

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 110**

51 Int. Cl.:

C07D 487/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.03.2012 PCT/US2012/031557**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012 WO12135686**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2012 E 12765367 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.09.2016 EP 2691398**

54 Título: **Procedimientos de síntesis de mesoporfirinas metálicas**

30 Prioridad:

30.03.2011 US 201161469791 P
30.03.2011 US 201161469792 P
08.09.2011 US 201161532301 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.04.2017

73 Titular/es:

INFACARE PHARMACEUTICAL CORPORATION
(100.0%)
8 Neshaminy Interplex Suite 221
Trevose, PA 19053, US

72 Inventor/es:

BOUCHER, CHRISTOPHER P. y
ROE, DAVID

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 609 110 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

Procedimientos de síntesis de mesoporfirinas metálicas

B. Referencia cruzada a solicitudes relacionadas:

5 Esta solicitud reivindica la prioridad de las solicitudes de patente provisional de Estados Unidos N.º 61/469.791 presentada el 30 de marzo de 2011, N.º 61/469.792 presentada el 30 de marzo de 2011, y N.º 61/532.301 presentada el 08 de septiembre de 2011 y titulada, cada una de ellas, "Methods for Synthesizing Metal Mesoporphyrins".

C. Intereses del gobierno: No aplicable

D. Partes de un acuerdo de investigación conjunta: No aplicable

E. Incorporado como referencia de material suministrado en un disco compacto: No aplicable

F. Antecedentes:

El documento WO 2008/045377 se refiere a composiciones a gran escala (a granel) que comprenden estansoporfina de alta pureza, así como a los procedimientos para sintetizar este tipo de composiciones.

15 Zvezdina y col. (Russian Journal of Inorganic Chemistry, 2006, Vol. 51, n.º 1, pp. 112-117) describe un estudio sobre transmetalación de ftoporfirina de cadmio (CdPP) con cloruro de cinc en dimetilsulfóxido (DMSO) y con cloruro de cobalto en acetonitrilo.

G. Breve resumen de la invención

Las realizaciones descritas en el presente documento están dirigidas por lo general a procedimientos para sintetizar compuestos de mesoporfirina de cinc.

20 En algunos aspectos, un procedimiento para sintetizar un compuesto de mesoporfirina de estaño comprende transmetalación de hemina e hidrogenar la protoporfirina de estaño IX. En algunas realizaciones, la hemina se transmetalada en presencia de sulfato ferroso. En algunas realizaciones, la protoporfirina metálica IX se hidrogena usando hi diluido, dimetil formamida o n-metil pirrolidinona. En algunas realizaciones, la mesoporfirina de cinc se precipita usando metil terc-butil éter (MTBE). El estaño es el metal insertado. En realizaciones, el estaño se inserta en la mesoporfirina para preparar estansoporfina usando óxido de estaño, cloruro de estaño, sulfato de estaño, bromuro de estaño, oxalato de estaño, pirofosfato de estaño hidratado, 2-etilhexanoato de estaño, ácido estañometanosulfónico, o trifluorometanosulfonato de estaño.

30 En algunos aspectos, un procedimiento para sintetizar un compuesto de mesoporfirina de estaño comprende formar un éster metílico de protoporfirina a partir de hemina y convertir el éster metílico de protoporfirina en un compuesto de mesoporfirina de estaño mediante inserción de estaño e hidrogenación. En algunas realizaciones, la inserción de estaño proporciona un compuesto intermedio de éster dimetílico de protoporfirina de estaño. En realizaciones adicionales, el éster dimetílico de protoporfirina de estaño se hidrogena en diclorometano sobre un catalizador de paladio para formar un éster dimetílico de mesoporfirina de estaño. En realizaciones, el éster dimetílico de mesoporfirina de estaño se calienta en hidróxido de amonio diluido para formar el compuesto de mesoporfirina de estaño. El estaño es el metal insertado. En realizaciones, el estaño se inserta en la mesoporfirina para preparar estansoporfina usando óxido de estaño, cloruro de estaño, sulfato de estaño, bromuro de estaño, oxalato de estaño, pirofosfato de estaño hidratado, 2-etilhexanoato de estaño, ácido estañometanosulfónico, o trifluorometanosulfonato de estaño.

H. Descripción de los dibujos

40 Para una comprensión más completa de la naturaleza y las ventajas de la presente invención, se debe hacer referencia a la siguiente descripción detallada tomada junto con los dibujos que la acompañan, en los que:

La **Figura 1** ilustra una síntesis a baja temperatura y exenta de oxígeno de la estansoporfina y cada componente de la síntesis.

La **Figure 2** ilustra una síntesis oxidativa de estansoporfina a temperatura de reflujo.

La **Figura 3** ilustra la estructura de la estansoporfina (B992).

45 La **Figura 4** ilustra la estructura de los compuestos intermedios de monovinilo (A) CJ9 y (B) CKO.

La **Figura 5** ilustra la estructura de la protoporfirina de estaño (CH8).

I. Descripción detallada

50 Antes de describir las presentes composiciones y procedimientos, se debe entender que la presente invención no se limita a los procedimientos, composiciones o metodologías concretas descritas, ya que estas pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en la descripción tiene el fin de describir las versiones particulares o las realizaciones solamente, y no se pretende limitar el alcance de la presente invención, es estará solamente limitada por las reivindicaciones adjuntas.

Salvo que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen

- el mismo significado que entiende comúnmente una persona normalmente experta en la materia. Aunque se pueden usar cualesquiera procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento para llevar a la práctica o en el ensayo de las realizaciones de la presente invención, se describen ahora los procedimientos, dispositivos y materiales preferidos. Nada en el presente documento debe tomarse como una admisión de que la invención no tiene el derecho de anteceder a la divulgación en virtud de la invención anterior.
- También debe señalarse que, tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno", y "el" incluyen las referencias plurales salvo que el contexto indique claramente otra cosa. De esta manera, por ejemplo, la referencia a un "compuesto" es una referencia a uno o más compuestos y equivalentes de los mismos conocidos de los expertos en la técnica, y así sucesivamente.
- Tal como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" significa más o menos el 10 % del valor numérico del número para el que se está utilizando. Por lo tanto, aproximadamente un 50 % significa en el intervalo de 45 %-55 %.
- Por "farmacéuticamente aceptable", se entiende que el transportador, diluyente o excipiente debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para su destinatario.
- La divulgación también se dirige a una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en el presente documento y un transportador o diluyente farmacéuticamente aceptable, o una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en el presente documento y un transportador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- Las realizaciones del presente documento se refieren por lo general a procedimientos novedosos para la preparación de haluros de mesoporfirina de estaño. En realizaciones, se puede formar un compuesto de mesoporfirina de cinc mediante la transmetalación de hemina y posterior hidrogenación de la protoporfirina de estaño para formar un haluro de mesoporfirina de estaño. En otras realizaciones, un procedimiento para sintetizar un haluro de mesoporfirina de estaño comprende formar un éster metílico de protoporfirina a partir de hemina y convertir el éster metílico de protoporfirina en un haluro de mesoporfirina de estaño mediante inserción de estaño e hidrogenación.
- El dicloruro de mesoporfirina IX de estaño (IV) o estansoporfina es un compuesto químico que tiene la estructura indicada en la FIG. 3. Se ha propuesto para su uso, por ejemplo, como medicamento para el tratamiento de varias patologías incluidas, por ejemplo, psoriasis e ictericia infantil. La estansoporfina también puede inhibir el metabolismo del grupo hemo en mamíferos, para controlar la velocidad del metabolismo del triptófano en mamíferos, y para aumentar la velocidad con la que el grupo hemo se excreta en mamíferos.
- La inserción de metal en el dicloruro de mesoporfirina IX para obtener el haluro de mesoporfirina metálica se describen con especial referencia al estaño, para preparar estansoporfina, una sustancia farmacéuticamente activa conocida y una realización preferida específica de la invención.
- En realizaciones, se puede formar un compuesto de mesoporfirina de cinc mediante la transmetalación de hemina y posterior hidrogenación de la protoporfirina IX de estaño para formar un haluro de mesoporfirina de estaño. En realizaciones, la hemina se transmetalada con estaño para formar protoporfirina de estaño, seguido de hidrogenación en un disolvente, tal como n-metil pirrolidinona, hidróxido de amonio diluido, o dimetil formamida. En algunas realizaciones, la hemina se puede someter a transmetalación con o sin la adición de sulfato ferroso. En algunas realizaciones, la hemina transmetalada se trata con carbón activo. En algunas realizaciones, el producto se aísla tras la hidrogenación mediante la adición de ácido acético o ácido clorhídrico. En algunas realizaciones, el producto final se precipita usando MTBE. En algunas realizaciones, el producto se purifica adicionalmente mediante cromatografía.
- En otras realizaciones, un procedimiento para sintetizar un haluro de mesoporfirina de estaño comprende formar un éster metílico de protoporfirina a partir de hemina y convertir el éster metílico de protoporfirina en un haluro de mesoporfirina de estaño mediante inserción de estaño e hidrogenación. Para formar el éster metílico, hemina, piridina, y diclorometano se puede agitar para formar una solución. A continuación se pueden añadir sulfato ferroso, metanol, diclorometano y HCl gaseoso para formar una reacción exotérmica. En realizaciones, la reacción exotérmica se puede mantener a continuación a temperatura de reflujo durante un periodo de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 5 horas. En realizaciones, la reacción se puede lavar adicionalmente con agua e hidróxido de amonio diluido para formar el éster metílico de protoporfirina. En algunas realizaciones, el estaño se puede insertar en el éster metílico de protoporfirina usando óxido de cinc, cloruro de estaño, sulfato de estaño, bromuro de estaño, oxalato de estaño, pirofosfato de estaño hidratado, 2-etilhexanoato de estaño, ácido estañometanosulfónico, o trifluorometanosulfonato de estaño. En realizaciones, el éster dimetílico de protoporfirina de estaño se puede hidrogenar usando un catalizador metálico adecuado en una atmósfera de hidrógeno para formar un éster dimetílico de mesoporfirina de estaño. En algunas realizaciones, el éster dimetílico de mesoporfirina de estaño se puede hidrogenar para formar el éster dimetílico de mesoporfirina de estaño. En realizaciones, un haluro de mesoporfirina de estaño se puede formar mediante calentamiento del éster dimetílico de mesoporfirina de estaño en hidróxido de amonio diluido. En algunas realizaciones, la estansoporfina se puede formar a partir del éster dimetílico de mesoporfirina de estaño mediante el calentamiento del material de aproximadamente 70 °C a aproximadamente 80 °C en hidróxido de amonio diluido. Por ejemplo, la estansoporfina se puede formar, por ejemplo, mediante el

calentamiento del éster dimetílico de mesoporfirina de estaño a aproximadamente 75 °C en hidróxido de amonio diluido. En algunas realizaciones, el producto se puede purificar adicionalmente mediante cromatografía.

También se describe un procedimiento para sintetizar un haluro de mesoporfirina de estaño que comprende formar un compuesto intermedio de diclorhidrato de mesoporfirina IX y convertir el compuesto intermedio de diclorhidrato de mesoporfirina IX en un haluro de mesoporfirina metálico mediante inserción de metal. La hemina se puede hidrogenar en ácido fórmico, con un catalizador metálico adecuado bajo atmósfera de hidrógeno, de aproximadamente t 80 °C a aproximadamente 101 °C durante de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 3 horas. La hidrogenación de la hemina puede continuar durante un tiempo adicional de aproximadamente 24 horas hasta aproximadamente 36 horas de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 60 °C. Por ejemplo, la hemina se puede hidrogenar de aproximadamente 85 °C a aproximadamente 90 °C de aproximadamente 60 psi (414 kPa) de hidrógeno durante de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 2 horas y a continuación de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 50 °C durante de aproximadamente 24 horas a aproximadamente 36 horas. El catalizador metálico puede ser paladio, níquel, platino, paladio sobre carbono, o similares. Tras completar la hidrogenación, la reacción se puede enfriar de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, o de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C, y cargarse opcionalmente con carbón activo en polvo, tal como el que se comercializa con el nombre comercial Darco KB-G. Opcionalmente, la reacción se puede agitar antes de la filtración. La reacción se puede filtrar a través de un secuestrante de metales tal como Hyflo Supercel para eliminar el catalizador. Opcionalmente, la solución de filtrado se puede concentrar a continuación, por ejemplo mediante destilación a vacío. A continuación, se puede añadir una solución de HCl aproximadamente 1 N durante una hora o más para precipitar el producto intermedio. Tras la filtración, el producto se seca bajo una corriente de nitrógeno para proporcionar un diclorhidrato de mesoporfirina IX.

La segunda etapa del procedimiento de acuerdo con una o más realizaciones de la invención se ilustra en la **FIG. 1** como RPA438-03-ES con referencia al estaño como el metal insertado (habitual en la ruta del óxido de estaño). El metal puede comprender estaño, hierro, cinc, cromo, manganeso, cobre, níquel, magnesio, cobalto, platino, oro, plata, arsénico, antimonio, cadmio, galio, germanio, paladio, o similares. El transportador metálico puede ser un transportador de estaño (II). Se pueden usar transportadores de estaño (II) tales como haluros de estaño (II) o acetato de estaño (II). El transportador de estaño puede ser un óxido de estaño, cloruro de estaño, sulfato de estaño, bromuro de estaño, oxalato de estaño, pirofosfato de estaño hidratado, 2-etilhexanoato de estaño, ácido estañometanosulfónico, o trifluorometanosulfonato de estaño. En la ruta habitual del óxido de estaño, el polvo de óxido de estaño (II) se puede suspender en ácido acético. A esta suspensión se puede añadir una suspensión de diclorhidrato de mesoporfirina IX en ácido fórmico bajo atmósfera de nitrógeno y se calentó de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 65 °C. Cuando la reacción está completa, se puede añadir agua lentamente, y la mezcla de reacción se puede enfriar lentamente hasta de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, o de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C, agitarse y filtrarse. La torta de filtro se puede enjuagar con agua, suspenderse en HCl 1 N, y calentarse de aproximadamente 85 °C a aproximadamente 95 °C durante de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 3 horas. La suspensión se puede enfriar de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, o de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C, agitarse y filtrarse y secarse bajo atmósfera de nitrógeno para proporcionar el dicloruro de mesoporfirina IX de estaño.

Por ejemplo, el óxido de estaño (II) (SnO, 1,7 kg) en polvo se puede suspender en aproximadamente 40,5 l de ácido acético de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C y a continuación calentarse de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 65 °C bajo atmósfera de nitrógeno. A esta suspensión se puede añadirse una solución de diclorhidrato de mesoporfirina IX (B991, 2,1 kg) en aproximadamente 10,5 l de ácido fórmico durante un periodo de aproximadamente 6 horas. La reacción se puede llevar a cabo bajo atmósfera de nitrógeno de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 65 °C durante un mínimo de aproximadamente 12 horas. La reacción se puede seguir mediante HPLC. Cuando la reacción está completa, se pueden añadir aproximadamente 17 l de agua durante aproximadamente 0,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a continuación de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C durante aproximadamente 0,5 horas, se agitó durante de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 horas y después se filtró. La torta de filtro se puede enjuagar con agua destilada (USP), suspenderse en HCl aproximadamente 1 N y calentarse de aproximadamente 85 °C a aproximadamente 95 °C durante de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 horas. La suspensión se puede enfriar a continuación de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C, agitarse durante aproximadamente 0,5 horas, filtrarse, enjuagarse con agua destilada (USP) y secarse bajo atmósfera de nitrógeno para proporcionar de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 1,5 kg de dicloruro de mesoporfirina IX (estansoporfina).

El diclorhidrato de mesoporfirina IX se puede someter a calentamiento con un transportador metálico en ácido acético, en presencia de un oxidante, a temperatura de reflujo (procedimiento oxidativo a temperatura de reflujo). El metal puede comprender estaño, hierro, cinc, cromo, manganeso, cobre, níquel, magnesio, cobalto, platino, oro, plata, arsénico, antimonio, cadmio, galio, germanio, paladio, o similares. El transportador metálico puede ser un transportador de estaño (II). Se pueden usar transportadores de estaño (II) tales como haluros de estaño (II) o acetato de estaño (II). El transportador de estaño puede ser un óxido de estaño, cloruro de estaño, sulfato de estaño, bromuro de estaño, oxalato de estaño, pirofosfato de estaño hidratado, 2-etilhexanoato de estaño, ácido estañometanosulfónico, o trifluorometanosulfonato de estaño.

Por ejemplo, el calentamiento se realiza con aireación, por ejemplo, mediante una entrada de oxígeno a aproximadamente un 6 % mezclado con nitrógeno durante de aproximadamente 24 horas aproximadamente 48 horas. La entrada de aire también se puede usar para airear durante el calentamiento. La reacción también se puede llevar a cabo en presencia de contraiones acetato adecuados, incluidos los iones amonio, sodio o potasio. También se pueden usar oxidantes tales como oxígeno del aire en forma pura, así como el peróxido de hidrógeno. Por ejemplo, el formiato de mesoporfirina IX se somete a calentamiento con óxido de estaño (II) en ácido acético, tamponado con acetato de amonio, y la reacción se lleva a cabo con aireación, a temperatura de reflujo. El acetato de amonio se puede eliminar. La mesoporfirina metalada se puede aislar de la mezcla de reacción mediante la adición de agua, seguida de filtración. Antes del secado, la torta se puede diluir con ácido clorhídrico diluido caliente, preferentemente a una concentración de aproximadamente 0,1 N – 6 N y a una elevada temperatura de aproximadamente 90 °C a aproximadamente 100 °C. La reacción puede proporcionar un dicloruro de mesoporfirina IX metálico bruto. La reacción puede proporcionar un dicloruro de mesoporfirina IX de estaño (IV) bruto.

El dicloruro de mesoporfirina así obtenido se puede purificar adicionalmente mediante disolución del producto en una solución acuosa de base inorgánica, preferentemente hidróxido de amonio diluido, seguido por tratamiento con carbón activo. El producto se puede volver a precipitar mediante la adición de una solución ácida, tal como ácido acético, ácido clorhídrico o una mezcla de los mismos. Las etapas anteriores de tratamiento con carbón activo en disolución se pueden repetir varias veces, típicamente de aproximadamente 1 a 3 veces para garantizar la pureza deseada. Antes del secado, la torta se tritura en caliente, ácido clorhídrico diluido a una concentración de aproximadamente 0,1 N a aproximadamente 6 N, a una temperatura elevada de aproximadamente 90 °C a aproximadamente 100 °C, para eliminar las posibles sales de amonio residuales. Se puede obtener el producto de cloruro de mesoporfirina metalada (dicloruro de mesoporfirina IX de estaño (IV) o estannoporfirina). Se puede obtener el producto de cloruro de mesoporfirina de estaño (dicloruro de mesoporfirina IX de estaño (IV) o estannoporfirina). El producto final, Ej. estansoporfina, se puede aislar mediante cromatografía.

Por ejemplo, usando dicloruro de mesoporfirina de estaño, el dicloruro de mesoporfirina IX de estaño bruto (1,7 Kg) se puede disolver en hidróxido de amonio al 2 % (22 l). Se puede realizar una comprobación del pH para garantizar que el pH es > 9,0. La solución se puede tratar con Darco KB-G (0,1 Kg) e Hyflo Supercel (0,2 Kg), agitarse durante un periodo de 1 a 2 horas y filtrarse para eliminar los sólidos. El filtrado se puede añadir a continuación gota a gota a ácido acético (44 l) que contenía ácido clorhídrico (31 %, 2,7 l), manteniendo la temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C. Se puede realizar de nuevo una comprobación del pH para garantizar que el pH es < 1,0. La suspensión resultante se puede agitar de 1 a 2 horas bajo atmósfera de nitrógeno antes de aislar el producto mediante filtración. La torta húmeda se puede triturar a continuación en HCl 3 N (35 l) de 85 °C a aproximadamente 90 °C y agitarse durante de aproximadamente 16 horas a aproximadamente 18 horas para convertir la forma cristalina en un monómero y eliminar las sales de amonio residuales. La suspensión se puede enfriar de 20 °C a aproximadamente 25 °C y el producto aislarse mediante filtración. La torta del producto se puede enjuagar con HCl 0,3 N (16 l) y secarse bajo una corriente de nitrógeno para producir de aproximadamente 1,2 a aproximadamente 1,6 kg de estansoporfina.

El metal puede comprender estaño, hierro, cinc, cromo, manganeso, cobre, níquel, magnesio, cobalto, platino, oro, plata, arsénico, antimonio, cadmio, galio, germanio, paladio, o similares. La preparación de haluros de mesoporfirina de estos otros metales conlleva simplemente una sustitución de un haluro tal como un cloruro, bromuro o yoduro del metal seleccionado en lugar del cloruro estannoso en el procedimiento descrito, prácticamente en cantidades equivalentes.

Se puede formar un haluro de mesoporfirina metálico a partir de hemina por un procedimiento sin hidrogenación para formar un compuesto intermedio de mesoporfirina IX seguido por la inserción del metal en el compuesto intermedio de mesoporfirina IX e hidrogenación del compuesto intermedio metalado para formar el haluro de mesoporfirina metálico. La mesoporfirina se puede obtener haciendo reaccionar hemina con sulfato ferroso, paladio sobre carbono, y poli(metilhidrosiloxano) (PMHS) en ácido fórmico a temperatura de reflujo e hidrogenación adicional con PMHS. El producto se puede aislar como formiato de mesoporfirina en ácido fórmico y metil terc-butil éter. El producto se puede llevar a continuación al procedimiento de formación del diclorhidrato detallado anteriormente. La hemina se puede hacer reaccionar con sulfato ferroso, paladio sobre carbono, y poli(metilhidrosiloxano) (PMHS) en ácido fórmico y a continuación concentrarse mediante evaporación rotativa para eliminar el ácido fórmico. El sólido resultante se puede aislar mediante filtración y llevarse a la ruta convencional del óxido de estaño. El filtrado resultante se puede concentrar a continuación y disolverse en hidróxido de amonio diluido y precipitarse mediante la adición de ácido acético o ácido clorhídrico. El hierro se puede eliminar de la hemina usando sulfato de hierro antes de la hidrogenación con PMHS. El producto se puede purificar adicionalmente mediante cromatografía.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, los reactivos, compuestos intermedios, y/o productos se pueden someter a etapas de purificación adicionales. En algunas realizaciones, la purificación adicional comprende tratar el reactivo, compuesto intermedio, o producto con tierra de diatomeas y/o carbón activo. En una realización, el tratamiento del reactivo, compuesto intermedio, o producto con tierra de diatomeas y/o carbono activo comprende disolver o suspender el reactivo, compuesto intermedio, y/o producto en un disolvente, añadir tierra de diatomeas y/o carbón activo, eliminar por filtración la tierra de diatomeas y/o carbón activo, y recuperar el reactivo, compuesto intermedio, o producto del filtrado. En algunas realizaciones, la purificación adicional comprende triturar el reactivo, compuesto intermedio, o producto con ácido caliente, tal como HCl de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 6 N en agua, preferentemente HCl aproximadamente 3 N en agua. En algunas realizaciones, una, dos, o tres etapas de

tratamiento con tierra de diatomeas, tratamiento con carbón activo, y trituración con ácido caliente se realizan secuencialmente, en cualquier orden, y se repiten a voluntad.

Se puede formar directamente un haluro de mesoporfirina metálico a partir de la hemina sin aislar ningún compuesto intermedio. El compuesto de mesoporfirina metálica se puede sintetizar sin aislar un compuesto intermedio de formiato de mesoporfirina o un compuesto intermedio de diclorhidrato de mesoporfirina. La mesoporfirina metálica se puede sintetizar usando cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente sin aislar el compuesto intermedio de diclorhidrato de mesoporfirina. La mesoporfirina metálica se puede sintetizar usando cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente sin aislar un compuesto intermedio. La mesoporfirina metálica se puede sintetizar usando la ruta convencional del óxido de estaño o el procedimiento oxidativo a temperatura de reflujo sin aislar el compuesto intermedio de diclorhidrato de mesoporfirina. La mesoporfirina metálica se puede sintetizar usando la ruta convencional del óxido de estaño o el procedimiento oxidativo a temperatura de reflujo sin aislar un compuesto intermedio. Un procedimiento para sintetizar la estansoporfina puede comprender hidrogenar hemina y calentar la reacción en presencia de un transportador metálico. El calentamiento se puede producir bajo atmósfera de nitrógeno. Un procedimiento para sintetizar la estansoporfina puede comprender hidrogenar hemina y calentar la reacción resultante con un transportador metálico en ácido acético, en presencia de un oxidante, a temperatura de reflujo. El metal puede comprender estaño, hierro, cinc, cromo, manganeso, cobre, níquel, magnesio, cobalto, platino, oro, plata, arsénico, antimonio, cadmio, galio, germanio, paladio, o similares. El transportador metálico puede ser un transportador de estaño (II). Se pueden usar transportadores de estaño (II) tales como haluros de estaño (II) o acetato de estaño (II). El transportador de estaño puede ser un óxido de estaño, cloruro de estaño, sulfato de estaño, bromuro de estaño, oxalato de estaño, pirofosfato de estaño hidratado, 2-etilhexanoato de estaño, ácido estañometanosulfónico, o trifluorometanosulfonato de estaño.

La hemina se puede hidrogenar en ácido fórmico, con un catalizador metálico adecuado bajo atmósfera de hidrógeno, de aproximadamente t 80 °C a aproximadamente 101 °C durante de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 3 horas. La hidrogenación de la hemina puede continuar durante un tiempo adicional de aproximadamente 24 horas hasta aproximadamente 36 horas de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 60 °C. Por ejemplo, la hemina se puede hidrogenar de aproximadamente 85 °C a aproximadamente 90 °C de aproximadamente 60 psi (414 kPa) de hidrógeno durante de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 2 horas y a continuación de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 50 °C durante de aproximadamente 24 horas a aproximadamente 36 horas. El catalizador metálico puede ser paladio, níquel, platino, paladio sobre carbono, o similares. Tras completar la hidrogenación, la reacción se puede enfriar de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, o de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C, y cargarse opcionalmente con carbón activo en polvo, tal como el que se comercializa con el nombre comercial Darco KB-G. Opcionalmente, la reacción se puede agitar antes de la filtración. La reacción se puede filtrar a través de un secuestrante de metales tal como Hyflo Supercel para eliminar el catalizador. Opcionalmente, la solución de filtrado se puede concentrar a continuación, por ejemplo, mediante destilación al vacío.

Los reactivos, compuestos intermedios, y/o productos se pueden someter a etapas de purificación adicionales. La purificación adicional puede comprender tratar el reactivo, compuesto intermedio, o producto con tierra de diatomeas y/o carbón activo. El tratamiento del reactivo, compuesto intermedio, o producto con tierra de diatomeas y/o carbono activo puede comprender disolver o suspender el reactivo, compuesto intermedio, y/o producto en un disolvente, añadir tierra de diatomeas y/o carbón activo, eliminar por filtración la tierra de diatomeas y/o carbón activo, y recuperar el reactivo, compuesto intermedio, o producto del filtrado. La purificación adicional puede comprender triturar el reactivo, compuesto intermedio, o producto con ácido caliente, tal como HCl de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 6 N en agua, preferentemente HCl aproximadamente 3 N en agua. Una dos, o tres etapas de tratamiento con tierra de diatomeas, tratamiento con carbón activo, y trituración con ácido caliente se pueden realizar secuencialmente, en cualquier orden, y se repiten a voluntad.

Se describe un procedimiento para preparar un haluro de mesoporfirina metálico que comprende las etapas de: a) exponer un catalizador de hidrogenación metálico a una atmósfera de hidrógeno para formar un catalizador prehidrogenado; y b) poner en contacto hemina con el catalizador prehidrogenado y mantener la hemina y el catalizador durante uno o más ciclos de una combinación de temperatura, presión de hidrógeno, y tiempo suficiente para eliminar el hierro de la hemina y reducir los grupos de vinilo de la hemina a grupos etilo, formando de esta forma la mesoporfirina IX. También se describe un procedimiento para preparar un haluro de mesoporfirina metálico que comprende las etapas de: a) exponer un catalizador de hidrogenación metálico a una atmósfera de hidrógeno para formar un catalizador prehidrogenado; b) poner en contacto hemina con el catalizador prehidrogenado y mantener la hemina y el catalizador durante uno o más ciclos de una combinación de temperatura, presión de hidrógeno, y tiempo suficiente para eliminar el hierro de la hemina y reducir los grupos de vinilo de la hemina a grupos etilo, formando de esta forma la mesoporfirina IX; y c) hacer reaccionar la mesoporfirina IX con una sal metálica para formar un haluro de mesoporfirina metálico usando una velocidad de oxidación controlada.

La etapa b) se puede llevar a cabo de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 100° C, preferentemente de aproximadamente 85 °C a aproximadamente 90 °C, con una presión de hidrógeno de aproximadamente 50 a aproximadamente 70 psi (345 a 483 kPa), preferentemente de aproximadamente 55 a aproximadamente 60 psi (379 a 414 kPa), de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 3 horas, preferentemente de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 1,5 horas; después de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 60 °C, preferentemente de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 50 °C, con una presión de hidrógeno de aproximadamente 50 a

aproximadamente 70 psi (345 a 483 kPa), preferentemente de aproximadamente 55 a aproximadamente 60 psi (379 a 414 kPa), de aproximadamente 18 hora a aproximadamente 48 horas, preferentemente aproximadamente 24 horas.

5 El catalizador de hidrogenación metálico puede comprender paladio, paladio sobre carbono, platino, platino sobre carbono, níquel, o un catalizador níquel-aluminio. El catalizador de hidrogenación metálico puede ser paladio. El catalizador de hidrogenación metálico puede ser paladio sobre carbono.

10 Los procedimientos descritos en el presente documento también incluyen la inserción de estaño en mesoporfirina para fabricar estansoporfina usando óxido de estaño, cloruro de estaño, sulfato de estaño, bromuro de estaño, oxalato de estaño, pirofosfato de estaño hidratado, 2-etilhexanoato de estaño, ácido estañometanosulfónico, o trifluorometanosulfonato de estaño. El estaño se puede insertar en la mesoporfirina usando óxido de estaño, cloruro de estaño o 2-etil-hexanoato de estaño.

15 El clorhidrato de mesoporfirina IX se puede tratar con una sal de estaño (II) en un disolvente orgánico, tal como ácido acético, en condiciones oxidantes, que proporcionan el producto deseado, dicloruro de mesoporfirina IX estaño (IV) (estansoporfina). Por ejemplo, el diclorhidrato de mesoporfirina IX y el cloruro de estaño (II) se pueden introducir en un recipiente, y se puede añadir ácido acético de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, preferentemente de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C. Los reactivos en suspensión se agitan durante al menos aproximadamente 30 minutos. Con agitación intensa, la mezcla se calienta en una atmósfera inerte (tal como nitrógeno o argón) a temperatura de reflujo.

También se describe un procedimiento para insertar estaño en mesoporfirina IX, que comprende hacer reaccionar la mesoporfirina IX con una sal de estaño en ausencia de un secuestrante de protones.

20 También se describe un procedimiento para insertar estaño en mesoporfirina IX, que comprende hacer reaccionar la mesoporfirina IX con una sal de estaño a una velocidad de oxidación controlada. La estansoporfina IX se puede hacer reaccionar con una sal de estaño en un recipiente de reacción que tenga un espacio superior, y la velocidad de oxidación se controla mediante la introducción de un gas que contiene oxígeno en el espacio superior del recipiente de reacción. El gas que contiene oxígeno introducido en el espacio superior del recipiente de reacción puede tener de aproximadamente un 3 % a aproximadamente un 22 % de oxígeno en gas inerte, como nitrógeno. El gas que contiene oxígeno introducido en el espacio superior del recipiente de reacción puede ser aire. El gas que contiene oxígeno introducido en el espacio superior del recipiente de reacción puede tener de aproximadamente un 4 % a aproximadamente un 15 % de oxígeno en gas inerte, como nitrógeno. El gas que contiene oxígeno introducido en el espacio superior del recipiente de reacción puede tener de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 10 % de oxígeno en gas inerte, como nitrógeno. El gas que contiene oxígeno introducido en el espacio superior del recipiente de reacción puede tener aproximadamente un 6 % de oxígeno en gas inerte, como nitrógeno. El gas que contiene oxígeno introducido en el espacio superior del recipiente de reacción puede tener aproximadamente un 6 % de oxígeno en nitrógeno.

35 Los procedimientos descritos en el presente documento también incluyen la inserción de estaño en mesoporfirina para fabricar estansoporfina usando óxido de estaño, cloruro de estaño, sulfato de estaño, bromuro de estaño, oxalato de estaño, pirofosfato de estaño hidratado, 2-etilhexanoato de estaño, ácido estañometanosulfónico, o trifluorometanosulfonato de estaño.

40 Otros compuestos de porfirina y tetrapirroles también se pueden metalar usando los procedimientos descritos en el presente documento, incluyendo, aunque no de forma limitativa, porfirinas tales como deuteroporfirinas y deuteroporfirina IX 2,4-bis(etilenglicol) (ácido 8,13-bis(1,2-dihidroxietil)-3,7,12,17-tetrametil-21H,23H-porfirina-2,18-dipropiónico). Compuestos de porfirina adicionales que se pueden metalar usando los procedimientos descritos en el presente documento incluyen, pero no de forma limitativa, coproporfirina, citoporfirinas, etioporfirinas, hematoporfirinas, mesoporfirinas, filloporfirinas, protoporfirinas, piroporfirinas, rodoporfirinas, uroporfirinas, y fitoporfirinas. Un listado completo de compuestos de porfirina se proporciona en la World Wide Web, chem.
45 qmul.ac.uk/iupac/tetrapyrrole/; las porfirinas descritas en dicha referencia se incorporan en el presente documento por referencia como porfirinas que se pueden metalar usando procedimientos descritos en el presente documento.

La presente invención y las realizaciones que ilustran el procedimiento y los materiales utilizados se pueden comprender mejor por referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1

50 La estansoporfina se puede preparar a partir de una ruta inversa en que la hemina se transmetalada con óxido de estaño para formar un protoporfirina de estaño, seguido por hidrogenación bien en N-metil pirrolidiona, hidróxido de amonio diluido, o dimetil formamida.

55 Se llevaron a cabo reacciones en las que la hemina se sometió a química de óxido de estaño RPA438-03-ES (véase la FIG. 1), con y sin la adición de sulfato ferroso. Tras calentar la mezcla de reacción a 90 °C durante 2 horas bajo atmósfera de nitrógeno para realizar la disolución de la hemina, la reacción se continuó de 60 °C a aproximadamente 65 °C durante la noche. El análisis mediante HPLC confirmó que la reacción estaba completa para la reacción que no tenía sulfato ferroso, y completa en un 98,4 % para la reacción que lo tenía. Ambas reacciones se aislaron mediante

adición de agua convencional con rendimientos idénticos del 97,3 %.

Basándose en el éxito de estos experimentos, la reacción sin sulfato ferroso se escaló hasta 40 g para preparar material para estudiar las transformaciones posteriores. Vea la Tabla 1 para los resultados.

TABLA 1: RESULTADOS ANALÍTICOS, PROTOPORFIRINA DE ESTAÑO				
Experimento	Descripción	Rendimiento total (%) a partir de hemina	Pureza HPLC (% a/a)	Ensayo HPLC (% p/p)
1165-CB-141-1	Protoporfirina de estaño	92,5	98,1	104,9

- 5 **HIDRÓXIDO DE AMONIO DILUIDO:** Se llevó a cabo una hidrogenación con hidróxido de amonio diluido sobre un catalizador de paladio. El volumen del disolvente y la concentración se seleccionaron para coincidir con el procedimiento de purificación RPA438-04-EF ilustrado en la FIG. 1.

10 El análisis IPC inicial de esta reacción parece indicar que no se había tenido lugar ninguna reacción. Sin embargo, cuando el producto se aisló y se analizó según el procedimiento de la pureza del producto final, se determinó que el sólido contenía un 18,2 % de estansoporfina (B992; FIG. 3), 14,7 y 39,5 % de los compuestos intermedios de monovinilo (CJ9/CKO; FIG. 4), y 27,6 % de protoporfirina de estaño (CH8; FIG. 5).

15 La reacción con hidróxido de amonio se repitió con un pretratamiento con carbón activo. El primer análisis IPC tras la reacción durante la noche mostró un 83,3 % de estansoporfina (B992), 15,9 % de los compuestos intermedios de monovinilo (CJ9/CKO), y 0,7 % de protoporfirina de estaño (CH8). La mezcla de reacción se filtró y la hidrogenación continuó con catalizador nuevo para impulsar la reacción hasta completarse en menos de 2 horas. El producto se aisló mediante la adición de ácido acético/ácido clorhídrico (como en el caso del procedimiento de purificación RPA438-04-EF ilustrado en la FIG. 1) y se trituró en HCl 1 N caliente durante 1 hora. El rendimiento de esta transformación fue del 78 %. El producto de la reacción se llevó al procedimiento de purificación con un rendimiento del 91,4 %. El rendimiento global del procedimiento fue del 65,9 %, con una pureza del 98,8 % (véase la Tabla 2, Ref.: 1165-CB-172-1).

25 **DIMETIL FORMAMIDA:** Se llevar a cabo la hidrogenación usando dimetilformamida (DMF) como dimetilo y paladio sobre carbono. Tanto el material de partida como el producto se pueden disolver a 50 partes, permitiendo la eliminación del catalizador al finalizar la reacción. Tras reaccionar durante la noche, el análisis del procedimiento (IPC) mostró un 35,5 % de B992, 28 y 11 % de compuestos intermedios de monovinilo, y 25,4 % de protoporfirina de estaño. La solución de DMF en la etapa IPC se analizó mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (CL/EM) para confirmar la identidad de cada pico en el IPC de HPLC.

30 **N-METIL PIRROLIDINONA (NMP):** La NMP se evaluó como disolvente para la hidrogenación. Tras reaccionar durante la noche a 50 °C/60 psi (414 kPa), el análisis mediante IPC mostró un 51 % de estansoporfina (B992), 20 % y 10 % de compuestos intermedios de monovinilo (CJ9/CKO), y 18,5 % de protoporfirina de estaño (CH8). Durante esta reacción se observó que todo el hidrógeno parecía quedar capturado durante las primeras 1 a 2 horas de reacción sugiriendo que el catalizador podría haber quedado envenenado. La reacción se calentó posteriormente a 90 °C/60 psi (414 kPa) durante la noche, de nuevo. El análisis mediante IPC mostró que la reacción había avanzado al 68 % de estansoporfina (B992), 21 % y 9 % de compuestos intermedios de monovinilo (CJ9/CKO), y 2,1 % de protoporfirina de estaño (CH8), lo que sugiere que el catalizador no estaba completamente envenenado.

35 Basándose en la hipótesis de que el catalizador quedaba envenenado durante la reacción, una solución de NMP de protoporfirina de estaño (CH8) se trató con carbón activado KBG Darco-durante 1 hora y se filtró antes de cambiar el catalizador de hidrogenación. Tras reaccionar durante la noche a 50 °C/60 psi (414 kPa), el análisis mediante IPC mostró un 94,2 % de estansoporfina (B992) y un 1,7 % de compuestos intermedios de monovinilo (CJ9/CKO). Esta mezcla de reacción se dividió en 2 partes iguales, que se añadieron bien a 300 partes de agua o a 300 partes de metil terc-butil éter (MTBE) y se enfriaron de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 5 °C durante aproximadamente 2 horas. Tras la filtración, se descubrió que se produjo poca o ninguna precipitación con agua, pero el MTBE da como resultado un buen sólido filtrable con un rendimiento del 90 %.

45 La hidrogenación con NMP y tratamiento con carbón activo se escaló a 10 g. El primer análisis IPC tras la reacción a 50 °C/60 psi (414 kPa) durante la noche mostró un 92,5 % de estansoporfina (B992), 3,6 y 2,4 % de compuestos intermedios de monovinilo (CJ9/CKO), y 0,4 % de protoporfirina de estaño (CH8). La mezcla de reacción se filtró antes de volver a someterse a hidrogenación con catalizador nuevo para impulsar la reacción hasta completarse en 2 horas más. El producto se aisló mediante la adición de una generosa cantidad de metil terc-butil éter con un rendimiento del 119,9 % (el producto contiene NMP residual). El producto de la reacción se llevó al procedimiento de purificación con un rendimiento del 108,0 % (igualmente debido a residuos de disolventes). La pureza obtenida fue del 98,2 %. (Véase la Tabla 2, Ref.: 1165-CB-171-1).

50

TABLA 2: RESULTADOS ANALÍTICOS, RUTA INVERSA					
Experimento	Descripción	Rendimiento (%) de Hemina	Pureza HPLC (%a/a)		HPLC Ensayo (% p/p)
1165-CB-171-1	Ruta inversa de la hidrogenación prep NMP	119,9	98,2		47,0
			RRt	%ala	
			0,06	0,13	
			0,25	0,11	
			0,42	0,20	
			0,62	0,23	
			0,66	0,10	
			0,88	0,10	
			0,9	0,10	
			Otros	<0,10	
1165-CB-172-1	Ruta inversa de la hidrogenación prep NH4OH	65,9	98,8		80,8
			RRt	%ala	
			0,09	0,13	
			0,25	0,09	
			0,88	0,10	
			0,9	0,05	
Otros	<0,14				

Ejemplo 2

Formación del éster metílico de protoporfirina. Un reactor de 5 l se llenó con 20 g de hemina, 50 ml de piridina, y 200 ml de diclorometano y se agitó durante 10 minutos para formar una solución. 50 g de sulfato ferroso, 1000 ml de metanol, y 1000 ml de diclorometano se añadieron a continuación. Se añadió lentamente HCl gaseoso. La reacción exotérmica alcanzó eventualmente una temperatura de reflujo de 41 °C (nota: no se aplicó calentamiento) y se mantuvo a reflujo durante un periodo de 3 horas. El análisis mediante TLC confirmó que la reacción se había completado. La reacción se inactivó con 1000 ml de agua, siguieron lavados adicionales con agua e hidróxido de amonio diluido. El éster metílico de protoporfirina se aisló en diclorometano/metanol con un rendimiento del 50,4 %.

Inserción de estaño seguida por hidrogenación. El éster dimetílico de protoporfirina de estaño se preparó de acuerdo con la ruta convencional del óxido de estaño, sustituyendo directamente el éster dimetílico de protoporfirina por mesoporfirina. El producto se obtuvo con un rendimiento del 77,7 %.

El éster dimetílico de protoporfirina de estaño se hidrogenó en diclorometano con un catalizador de paladio al 5 % a 50 psi (345 kPa). Tras reaccionar durante la noche, el producto se aisló mediante concentración por evaporación rotativa con un 100 % de rendimiento. El análisis mediante RMN sugiere que quedaba aproximadamente un 10 % de material de partida sin reaccionar. Sin embargo, después de volver a someter el material a las condiciones de hidrogenación, no se observaron cambios adicionales, y la reacción se continuó tal cual.

La estansoporfirina se formó a partir del éster dimetílico de mesoporfirina de estaño mediante el calentamiento del material a 75 °C en hidróxido de amonio diluido. Después de 18 horas de reacción, no se apreciaron cambios adicionales en el IPC de HPLC, incluso después de la adición de más cantidad de hidróxido de amonio. El producto se aisló de la solución mediante adición en ácido acético/ácido clorhídrico, como se suele perfeccionar durante la purificación, con un rendimiento del 72,6 %. La estansoporfirina bruta se purificó de acuerdo con el procedimiento convencional y se aisló con un rendimiento del 72,2 %. El rendimiento del procedimiento global fue del 23,8 % con una pureza del 87,4 % (véase la Tabla 3, Ref.: 1198-CB-003-1).

TABLA 3: RESULTADOS DEL ANÁLISIS, RUTA DEL ÉSTER METÍLICO						
Experimento	Descripción	Rendimiento total (%) a partir de hemina	Pureza HPLC (%a/a)			Ensayo HPLC (%p/p tal cual)
1198-CB-003-1	Estansoporfina Éster de metilo preparación	23,8	87	4		82,8
			RRt	%a/a		
			0,27	0,18		
			0,42	0,24		
			0,96	2,06		
			1,78	9,90		
Otros	<0,05					

Ejemplo 3

- La mesoporfirina se obtuvo haciendo reaccionar hemina con sulfato ferroso, paladio sobre carbono, y poli(metilhidrosiloxano) (PMHS) en ácido fórmico a temperatura de reflujo. La reacción se dividió. La mitad se sometió a hidrogenación adicional con PMHS. El IPC posterior mostró que la reacción era completa. El producto se aisló como CK1 (estructura mostrada en la FIG. 1) a partir de ácido fórmico y metil terc-butil éter (1198-CB-004-1). El aislamiento fue muy difícil debido a los sólidos (tanto productos como residuos) que se adherían a las paredes del matraz. Esto se debe probablemente a un producto secundario formado a partir de PMHS que se esperaba que era una grasa de silicona. La reacción inicial proporcionó un 57,5 % de mesoporfirina.
- En la segunda mitad de la reacción, se hizo un intento de aislar directamente como sal clorhidrato de B991. Sin embargo, tras seguir el procedimiento convencional, no se encontraron cristales. La solución se concentró mediante evaporación rotativa para eliminar el ácido fórmico y los sólidos posteriores se aislaron mediante filtración con un rendimiento del 42,8 %. Se obtuvo una segunda cosecha de material a partir del filtrado el día siguiente, con un rendimiento adicional del 11,2 %. Las dos cosechas de material se combinaron y se llevaron al procedimiento del óxido de estaño. Después de un tiempo de reacción convencional, no se pudo detectar mediante HPLC más cantidad de B991. Se realizó un intento de aislar el producto de acuerdo con el procedimiento convencional, sin embargo, no se encontraron sólidos. El filtrado se concentró posteriormente mediante evaporación rotativa y el residuo se disolvió en hidróxido de amonio diluido y se precipitó mediante adición de ácido fórmico/ácido clorhídrico. El producto bruto se obtuvo con un rendimiento del 26,6 % (Tabla 4, Ref.: 1198-CB-011-1).
- También se realizó un intento de realizar la eliminación del hierro de la hemina usando sulfato ferroso antes de la hidrogenación con PMHS. Esta reacción fue más fácil de manipular porque las sales de hierro y la grasa, que son ambas insolubles, no estaban presentes en el reactor simultáneamente. El producto se aisló con un rendimiento del 62,1 %. Sin embargo, cuando se intentó la formación de B991 (estructura mostrada en la FIG. 1) sobre este material se descubrió que no precipitaron sólidos cuando se añadió ácido clorhídrico a la solución de ácido fórmico.
- El producto de la reacción 1198-CB-004-1 se llevó a la formación del clorhidrato B991 con un rendimiento del 42,5 %. El procedimiento del óxido de estaño se repitió con esta muestra, pero la precipitación se dejó en agitación durante la noche antes de la filtración. El producto de esta reacción se obtuvo con un rendimiento del 90,3 %. El rendimiento global fue del 22,1 % con una pureza del 75,1 %. (Tabla 4, Ref.: 1198-CB-013-1).

TABLA 4: RESULTADOS DEL ANÁLISIS, PREPARACIÓN SIN HIDRÓGENO						
Experimento	Descripción.	Rendimiento total (%) a partir de hemina	Pureza HPLC (%a/a)			Ensayo HPLC (%p/p tal cual)
1198-CB-011-1	Estansoporfina, preparación sin hidrógeno	14,4	73	3		25,2 %
			RRt	%a/a		
			0,38	0,63		

(continuación)

TABLA 4: RESULTADOS DEL ANÁLISIS, PREPARACIÓN SIN HIDRÓGENO						
Experimento	Descripción.	Rendimiento total (%) a partir de hemina	Pureza HPLC (%a/a)			Ensayo HPLC (%p/p tal cual)
			0,42	0,32		
			0,70	0,44		
			0,76	0,41		
			0,79	0,54		
			0,89	21,95		
			1,71	0,31		
			2,14	0,26		
			Otros	<0,30		
1198-CB-013-1	Estansoporfina, preparación sin hidrógeno	22,1	75,1			0,8 %
			RRt	%a/a		
			1,61	2,36		
			1,70	3,39		
			1,74	0,71		
			1,78	3,63		
			1,80	2,64		
			1,87	0,63		
			1,92	2,57		
			1,96	0,89		
			2,02	0,33		
			2,06	1,95		
			2,15	1,65		
			2,17	1,37		
			2,19	0,44		
			2,21	0,80		
			2,30	1,35		
			Otros	<0,20		

Ejemplo 4

- 5 Cada transportador de estaño se evaluó de acuerdo con una reacción oxidativa a temperatura de reflujo para preparar la estansoporfina según se detalla en la **FIG. 2** y el procedimiento a baja temperatura sin oxígeno detallado en la **FIG. 1**. Las reacciones de selección iniciales se llevaron a cabo a una escala de 150 mg. Los resultados de las reacciones de selección iniciales en el procedimiento oxidativo y en el procedimiento a baja temperatura sin oxígeno se resumen en las Tablas 5 y 6, respectivamente.

Experimento	Sal de estaño estudiada	24 horas		48 horas	
		Con respecto a B991 B992 (%)	Pureza máxima de B992 (%a/a)	Con respecto a B991 B992 (%)	Pureza máxima de B992 (%a/a)
1198-CB-015	Sulfato de estaño (II)	215,95	25,19	163,6	36,06
1198-CB-086-1	Óxido de estaño (II)	0,11	99,48	0,22	98,63
1198-CB-086-2	Bromuro de estaño (II)	13,65	84,74	12,29	85,99
1198-CB-086-3	Oxalato de estaño (II)	49,5	62,76	48,6	61,05
1198-CB-086-4	Sulfuro de estaño (II)	Sin reac.	0,00	10000,00	0,96
1198-CB-086-5	Pirofosfato de estaño (II) hidratado	79,26	54,44	34,09	73,3
1198-CB-086-6	2-Etilhexanoato de estaño	0,04	99,21	0,16	99,09
1198-CB-086-7	Ácido metanosulfónico de estaño (II) (solución acuosa al 50 %)	627	13,72	337,5	12,43
1198-CB-086-8	Trifluorometanosulfonato de estaño	Sin reac.	0,00	1007,95	6,16

Experimento	Sal de estaño estudiada	24 horas		48 horas	
		Con respecto a B991 B992 (%)	Pureza máxima de B992 (%a/a)	Con respecto a B991 B992 (%)	Pureza máxima de B992 (%a/a)
1198-CB-014	Sulfato de estaño (II)				
1198-CB-088-1	Óxido de estaño (II)	1,50	94,53	0,64	99,36
1198-CB-088-2	Bromuro de estaño (II)	34,04	73,09	9,45	91,36
1198-CB-088-3	Oxalato de estaño (II)	51,53	65,72	57,04	62,85
1198-CB-088-4	Sulfuro de estaño (II)	Sin reac.	0,00	Sin reac.	0,00
1198-CB-088-5	Pirofosfato de estaño (II) hidratado	296,65	24,48	241,01	28,43
1198-CB-088-6	2-Etilhexanoato de estaño	0,29	99,71	1,17	98,84
1198-CB-088-7	Ácido metanosulfónico de estaño (II) (solución acuosa al 50 %)	4601,42	2,11	5540,91	1,76
1198-CB-088-8	Trifluorometanosulfonato de estaño (II)	2442,82	3,90	2442,28	3,89

5 Basándose en el avance relativo de la reacción, las reacciones del bromuro de estaño(II), oxalato de estaño (II), y etilhexanoato de estaño (II) se seleccionaron para el estudio adicional respecto de un control de óxido de estaño (II). Las reacciones de inserción de estaño se escalaron a 5 g para preparar material suficiente para un análisis completo. Las reacciones se dejaron durante 96 horas en lugar de 48 debido a un fin de semana intercalado. Los resultados se presentan en la Tabla 7.

TABLA 7: RESULTADOS DE IPC, SALES DE ESTAÑO ALTERNATIVAS EN EL PROCEDIMIENTO A BAJA TEMPERATURA					
Experimento	Sal de estaño estudiada	24 horas		96 horas	
		% con respecto a B991 B992	Pureza máxima de B992 (%a/a)	% con respecto a B991 B992	Pureza máxima de B992 (%a/a)
1198-CB-091	Óxido de estaño (II) (CONTROL)	8,2	91,55	3,5	96,6
1198-CB-092	Bromuro de estaño (II)	222,7	30,95	2841	3,40
1198-CB-093	Oxalato de estaño (II)	3360	2,9	986,9	9,2
1198-CB-094	Etilhexanoato de estaño (II)	6,6	93,6	5,7	94,6

5 Por no completarse, las reacciones 1198-CB-092 y 1198-CB-093 se descartaron después de 96 horas. Las reacciones 1198-CB-091 y 1198-CB-094 se aislaron de acuerdo con el procedimiento. En ambos casos, el rendimiento observado tras el secado fue del 79,7 % (4,7 g). A continuación, ambos productos se llevaron al procedimiento de purificación final (RPA438-04-ES) y se analizaron los productos aislados. Las sales de óxido de estaño (II) (1198-CB-091) y de etilhexanoato de estaño (II) produjeron productos con pureza del 99,2 % y 99,4 %, respectivamente (Tabla 8).

TABLA 8: RESULTADOS ANALÍTICOS, SALES DE ESTAÑO ALTERNATIVAS EN EL PROCEDIMIENTO A BAJA TEMPERATURA				
Ensayo	Productos brutos		Productos purificados	
	1198-CB-096-1	1198-CB-097-1	1198-CB-098-1	1198-CB-099-1
Experimento	Óxido	etilhexanoato	Óxido	etilhexanoato
Pureza de HPLC (% a/a)	98,8	99,3	99,2	99,4
Ensayo HPLC (%p/p tal cual)	95	100	101	100
Descripción	N/A	N/A	Conforme	Conforme
Identificación IR	N/A	N/A	Conforme	Conforme
Identificación HPLC	N/A	N/A	Conforme	Conforme
KF (%p/p)	N/A	N/A	<0,05	<0,05
Disolventes residuales: Acético y fórmico (% p/p)	N/A	N/A	<0,1	<0,1
Solubilidad	N/A	N/A	Soluble	Soluble

Ejemplo 5

10 Según el procedimiento RPA438-01-ES, paladio al 5 % sobre carbono (50 % humedad, 0,6 Kg) se hidrogenó en ácido fórmico (60 l) bajo atmósfera inerte a 40 °C/(60 a 65 psi [414 a 448 kPa]) durante un periodo de 12 horas. Tras enfriar, hemina (B990, 6 Kg) se añadió al recipiente de reacción en forma de suspensión en ácido fórmico (60 l). La hemina se hidrogenó a continuación de 85 a 90 °C/60 psi (414 kPa) durante de 1 a 2 horas seguido por hidrogenación de 45 a 50 °C/60 psi (414 kPa) durante de 24 a 36 horas más. La reacción se siguió mediante HPLC. Tras finalizar la reacción, la reacción se enfrió de 20 a 25 °C, se cargó con Darco KB-G, y se filtró a través de Hyflo Supercel para eliminar el catalizador. Tras la filtración del catalizador de paladio, la mezcla de reacción se dividió en tres partes iguales según la masa.

20 En referencia a la **FIG. 1**, un tercio de la mezcla de reacción se aisló como CK1 mediante el procedimiento RPA438-01-ES, que se llevó a continuación a través del resto del procedimiento (1165-CB-155-1). La solución filtrada se concentró mediante destilación a vacío hasta un volumen residual, y se añadieron 30 l de metil terc-butil éter (MTBE, 120 l) al concentrado durante un mínimo de 1 hora para precipitar el producto intermedio. La suspensión resultante se enfrió de -20 a -25 °C durante 1 hora y se agitó durante 4 horas antes de la filtración. La torta se secó al vacío para eliminar el MTBE residual, proporcionando de 5 a 6 kg de formiato de mesoporfirina IX (CK1 con un

rendimiento de 85 al 100 %).

Un tercio se aisló directamente como B991 mediante el procedimiento RPA438-02-ES y a continuación se llevó a cabo a través del resto del procedimiento (1165-CB-154-1). En el RPA438-02-ES, el formiato de mesoporfirina IX (CK1, 5 kg como base libre) se disolvió en ácido fórmico (22 l) y se trató con carbón activo (Darco KB-G, 0,2 Kg) y Hyflo Supercel (0,4 Kg) y se agitó durante un periodo de 2 horas de 20 a 25 °C antes de la filtración para eliminar sólidos. El filtrado se concentró mediante destilación a vacío hasta un volumen residual de 12 l. A este concentrado se añadió una solución de HCl 1 N (13 l) durante un mínimo de 1 hora para precipitar el producto intermedio. La suspensión resultante se agitó de 20 a 25 °C bajo atmósfera de nitrógeno durante 2 horas antes de la filtración. Tras la filtración, el producto se secó en una corriente de nitrógeno para dar como resultado 3,4 a 4,5 kg de mesoporfirina IX (rendimiento de 60 a 80 %).

El tercio restante de la mezcla de reacción se llevó a cabo directamente en la reacción de inserción del estaño, RPA438-03-ES, como la solución de ácido fórmico filtrada para preparar la estansoporfina (B992) (1165-CB-153-1). En el procedimiento RPA438-03-ES, el óxido de estaño (II) (SnO, 1,7 kg) en polvo se suspendió en 40,5 l de ácido acético de 20 a 25 °C y a continuación se calentó de 60 a 65 °C bajo atmósfera de nitrógeno. A esta suspensión se añadió una solución de diclorhidrato de mesoporfirina IX (B991, 2,1 kg) en 10,5 l de ácido fórmico durante un periodo de 6 horas. La reacción se llevó a cabo bajo atmósfera de nitrógeno de 60 °C a 65 °C durante un mínimo de aproximadamente 12 horas. La reacción se siguió mediante HPLC. Cuando la reacción está completa, se pueden añadir aproximadamente 17 l de agua durante 0,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a continuación de 20 a 25 °C durante 0,5 horas, se agitó de 1 a 3 horas y a continuación se filtró. La torta de filtro se enjuagó con agua (USP), se suspendió en HCl 1 N y se calentó de 85 a 95 °C durante de 1 a 3 horas. La suspensión se enfrió a continuación de 20 a 25 °C, se agitó durante 0,5 horas, se filtró, enjuagarse con agua destilada (USP) y secarse bajo atmósfera de nitrógeno para proporcionar de 1,3 a 1,5 kg de dicloruro de mesoporfirina IX (estansoporfina™, B992) (rendimiento de 65 a 75 %).

Todos los productos B992 obtenidos también se sometieron a purificación final, RPA438-04-ES. Según el procedimiento RPA438-04-ES, dicloruro de mesoporfirina de estaño IX (B992, 1,7 Kg) se disolvió en hidróxido de amonio al 2 % (22 l). Se realizó una comprobación del pH para garantizar que el pH es 2: 9,0. La solución se trató con Darco KB-G (0,1 Kg) y Hyflo Supercel (0,2 Kg), se agitó durante un periodo de 1 a 2 horas y se filtró para eliminar los sólidos. El filtrado se añadió a continuación gota a gota a ácido acético (44 l) que contiene ácido clorhídrico (31 %, 2,7 l) manteniendo la temperatura de 20 a 25 °C. Se realiza de nuevo una comprobación del pH para garantizar que el pH es < 1,0. La suspensión resultante se agitó de 1 a 2 horas bajo atmósfera de nitrógeno antes de aislar el producto mediante filtración. La torta húmeda se tritura a continuación en HCl 3 N (35 l) de 85 °C a 90 °C y se agitó de 16 horas a 18 horas para convertir la forma cristalina en un monómero. La suspensión se enfrió de 20 a 25 °C y el producto se aisló mediante filtración. La torta del producto se enjuagó con HCl 0,3 N (16 l) y se secó bajo una corriente de nitrógeno para producir de 1,2 a 1,6 kg de estansoporfina. Los resultados se resumen en la **Tabla 9**.

TABLA 9: RESULTADOS ANALITICOS, COMBINACION DE ETAPAS DE PROCEDIMIENTO

Ensayo	1165-CB-153-1	1165-CB-154-1	1165-CB-155-1
Experimento	Sin aislamiento	Aislamiento de B991	Aislamiento de B991/CK1 (Control)
Rendimiento (%)	61,9	54,2	48,2
Pureza HPLC (%a/a)	99,3	99,5	99,6
	RRT	RRT	RRT
	%a/a	%a/a	%a/a
	0,22	0,07	0,88
	0,67	0,05	0,91
	0,88	0,03	0,95
0,91	0,06	Otros	
0,95	0,02	<0,05	
Otros	<0,05		
Ensayo HPLC (%p/p)	96,8	98,2	99,5
Descripción	Conforme	Conforme	Conforme
Identificación IR	Conforme	Conforme	Conforme
Identificación HPLC	Conforme	Conforme	Conforme
KF (%p/p)	1,2	0,4	0,6
Disolventes residuales (Acetona)	<500	<500	<500
Disolventes residuales (acético y fórmico)	0,1		
Hierro (ppm)	6,55	2,94	2,84
Paladio (ppm)	6,95	<2	<2
Solubilidad	Soluble	Soluble	Soluble
Cloruro (% p/p)	7,3	9,69	9,97

Como se puede observar en la tabla, cada aislamiento adicional disminuyó el rendimiento global del procedimiento a la vez que aumentaba el ensayo y la pureza del producto final. Los tres materiales pasaron otras especificaciones además del ensayo HPLC. El procedimiento final de purificación puede aumentar el ensayo de la API del producto bruto. De este modo, cada material se sometió a la purificación final, RPA438-04-ES, para una segunda iteración y se volvió a analizar para determinar la pureza y el ensayo HPLC (Tabla 10).

5

TABLA 10: RESULTADOS ANALÍTICOS, COMBINACIÓN DE ETAPAS DE PROCEDIMIENTO CON PURIFICACIÓN ADICIONAL										
Ensayo	1198-CB-020-1			1198-CB-021-1			1198-CB-022-1 (CONTROL)			
Material de partida	1165-CB-153-1			1165-CB-154-1			1165-CB-155-1			
Rendimiento (%)	92,0			92,0			94,0			
Pureza HPLC (% a/a)		RRt	%a/a		RRt	%a/a		RRt	%a/a	
		0,22	0,07		0,07	0,06		0,22	0,05	
		0,39	0,05		0,14	0,05		0,88	0,05	
		0,44	0,05		0,22	0,05		0,95	0,05	
		0,64	0,05		Otros	<0,05		1,08	0,13	
		Otros	<0,05					Otros	<0,05	
Ensayo HPLC (%p/p)	98 (tal cual)			98 (tal cual)			99 (tal cual)			

Con la excepción del sulfuro de estaño, todas las sales de estaño seleccionadas para su uso en la reacción de inserción de estaño produjeron estansoporfina mediante el procedimiento oxidativo como en el procedimiento no oxidativo. Se cree que se puede alcanzar una pureza mayor para todas esas sales. Usando el etilhexanoato de estaño como transportador de cinc, fue posible preparar la estansoporfina con una calidad equivalente a la del producto preparado usando óxido de estaño.

10

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de síntesis de un compuesto de mesoporfirina de estaño que comprende transmetalar hemina e hidrogenar la protoporfirina de estaño IX.
- 5 2. Un procedimiento de síntesis de un compuesto de mesoporfirina de estaño que comprende formar un éster metílico de protoporfirina e insertar estaño en el éster metílico de protoporfirina e hidrogenar el éster metílico de protoporfirina de estaño.
3. El procedimiento de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el estaño se selecciona entre óxido de estaño, cloruro de estaño, sulfato de estaño, bromuro de estaño, oxalato de estaño, pirofosfato de estaño hidratado, 2-etilhexanoato de estaño, ácido metanosulfónico de estaño y trifluorometanosulfonato de estaño.
- 10 4. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el compuesto de mesoporfirina de estaño es estansoporfina.

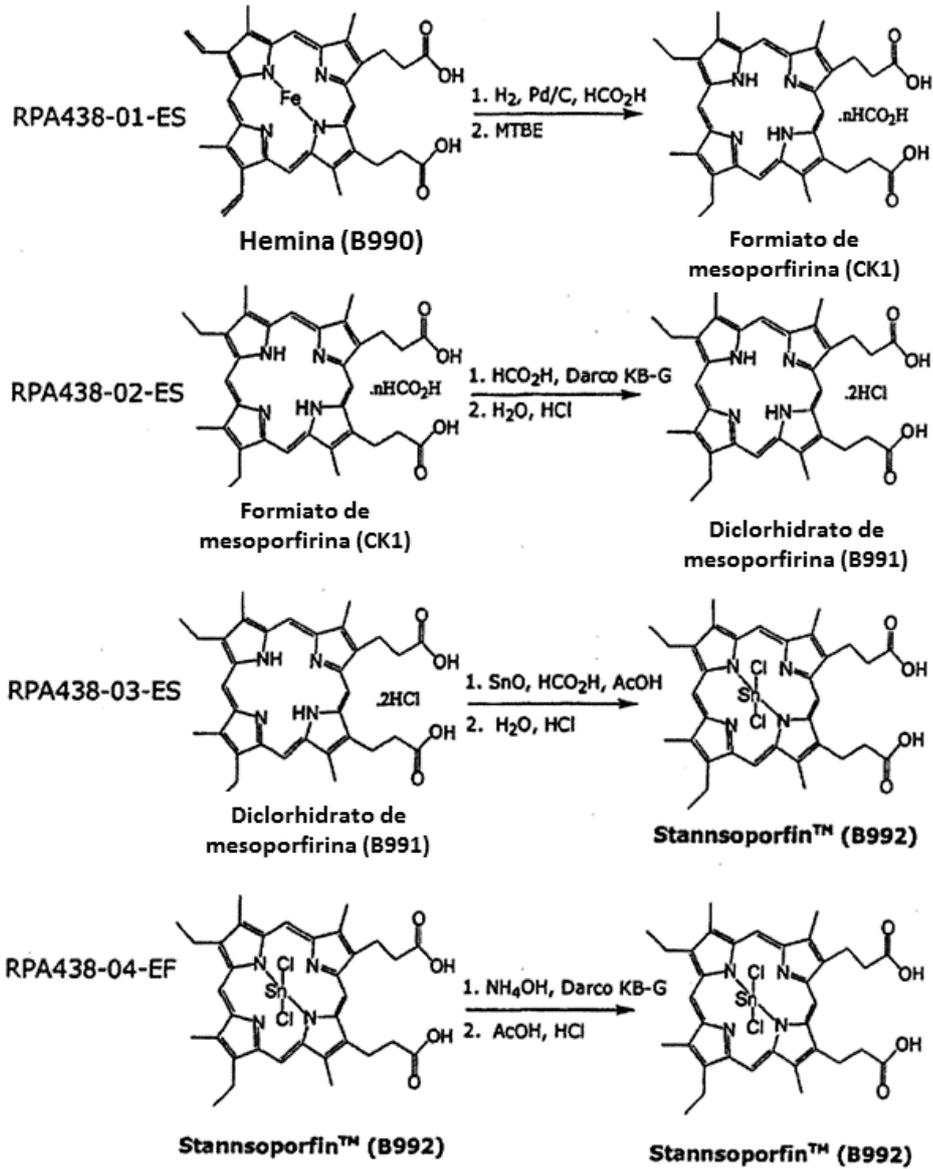


FIGURA 1

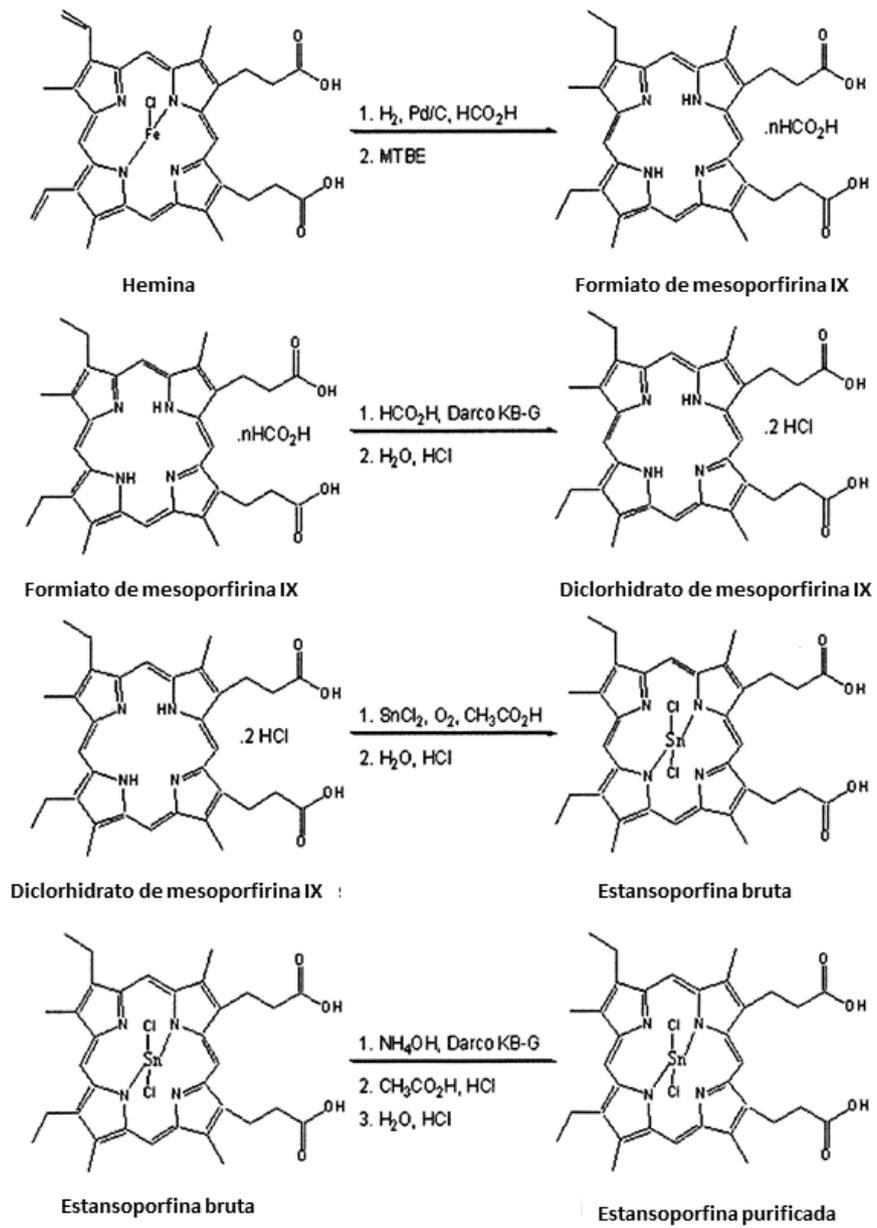


FIGURA 2

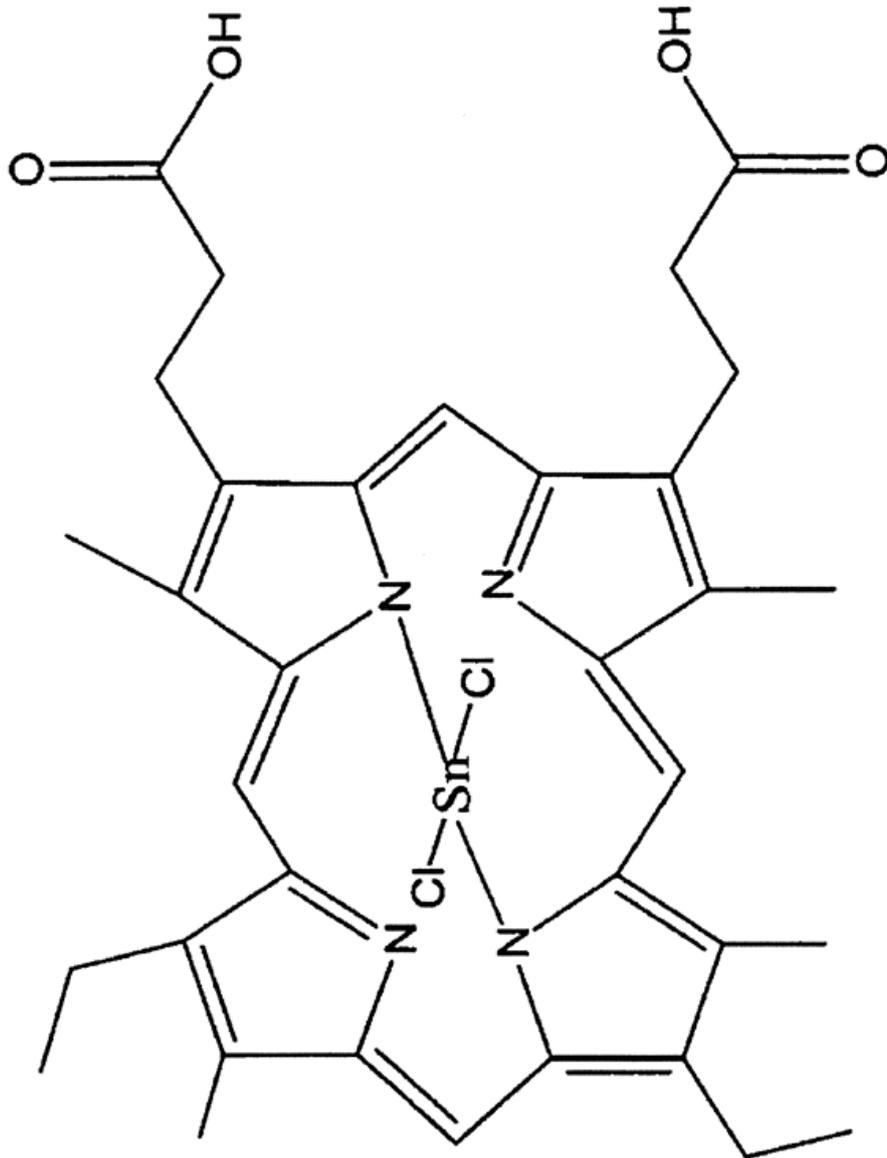


FIGURA 3

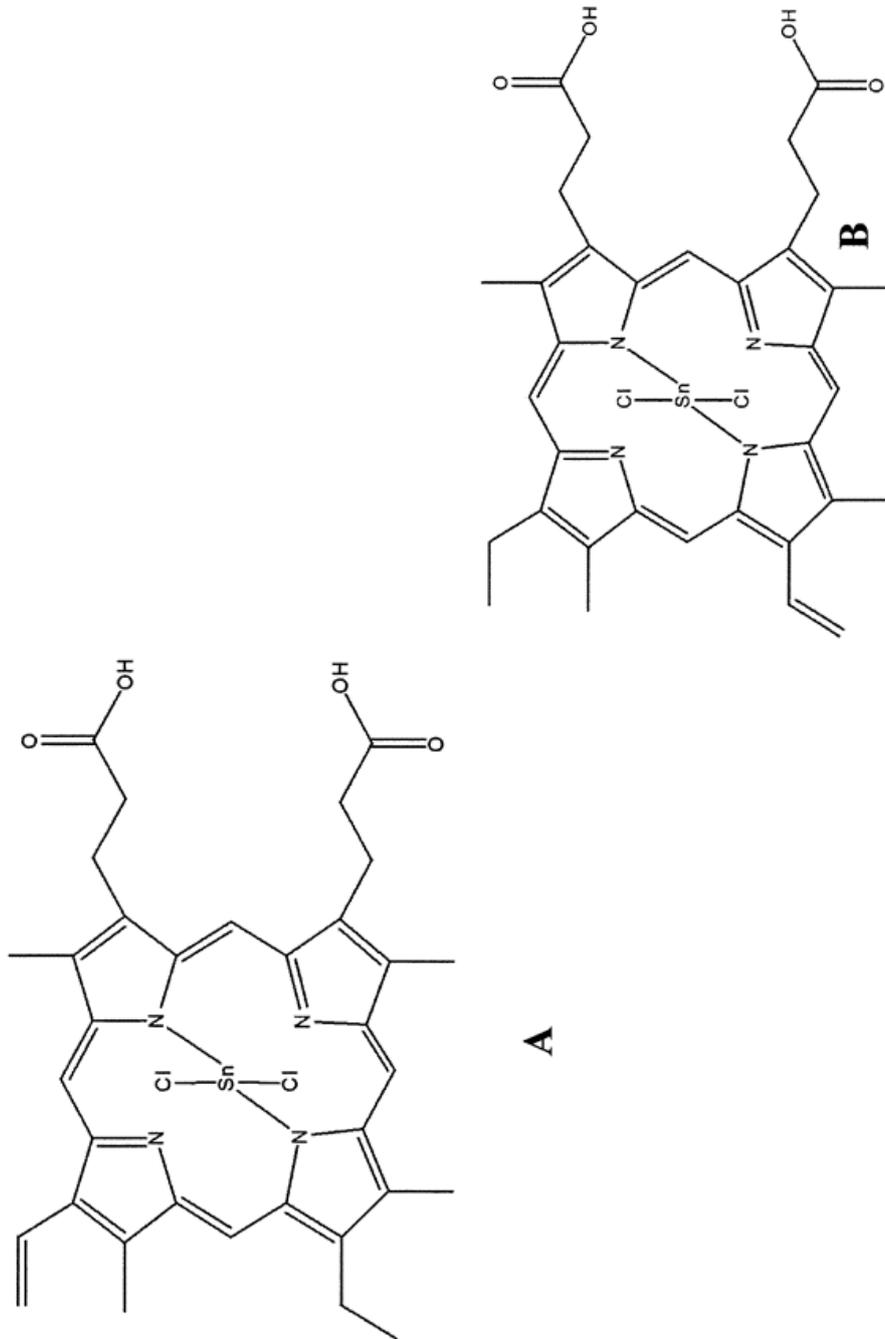


FIGURA 4

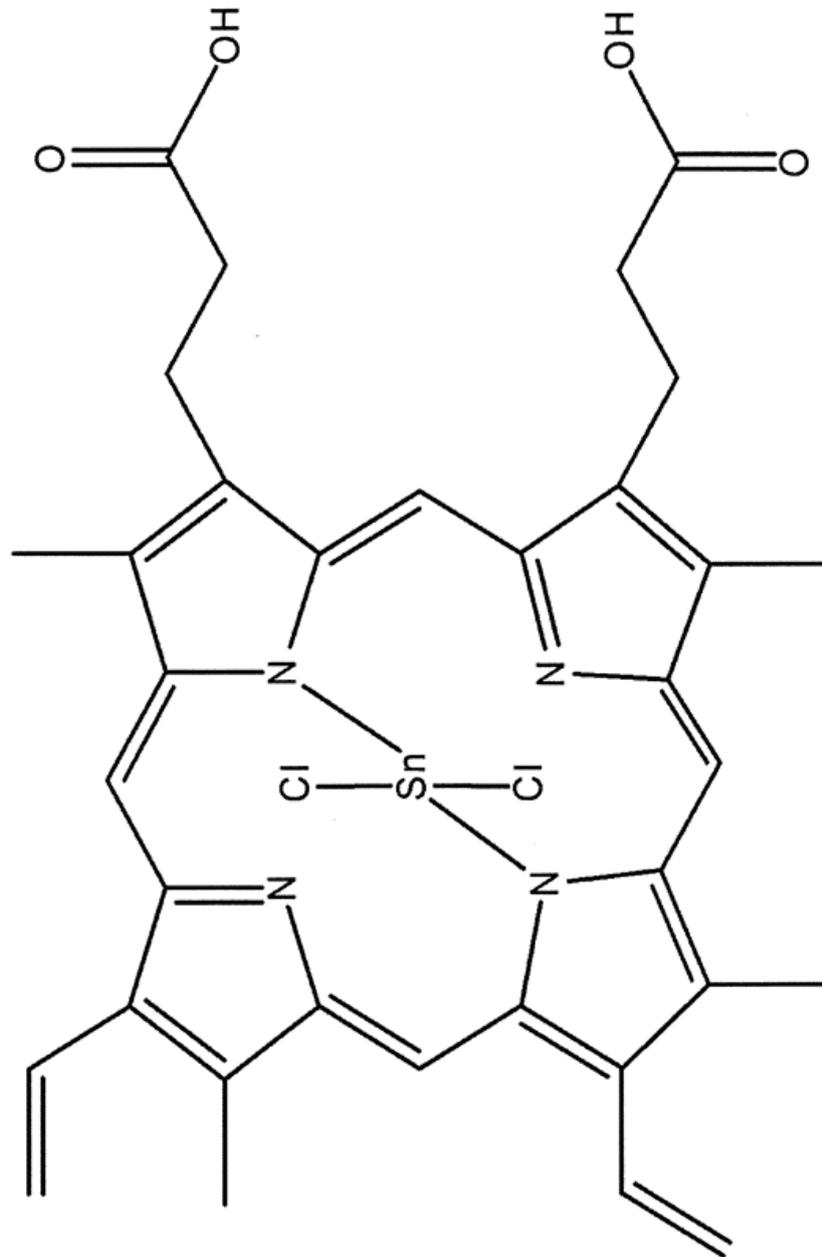


FIGURA 5