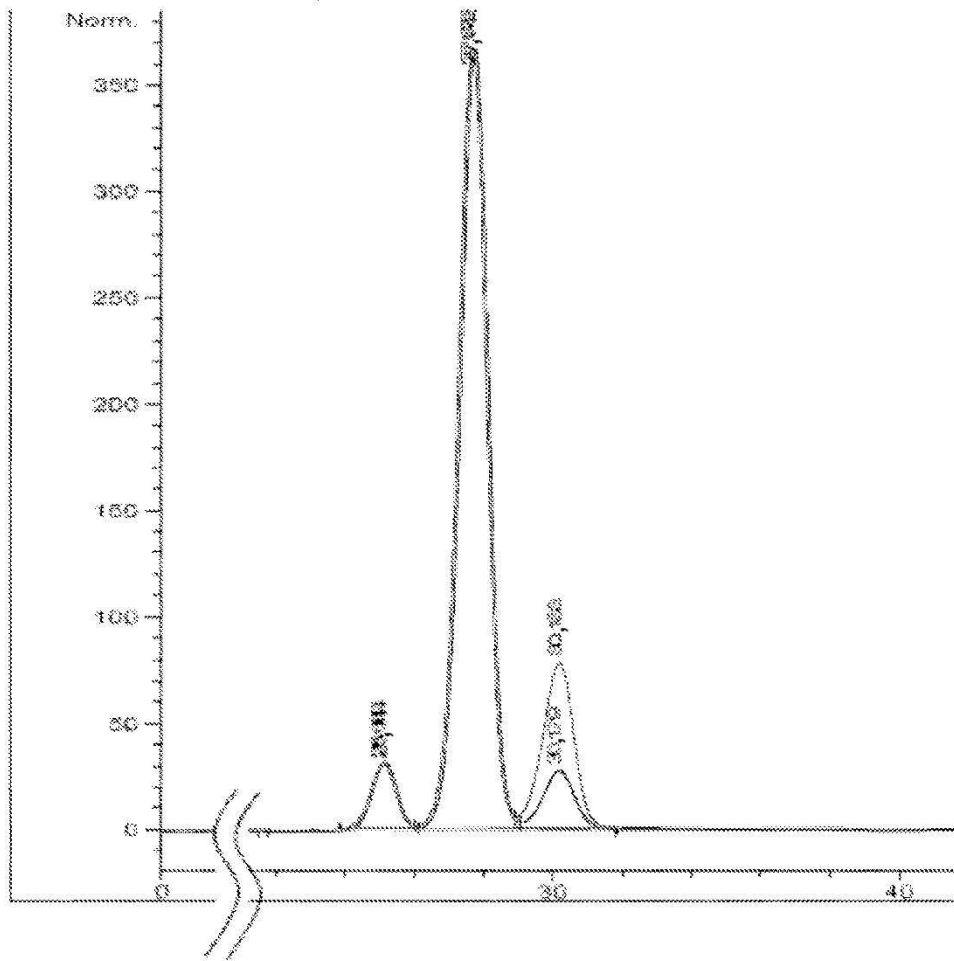


FIGURA 4

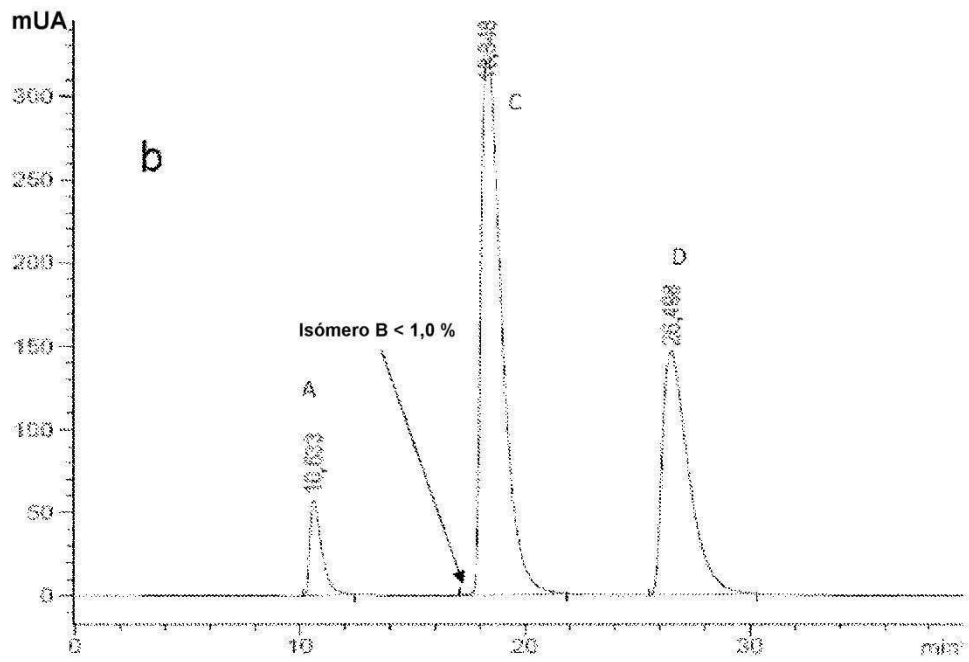
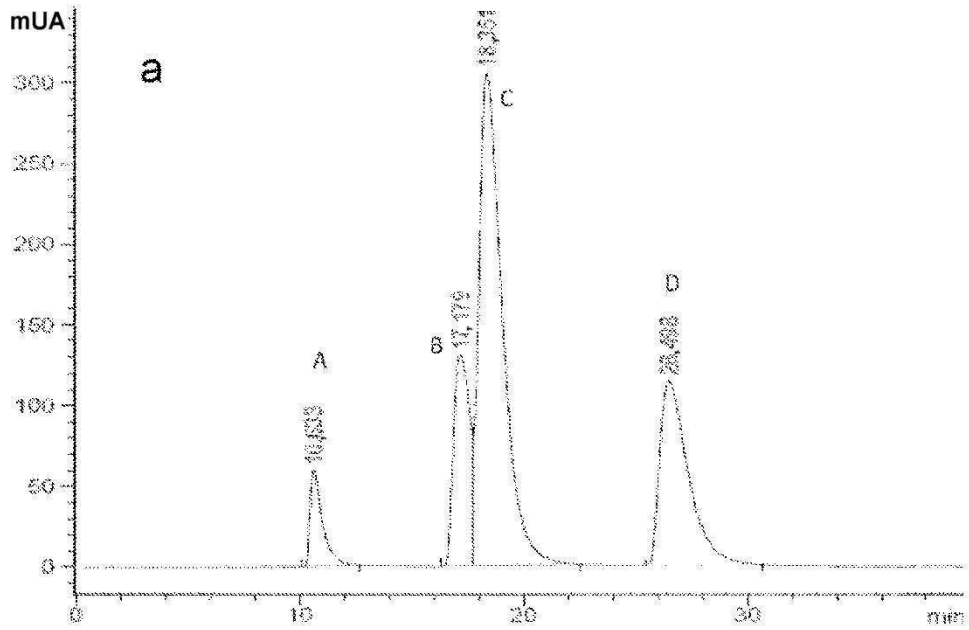


FIGURA 5