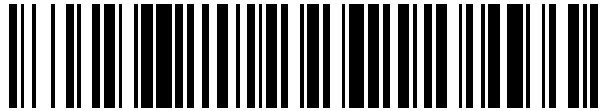


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 456**

51 Int. Cl.:

C07H 1/00 (2006.01)

C07H 17/07 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.05.2014 PCT/CN2014/078322**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.11.2014 WO14187364**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2014 E 14801188 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017 EP 3000818**

54 Título: **Método de preparación de trihidroxietil rutósido**

30 Prioridad:

21.05.2013 CN 201310188451

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.12.2017

73 Titular/es:

**JINAN XINLITE TECHNOLOGY CO. LTD (100.0%)
Room 604 Scientific Research Building 3 No.554
Zhengfeng Road Hi-Tech Zone
Jinan, Shandong 250101, CN**

72 Inventor/es:

**LI, SI;
LIANG, XUTONG y
LI, DAPENG**

74 Agente/Representante:

VÁZQUEZ FERNÁNDEZ-VILLA, Concepción

ES 2 645 456 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método de preparación de trihidroxietyl rutósido

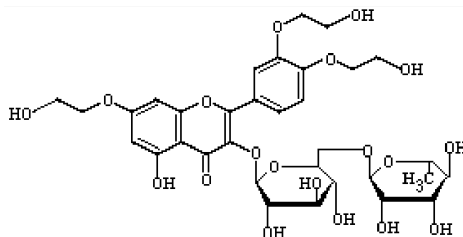
5 Campo de la invención

Esta invención se refiere a un método de preparación para un compuesto farmacéutico, específicamente, a un método de preparación de trihidroxietyl rutósido.

10 Antecedentes de la invención

La troxerutina, también llamada Venoruton, está compuesta principalmente por 7,3',4'-trihidroxietyl rutósido, (abreviado como "trihidroxietyl rutósido" en lo sucesivo). La fórmula es $C_{33}H_{42}O_{19}$, el número CAS es 7085-55-4, el peso molecular es 742,69 y la estructura química es como se muestra más abajo:

15



20

25 La troxerutina es un tipo de fármaco anticoagulante y trombolítico. Generalmente, se puede sintetizar si se hace reaccionar rutina con óxido de etileno en metanol y agua como medio en presencia de un catalizador básico. Actualmente, el ingrediente farmacéutico activo de la troxerutina está disponible en el mercado, y se vende con diferentes purezas: 60 %, 80 % y 88 %.

30 El trihidroxietyl rutósido es el ingrediente activo de la troxerutina. Cuanto mayor sea su contenido en la troxerutina, mayor será la calidad del fármaco. Sin embargo, el enfoque técnico actual para preparar troxerutina con alta pureza está lejos de ser ideal.

35 Los productos de troxerutina en el mercado incluyen formulación inyectable, solución oral y cápsula. Especialmente para inyección, la pureza no ideal de la troxerutina producida por las tecnologías actuales puede suponer un gran riesgo para las aplicaciones clínicas. En realidad, inyectar tal medicamento puede conducir a una alta prevalencia de efectos adversos, particularmente a reacciones alérgicas. El mejoramiento de la pureza de la troxerutina, específicamente, la pureza del ingrediente activo trihidroxietyl rutósido, por lo tanto, han sido objeto de estudio de un gran número de investigadores.

40

El método de preparación definitivo de la troxerutina utiliza una reacción de una sola etapa, es decir, la hidroxietilación directa de la rutina para completar la reacción. Las diferentes técnicas de hidroxietilación se basan en la utilización de diferentes agentes de hidroxietilación, medios de reacción, catalizadores, parámetros de reacción, etc. Los siguientes son ejemplos.

45

1. En la patente BG2888B1, se preparó trihidroxietyl rutósido con una pureza del 85,8 % mediante el uso de agua como disolvente, agua amoniacal como catalizador y óxido de etileno como agente de hidroxietilación.

2. En la patente CN1331697 (US6855697), se preparó trihidroxietyl rutósido con una pureza de 92 % mediante el uso de agua como disolvente, metal alcalino como catalizador y óxido de etileno como agente de hidroxietilación, y se controlaba la condición de recristalización.

50

3. En la patente US3420815, se preparó troxerutina con una pureza cromatográfica de 87,4 %, un contenido de 85,3 % y un punto de fusión de 181-183 °C mediante el uso de hidróxido de sodio como catalizador.

4. En la patente CN1554353, se preparó trihidroxietyl rutósido con un contenido de 90 % mediante el uso de disolventes orgánicos (metanol y etanol) como disolventes y piridina como catalizador.

55

5. En la patente CN1814613, se preparó trihidroxietyl rutósido con un contenido de 85 % mediante el uso de resina para controlar el valor de pH de la solución de reacción.

6. En la patente GB 1 497 157 A, se describe un proceso para preparar 7-mono-O (β -hidroxietil)-rutósido.

Una de las dificultades para preparar trihidroxietyl rutósido es que la rutina tiene cuatro grupos hidroxilo activos, todos los cuales pueden hidroxietilarse, lo que resulta en una mezcla de productos. Otra dificultad es que la rutina natural está mezclada con impurezas que tienen estructuras muy similares, lo cual dificulta la purificación. Obtener rutina con alta pureza mediante el uso de métodos convencionales constituye un reto. La patente núm. CN200810007927.2 describe un método para purificar rutina mediante el uso de cromatografía compleja reversa, que solo proporciona rutina en la escala de gramos, con una pureza de 98 %. De hecho, la rutina comercialmente disponible con baja pureza siempre se usa como materia prima para preparar troxerutina. Las impurezas en las materias primas también experimentan la reacción de hidroxietilación, lo cual genera impurezas con propiedades muy similares a las del trihidroxietyl rutósido, y tales impurezas son difíciles de eliminar. En realidad, la preparación de trihidroxietyl rutósido con alta pureza es un gran reto. Con excepción del método cromatográfico de Jun Li y otros

60

65

[2004, "Separación de troxerutina como sustancia de referencia mediante cromatografía líquida preparativa", Chinese Journal of Pharmaceuticals, 35 (5), 285-287], que es capaz de preparar trihidroxietil rutósido con una pureza de 99% como sustancia de referencia, no se ha encontrado ningún otro informe sobre la preparación de trihidroxietil rutósido con una pureza superior a 98 % mediante el uso de métodos convencionales. Aunque en el mercado se reivindica un producto con una pureza de 99 %, el método de preparación no se describe y el producto no está disponible. La pureza de la sustancia de referencia preparada por métodos actuales, incluso después de múltiples recristalizaciones, es solo de 96-97 %.

Para resolver el problema, esta invención proporciona un método de preparación de troxerutina con bajo contenido de impurezas. Específicamente, este método proporciona una troxerutina que contiene menos de 2 % de derivados no procedentes de troxerutina y más de 98 % de trihidroxietil rutósido. La esencia de esta invención se basa en una reacción en dos etapas para sintetizar trihidroxietil rutósido con la purificación del producto intermedio, por lo cual se obtiene un producto de alta pureza.

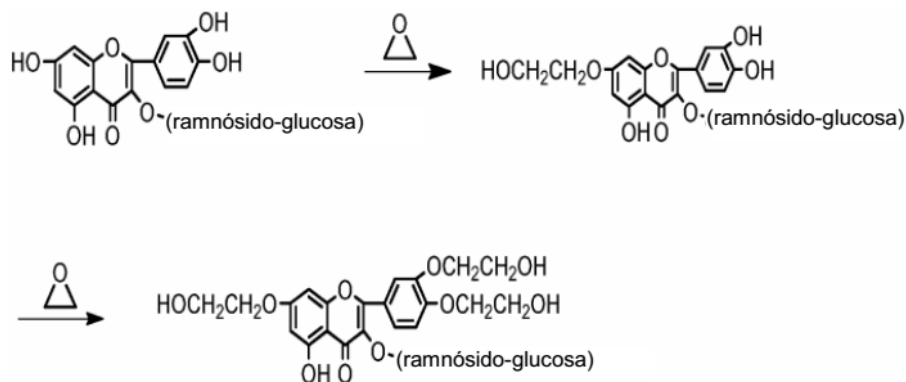
Resumen de la invención

Esta invención describe un nuevo método de preparación de troxerutina, que incluye

- (1) Preparación de 7-monohidroxietil rutósido a partir de rutina;
- (2) Purificación de 7-monohidroxietil rutósido;
- (3) Preparación de trihidroxietil rutósido mediante el uso de 7-monohidroxietil rutósido purificado; y
- (4) Purificación de trihidroxietil rutósido.

Se descubrió que el 7-monohidroxietil rutósido, como producto intermedio para la preparación de troxerutina, es significativamente diferente en propiedades en comparación con otras impurezas que contienen las materias primas. Por lo tanto, el 7-monohidroxietil rutósido se puede preparar con una pureza superior a 98 %. Al comparar con tecnologías actuales, esta invención puede usar métodos convencionales de purificación, especialmente el método de recristalización. No se necesitan equipos costosos especiales ni columnas costosas de cromatografía de separación. Por lo tanto, este método ahorra mucho el costo de fabricación y posibilita la producción industrial de trihidroxietil rutósido. Mediante el uso del método convencional es imposible obtener trihidroxietil rutósido con alta pureza debido a las similitudes en las propiedades entre las impurezas y el producto final, incluso si la recristalización del producto final se realiza repetidamente.

El enfoque sintético en esta invención se puede ilustrar como aparece más abajo:



Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Espectro de HPLC de 7-monohidroxietil rutósido, la solución de reacción en esta invención.

Figura 2: Espectro de HPLC de 7-monohidroxietil rutósido después de la purificación en esta invención.

Figura 3: Espectro de HPLC de trihidroxietil rutósido, (98 %) en esta invención.

Figura 4: Espectro de HPLC de trihidroxietil rutósido, (99 %) en esta invención.

Figura 5: Espectro de HPLC de trihidroxietil rutósido, como producto final en la patente de EE.UU. 6,855,697.

Figura 6: Espectro de HPLC de trihidroxietil rutósido (96 %) como sustancia de referencia en el mercado (Zhongjiansuo 100416-200503)

Los siguientes ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de esta invención.

Descripción detallada de la invención

5

En el presente método, la preparación de 7-monohidroxietyl rutósido en la etapa (1) puede utilizar la tecnología de la patente de EE.UU. 4,153,788, tal como el uso de bórax para proteger los grupos hidroxilo en las posiciones 5, 3' y 4'. Alternativamente, la preparación de 7-monohidroxietyl rutósido a partir de rutina también puede emplear la tecnología de la patente de EE.UU. 3,430,815, es decir, síntesis en disolventes orgánicos.

10

Durante la preparación, se usa un agente protector de hidroxilo para proteger los grupos hidroxilo de la rutina. Luego, se añade el agente de hidroxietilación al disolvente para llevar a cabo la reacción, en donde la rutina se puede comprar en el mercado, el agente protector de hidroxilo es bórax, el agente de hidroxietilación es óxido de etileno, el disolvente de la reacción se selecciona entre agua, metanol y etanol, la temperatura de reacción es de 30-50 °C, el tiempo de reacción es de 4-12 horas, la solución de reacción se deja reposar después que se completa la reacción, opcionalmente a baja temperatura, la solución se acidifica si es necesario, y el precipitado resultante puede usarse para la etapa siguiente después de la filtración.

15

20

La purificación de 7-monohidroxietyl rutósido en la etapa (2) puede usar cualquier método industrialmente disponible como la recristalización, en donde el 7-monohidroxietyl rutósido se purifica hasta una pureza mayor que 95 %, preferentemente mayor que 98 %, con la máxima preferencia mayor que 99 %, y el producto purificado se usa para una reacción posterior.

25

El solvente para la recristalización se selecciona entre agua, metanol, etanol, isopropanol y una mezcla de los mismos. La etapa de recristalización incluye disolución, cristalización y filtración.

30

La preparación de trihidroxietyl rutósido a partir del de 7-monohidroxietyl rutósido purificado en la etapa (3) puede utilizar enfoques de hidroxietilación convencionales tales como la hidroxietilación del 7-monohidroxietyl rutósido mediante el uso de óxido de etileno como agente de hidroxietilación. Después de la reacción, el producto de la reacción se pasa a través de una resina de intercambio catiónico y de una resina de intercambio aniónico para eliminar sales, o a través de una resina macroporo para eliminar impurezas. Luego se lleva a cabo la etapa (4).

35

En el proceso, se añade un agente de hidroxietilación para reaccionar con 7-monohidroxietyl rutósido, que se disuelve o dispersa en un disolvente, en donde el agente de hidroxietilación es óxido de etileno, el disolvente de la reacción se selecciona entre agua, metanol, etanol, piridina y una mezcla de los mismos, la temperatura de la reacción es de 50-80 °C, el tiempo de la reacción es de 3-8 horas, la solución se deja reposar después que se completa la reacción, opcionalmente a baja temperatura, la solución se acidifica si es necesario, y la solución resultante puede usarse para la etapa siguiente.

40

Dichas resinas de intercambio catiónico se seleccionan entre resinas de intercambio catiónico de poliestireno fuertemente ácidas tales como 007X7(732), 001X12, 001X1 y 001X16, dichas resinas de intercambio aniónico se seleccionan entre resinas de intercambio aniónico de poliestireno básicas tales como 201X4(711) y 201X7(717). El método de pasar el producto a través de las resinas se puede realizar como sigue: pasar la solución a través de una columna de resinas o añadir las resinas a la solución de reacción, agitar la mezcla y luego separar la solución del producto en bruto.

45

50

Dichas resinas macroporo se seleccionan entre D101, D201, DAB-8 y D301, las cuales pueden usarse para la purificación de formas convencionales, es decir, hacer pasar la solución acuosa filtrada del producto de reacción a través de una columna de resina, lavar la columna con agua purificada y lavar posteriormente con disolventes orgánicos de diversas concentraciones en forma de gradiente, en donde el disolvente orgánico es etanol, lo cual resulta en una solución producto de trihidroxietyl rutósido en bruto. La solución del producto bruto puede someterse a recristalización después de la concentración y el secado.

55

La etapa de purificación (4) utiliza la recristalización para preparar trihidroxietyl rutósido purificado, en donde el disolvente para la recristalización se selecciona entre agua, metanol, etanol, isopropanol y una mezcla de los mismos, y la etapa de recristalización incluye disolución, cristalización y filtración.

60

A menos que se indique de otra forma, todas las proporciones y porcentajes son valores de porcentaje en peso, y la pureza cromatográfica se refiere a los resultados que se obtienen de acuerdo con el método de análisis de troxerutina en la Farmacopea Europea 7.0. Más abajo se pueden encontrar ejemplos detallados de la preparación.

Las ventajas de esta invención incluyen las siguientes.

65

Basado en informes conocidos, la preparación de trihidroxietyl rutósido altamente puro con una pureza superior al 98 % solo es posible mediante el uso del método cromatográfico preparativo, que es extremadamente costoso, está restringido estrictamente a la investigación de laboratorio, y es imposible para la fabricación a gran escala y para una

amplia aplicación. El método descrito en esta invención toma un método más simple para obtener trihidroxietil rutósido de alta pureza, el costo es bajo y la factibilidad es grande.

5 En comparación con los métodos actuales, esta invención reducirá el costo en gran medida. Especialmente para el trihidroxietil rutósido, el costo disminuye significativamente. Los datos experimentales relevantes son los siguientes.

10 El método en la patente de EE.UU. 3,420,815: de acuerdo con este método, es imposible obtener trihidroxietil rutósido con una pureza de 98 %. La pureza cromatográfica del producto es 87,4 % y el contenido es 84,2 %. El color es amarillo oscuro. El punto de fusión es 178-182 °C. El costo es de 400-500 yuanes chinos por kilogramo. Con separación por cromatografía preparativa se puede obtener trihidroxietil rutósido con una pureza de 99 %. Sin embargo, el costo aumenta drásticamente a 5000 - 10 000 yuanes chinos por gramo.

Además, los datos relevantes para la comparación con los métodos de preparación publicados son como sigue.

15 El método en la patente de EE.UU. 6,855,697: de acuerdo con este método, es imposible obtener trihidroxietil rutósido con una pureza de 98 %. La pureza cromatográfica del producto es 92,1 % y el contenido es 90,3 %. El color es amarillo. El punto de fusión es 179-183 °C. El costo es de 500-800 yuanes chinos por kilogramo. Con separación por cromatografía preparativa se puede obtener trihidroxietil rutósido con una pureza de 99 %. Sin embargo, el costo aumenta drásticamente a 5000 - 10 000 yuanes chinos por gramo.

20 Esta invención proporciona una preparación de trihidroxietil rutósido con una pureza de 98 %. Su color es amarillo claro, el punto de fusión es de 185-187 °C y el costo es alrededor de 2000 - 3000 yuanes chinos por kilogramo.

25 La invención proporciona una preparación de trihidroxietil rutósido con una pureza de 99 %. Su color es amarillo claro, el punto de fusión es de 186-188 °C y el costo es alrededor de 3000 - 5000 yuanes chinos por kilogramo.

Los productos después de la etapa (1) y después de la purificación en esta invención se analizan con los resultados, como se muestra más abajo:

Componente	Antes de la purificación HPLC%	Después de la purificación HPLC %	Comparación de resultados
7-monohidroxietil rutósido	91,35	98,72	7,37 ↑
Impureza 1 R _f 0.5	2,01	No detectable	2,01 ↓
Impureza 2 R _f 0.9	0,67	No detectable	0,67 ↓
Impureza 3 R _f 1.1	2,35	0,73	1,98 ↓
Impureza 4 R _f 1.2	1,64	0,21	1,43 ↓
Impureza 5 R _f 1.3	1,09	0,23	0,86 ↓
Impureza 6 R _f 1.7	0,45	0,11	0,34 ↓
Impureza 7 R _f 1.8	0,26	No detectable	0,26 ↓
Nota: R _f es el tiempo de retención de la impureza con referencia al pico principal			

50 De acuerdo con la tabla anterior, se puede ver que la propiedad fisicoquímica del 7-monohidroxietil rutósido es significativamente diferente de las impurezas 1-7 en la reacción. Los efectos de la purificación son significativos

Para probar la superioridad de esta invención, también se hace una comparación con la tecnología más reciente.

55 El trihidroxietil rutósido se prepara mediante el método descrito en la patente de EE.UU. 6,855,697. Después de la reacción, el trihidroxietil rutósido en la solución de reacción se purifica mediante las etapas siguientes.

60 La solución que contiene trihidroxietil rutósido se pasa a través de una resina de intercambio catiónico 732, una resina de intercambio aniónico 717, para eliminar sales, luego se concentra bajo presión reducida y después se seca por pulverización. Se añaden 8000 ml de metanol y el sólido se calienta para disolver. Después de añadir carbón activado para refinar la inyección, la solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. El filtrado se deja reposar a temperatura ambiente durante 6 horas para permitir la cristalización. Después de la filtración, el sólido se seca a 40-50 °C y finalmente se obtiene trihidroxietil rutósido, en el cual se prueba que el contenido de trihidroxietil rutósido es 88,2 %. El sólido obtenido se recrystalizó a partir de una cantidad 20 veces mayor de metanol, y se secó. El contenido de trihidroxietil rutósido es 90,6 %.

65 La solución que contiene trihidroxietil rutósido se pasa a través de una resina de intercambio catiónico 732, de una resina de intercambio aniónico 711, para eliminar sales, luego se concentra bajo presión reducida y después se seca

5 por pulverización. Con la adición de 7000 ml de metanol-agua (37:3), el sólido se calienta para disolver. Después de añadir carbón activado para refinar la inyección, la solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. El filtrado se deja reposar a temperatura ambiente durante 6 horas para permitir la cristalización. Después de la filtración, el sólido se seca a 40-50 °C y finalmente se obtiene trihidroxietil rutósido, en el cual se prueba que el contenido de trihidroxietil rutósido es 90,1 %. El sólido que se obtiene se recrystalizó a partir de una cantidad 20 veces mayor de metanol-agua (37:3) y se secó. El contenido de trihidroxietil rutósido es 91,6 %.

10 La solución que contiene trihidroxietil rutósido se pasa a través de una resina de intercambio catiónico 001X14, de una resina de intercambio aniónico 717, para eliminar sales, luego se concentra bajo presión reducida y después se seca por pulverización. Con la adición de 9000 ml de metanol-isopropanol (95:5), el sólido se calienta para disolver. Después de añadir carbón activado para refinar la inyección, la solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. El filtrado se deja reposar a temperatura ambiente durante 6 horas para permitir la cristalización. Después de la filtración, el sólido se seca a 40-50 °C y finalmente se obtiene trihidroxietil rutósido, en el cual se prueba que el contenido de trihidroxietil rutósido es 91,7 %. El sólido que se obtiene se recrystalizó a partir de una cantidad 20 veces mayor de metanol-isopropanol (95:5), y se secó. El contenido de trihidroxietil rutósido es 92,4 %.

20 El trihidroxietil rutósido se prepara por el método que se describe en esta invención. Después de la reacción, el trihidroxietil rutósido en la solución de reacción se purifica mediante las etapas siguientes.

25 La solución que contiene trihidroxietil rutósido se pasa a través de una resina de intercambio catiónico 732, una resina de intercambio aniónico 717, para eliminar sales, luego se concentra bajo presión reducida y después se seca por pulverización. Con la adición de 8000 ml de metanol, el sólido se calienta para disolver. Después de añadir carbón activado para refinar la inyección, la solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. El filtrado se precipita luego a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de la filtración, el sólido se seca a 40-50 °C, y finalmente se obtiene trihidroxietil rutósido, en el cual se prueba que el contenido de trihidroxietil rutósido es 92,4 %. El sólido obtenido se recrystalizó a partir de una cantidad 20 veces mayor de metanol, y se secó. El contenido de trihidroxietil rutósido es 98,2 %.

30 La solución que contiene trihidroxietil rutósido se pasa a través de una resina de intercambio catiónico 732, de una resina de intercambio aniónico 711, para eliminar sales, luego se concentra bajo presión reducida y después se seca por pulverización. Con la adición de 7000 ml de metanol-agua (37:3), el sólido se calienta para disolver. Después de añadir carbón activado para refinar la inyección, la solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. El filtrado se precipita luego a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de la filtración, el sólido se seca a 40-50 °C y finalmente se obtiene trihidroxietil rutósido, en el cual se prueba que el contenido de trihidroxietil rutósido es 93,5 %. El sólido que se obtiene se recrystalizó a partir de una cantidad 20 veces mayor de metanol-agua (37:3), se refinó y se secó. El contenido de trihidroxietil rutósido es 98,3 %.

40 La solución que contiene trihidroxietil rutósido se pasa a través de una resina de intercambio catiónico 001X14, de una resina de intercambio aniónico 717, para eliminar sales, luego se concentra bajo presión reducida y después se seca por pulverización. Después de la adición de 9000 ml de metanol-isopropanol (95:5), el sólido se calienta para disolver. Después de añadir carbón activado para refinar la inyección, la solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. El filtrado se precipita luego a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de la filtración, el sólido se seca a 40-50 °C y finalmente se obtiene trihidroxietil rutósido, en el cual se prueba que el contenido de trihidroxietil rutósido es 95,8 %. El sólido que se obtiene se recrystalizó a partir de una cantidad 20 veces mayor de metanol-isopropanol (95:5), y se secó. El contenido de trihidroxietil-rutósido es 98,6 %.

50 Se puede observar en la comparación anterior que a través del mismo método de purificación, el presente método de preparación dio un resultado mucho mejor.

Basado en la tecnología existente, tal como el método en la patente de EE.UU. 6,855,697, la pureza del trihidroxietil rutósido es 91,3 %. No se pudo obtener un producto mucho más puro ni siquiera mediante recrystalización repetida a partir de una cantidad de 20 a 25 veces de metanol-isopropanol (95:5), como se muestra más abajo:

Número de recrystalización	Inicial	1	3	5	8
Pureza	91.77	92.43	93.51	94.36	95.21

60

Ejemplo 1

1. Se añaden 328 g (0,86 mol) de bórax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) en 2000 ml de agua desionizada, y se disuelven con agitación. Se añaden 605 g (0,82 mol) de rutina y se disuelven con agitación a 40-45 °C. Se obtiene una solución clara y transparente del complejo rutina-bórax. Se introducen gradualmente 88 g (2,0 mol) de óxido de etileno en la solución de reacción a 40-45 °C, con agitación, a lo que sigue una reacción de aproximadamente 6 horas. En base al análisis por HPLC, la reacción es completa. El valor de pH de la solución se ajusta a 2,0 mediante el uso de HCl 5N y se deja reposar durante 12 horas a 3-5 °C. Después de la filtración, se obtiene la torta sólida que contiene 504 g de 7-monohidroxietil rutósido y el rendimiento es 95 %.
2. Se añaden 1460 g de 7-monohidroxietil rutósido que se obtiene a partir de 1, como se describe anteriormente, en 4750 ml de agua desionizada y se calienta a 60 °C con agitación. Cuando se alcanza la disolución completa, se filtra la solución y el filtrado se mantiene a 3-5 °C durante la noche. El sólido declarado se obtiene por filtración y secado adicional a 40-50 °C durante 12 horas. Se obtienen 450 g de 7-monohidroxietil rutósido. El contenido por conteo anhidro es 98,3 %. La pureza cromatográfica es 98,6 %. El rendimiento es 89,3 % y el rendimiento total es 84,8 %.
3. Se añaden 490 g (0,7 mol) de 7-monohidroxietil rutósido que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, y 5,6 g de hidróxido de sodio en 1880 ml de agua desionizada, se calienta y se mantiene a 75-80 °C con agitación. Se introducen gradualmente 92 g (2,1 mol) de óxido de etileno en la solución de reacción, a lo que sigue una reacción durante 5-6 horas. Cuando la fracción de trihidroxietil rutósido alcanza 75 %-78 %, en base al análisis de HPLC, se detiene el suministro de óxido de etileno. Al mismo tiempo, se introduce nitrógeno en la reacción y la temperatura desciende rápidamente. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C, el valor del pH se ajusta a $5,0 \pm 0,2$ mediante el uso de HCl 3N. La solución de reacción pasa respectivamente a través de una columna de resina de intercambio catiónico 732 y a través de una columna de resina de intercambio aniónico 717, a esto le sigue la concentración bajo presión reducida y el secado por pulverización. Se obtiene un polvo sólido de 520 g. El contenido de trihidroxietil rutósido es 92,3 %. El punto de fusión es 180-183 °C. El rendimiento es 98 % y el rendimiento total es 83,1 %.
4. Se añaden 500 g de polvo sólido, tal como se obtiene a partir de 3, como se describe anteriormente, en 10 000 ml de metanol. Después de añadir 1,0 g de carbón activado para refinar la inyección, la solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. Después de una cristalización natural del filtrado a temperatura ambiente durante 6 horas, el sólido se obtiene por filtración y secado adicional a 40-50 °C. Se obtienen 410 g de trihidroxietil rutósido. El contenido es 96,8 %. El rendimiento es 82 % y el rendimiento total es 68,1 %.
5. Se añaden 410 g del polvo sólido que se obtiene a partir de 4, como se describe anteriormente, en 9500 ml de metanol. El sólido se calienta para disolver. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. El filtrado pasa a través de una precipitación natural de cristal a temperatura ambiente durante 6 horas. El sólido se obtiene después de la filtración y secado adicional a 40-50 °C al vacío. Se obtienen finalmente 338 g de trihidroxietil rutósido. El contenido es 98,2 %. La pureza cromatográfica es 98,4 %. El punto de fusión es 184-186 °C. El rendimiento es 82,5 % y el rendimiento total es 56 %.

Ejemplo 2

1. Se añaden 164 g (0,43 mol) de bórax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) y 12 g (0,3 mol) de hidróxido de sodio en 2000 ml de agua desionizada, y se disuelven con agitación. Con una adición de 605 g (0,82 mol) de rutina, la solución se calienta y se mantiene a 40-45 °C. En condiciones de agitación, se introducen gradualmente 88 g (2,0 mol) de óxido de etileno en la solución de reacción, a lo que sigue una reacción de aproximadamente 12 horas. En base al análisis por HPLC, la reacción es completa. El valor de pH de la solución se ajusta a 2,0 mediante el uso de HCl 5N y se deja reposar durante 12 horas a 3-5 °C. Después de la filtración, se obtiene una torta sólida que contiene 510 g de 7-monohidroxietil rutósido y el rendimiento es 96 %.
2. Se añaden 510 g de 7-monohidroxietil rutósido que se obtiene a partir de 1, como se describe anteriormente, (el peso total es de 1450 g, lo cual contiene 940 g de agua) en 2000 ml de agua desionizada y se calienta a 40 °C bajo agitación. La solución saturada de bicarbonato de sodio se añade gota a gota hasta que el sólido se disuelve por completo. La solución se filtra y el valor de pH del filtrado se ajusta a 4,0 mediante el uso de HCl 0,1 N. El filtrado se deja reposar a 3-5 °C durante la noche. El sólido se obtiene por filtración y secado adicional a 40-50 °C durante 12 horas. Se obtienen 433 g de 7-monohidroxietil rutósido (peso total 470 g). El contenido por conteo anhidro es 98,6 %. La pureza cromatográfica es 98,8 %. El rendimiento es 85 % y el rendimiento total es 81,6 %.
3. Se añaden 433 g (0,67 mol) de 7-monohidroxietil rutósido que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, y 5,6 g de agua amoniacal en 1880 ml de agua desionizada, se calienta y se mantiene a 75-80 °C con agitación. Se introducen gradualmente 92 g (2,1 mol) de óxido de etileno en la solución de reacción, a lo que sigue una reacción de 5-6 horas. Cuando la fracción de trihidroxietil rutósido alcanza 75-78 %, en base al análisis por HPLC, se detiene el suministro de óxido de etileno. Al mismo tiempo, se introduce nitrógeno en la reacción y la temperatura desciende rápidamente. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C, la solución de reacción se carga directamente sobre la resina macroporo pretratada D101, para su purificación, en lo cual se usa un peso total de 20 kg de resina. Cuando finaliza la carga, se usa agua desionizada para lavar hasta que el eluyente sea neutro y la

detección de cloruro por nitrato de plata sea negativa. Luego se usa 60 % de etanol para lavar hasta que el eluente sea incoloro. El eluente se recoge y se concentra hasta 2500 ml bajo presión reducida. Se obtienen 465 g de polvo sólido después del secado por pulverización. El contenido de trihidroxietil rutósido es 92 %. El rendimiento es 86 % y el rendimiento total es 70,2 %

5

4. Se añaden 465 g de polvo sólido, tal como se obtiene a partir de 3, como se describe anteriormente, en 8000 ml de metanol y se calienta para disolver. Después de añadir 1,0 g de carbón activado para refinar la inyección y de un reflujo durante 30 minutos, la solución se filtra mientras está caliente. Después de la precipitación de cristal del filtrado a temperatura ambiente durante 6 horas, el sólido se obtiene por filtración y secado adicional a 40-50 °C. El contenido es 97,2 %. El rendimiento es 82 % y el rendimiento total es 57,6 %.

10

5. Se añaden 381 g del polvo sólido que se obtiene a partir de 4, como se describe anteriormente, en 10500 ml de metanol, y se calienta para disolver. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. El filtrado se deja reposar para una precipitación natural del cristal a temperatura ambiente durante 6 horas. El sólido se obtiene después de la filtración y secado adicional a 40-50 °C al vacío. Se obtienen finalmente 314 g de trihidroxietil rutósido. El contenido es 98,3 %. La pureza cromatográfica es 98,3 %. El punto de fusión es 184-186 °C. El rendimiento es 82,5 % y el rendimiento total es 47,5 %.

15

Ejemplo 3

20

1. Se añaden 328 g (0,86 mol) de bórax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) en 2000 ml de agua desionizada, y se disuelven con agitación. Se añaden 605 g (0,82 mol) de rutina y se disuelven a 40-45 °C con agitación. Se obtiene una solución clara y transparente de rutina-bórax. Se introducen gradualmente 88 g (2,0 mol) de óxido de etileno en la solución de reacción. Después de una reacción de aproximadamente 12 horas, la reacción es completa, en base al análisis por HPLC. La solución de reacción se carga directamente sobre la resina macroporo pretratada D101, para su purificación, en la cual se usa un peso total de 25 kg de resina. Cuando finaliza la carga, se usa agua desionizada para lavar hasta que el eluente sea neutro. La columna se lava primero con etanol al 10 %, se lava adicionalmente con 10 000 ml de etanol al 60 % y finalmente se lava con etanol al 90 %. El eluente del 60 % del lavado con etanol se recoge y se concentra bajo presión reducida hasta que no haya olor a alcohol. La solución se diluye con agua hasta un volumen de 12 000 ml y se mantiene a 3-5 °C durante la noche. Después de la filtración, la torta sólida se lava más con agua helada. Se obtienen 473 g de trihidroxietil rutósido (peso total de 1440 g). El contenido por conteo anhidro es 99,3 %. La pureza cromatográfica es 99,3 %. El rendimiento es 89,3 %.

25

30

2. Se añade el agua que contiene 1440 g de sólido, que se obtiene a partir de 1, como se describe anteriormente, en 4750 ml de agua desionizada y se calienta a 60 °C con agitación. Después de la disolución completa, la solución se filtra. Luego, la solución se filtra y el valor de pH del filtrado se ajusta a 2,0 mediante el uso de HCl 3N. El filtrado se deja reposar a 3-5 °C durante la noche. El sólido se obtiene por filtración y secado adicional a 40-50 °C durante 12 horas. Se obtienen 463 g de 7-monohidroxietil rutósido (que contienen 8 % de agua). El contenido por conteo anhidro es 99,5 %. La pureza cromatográfica es 99,5 %. El rendimiento es 90,1 % y el rendimiento total es 80,5 %.

35

40

3. Se añaden 463 g (0,71 mol) de 7-monohidroxietil rutósido que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, y 5,6 g de hidróxido de sodio en 1880 ml de agua desionizada, se calienta y se mantiene a 75-80 °C con agitación. Se introducen gradualmente 92 g (2,1 mol) de óxido de etileno en la solución de reacción, a lo que sigue una reacción durante 5-6 horas. Cuando la fracción de trihidroxietil rutósido alcanza 75 %-78 %, en base al análisis por HPLC, se detiene el suministro de óxido de etileno. Al mismo tiempo, se introduce nitrógeno en la reacción y la temperatura desciende rápidamente. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C, el valor del pH se ajusta a $5,0 \pm 0,2$ mediante el uso de HCl 3N. La solución de reacción se pasa respectivamente a través de una columna de resina de intercambio catiónico 732 y de una columna de resina de intercambio aniónico 717, para eliminar sales, a continuación se concentra bajo presión reducida, y se seca por pulverización. Se obtiene un polvo sólido de 531 g. El contenido de trihidroxietil rutósido es 85 %. El punto de fusión es 180-183 °C. El rendimiento es 85 % y el rendimiento total es 68,4 %.

45

50

4. Se añaden 465 g de polvo sólido, tal como se obtiene a partir de 3, como se describe anteriormente, en 8000 ml de metanol y se calienta para disolver. Después de añadir 1,0 g de carbón activado para refinar la inyección, la solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. Después de una precipitación natural del cristal a temperatura ambiente durante 6 horas, el sólido se obtiene mediante filtración y secado adicional a 40-50 °C. Se obtienen 531 g de trihidroxietil rutósido. El contenido es 95,8 %. El rendimiento es 82 % y el rendimiento total es 56 %.

55

60

5. Se añaden 435 g del polvo sólido que se obtiene a partir de 4, como se describe anteriormente, en 10 500 ml de metanol, y se calienta para disolver. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. Después de una precipitación natural del cristal a temperatura ambiente durante 6 horas, el sólido se obtiene después de la filtración y se seca adicionalmente a 40-50 °C al vacío. Finalmente, se obtienen 354 g de trihidroxietil rutósido. El contenido es 98,4 %. La pureza cromatográfica es 98,4 %. El punto de fusión es 184-186 °C. El rendimiento es 81,5 % y el rendimiento total es 45,6 %.

65

ES 2 645 456 T3

Ejemplo 4

1. La preparación de 7-monohidroxietil rutósido es la misma que se describe en el Ejemplo 1.

5 2. Se añaden 510 g (0,71 mol) de 7-monohidroxietil rutósido que se obtiene a partir de 1, como se describe anteriormente, y 5,6 g de hidróxido de sodio a la solución mezcla de 1000 ml de agua desionizada y 800 ml de etanol. La solución se calienta y se mantiene a 70-75 °C bajo agitación. Se introducen gradualmente 92 g (2,1 mol) de óxido de etileno en la solución de reacción, a lo que sigue una reacción de 10-13 horas. Cuando la fracción de trihidroxietil rutósido alcanza 75-78 %, en base al análisis por HPLC, se detiene el suministro de óxido de etileno. Al mismo tiempo, se introduce nitrógeno en la reacción y la temperatura desciende rápidamente. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C, el valor del pH se ajusta a 5,0±0,2 mediante el uso de HCl 3N. El etanol se recicla mediante destilación al vacío. La solución de reacción se pasa respectivamente a través de una columna de resina de intercambio catiónico 732 y de una columna de resina de intercambio aniónico 717, para eliminar sales, a lo que sigue un secado por pulverización. Se obtiene un polvo sólido de 480 g. El contenido de trihidroxietil rutósido es 93,4 %.

10 3. El sólido que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, se recrystalizó de acuerdo con el método en el Ejemplo 1 mediante el uso de metanol. Se obtienen 323 g de trihidroxietil rutósido. La pureza cromatográfica es 98,6 %. El punto de fusión es 185-186 °C. El rendimiento total es 53,5 %.

20 Ejemplo 5

1. La preparación de 7-monohidroxietil rutósido es la misma que se describe en el Ejemplo 1.

25 2. Se añaden 510 g (0,71 mol) de 7-monohidroxietil rutósido y 5,6 g de hidróxido de sodio a la solución mezcla de 1000 ml de agua desionizada y 800 ml de metanol. La solución se calienta y se mantiene a 60-70 °C bajo agitación. Se introducen gradualmente 92 g (2,1 mol) de óxido de etileno en la solución de reacción, a lo que sigue una reacción de 10-13 horas. Cuando la fracción de trihidroxietil rutósido alcanza 75-78 %, en base al análisis por HPLC, se detiene el suministro de óxido de etileno. Al mismo tiempo, se introduce nitrógeno en la reacción y la temperatura desciende rápidamente. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C, el valor del pH se ajusta a 5,0±0,2 mediante el uso de HCl 3N. La solución de reacción se pasa respectivamente a través de una columna de resina de intercambio catiónico 732 y de una columna de resina de intercambio aniónico 717, para eliminar sales. El metanol se recicla mediante destilación al vacío. Se obtienen 474 g de polvo sólido después del secado por pulverización. El contenido de trihidroxietil rutósido es 94,5 %. El punto de fusión es 181-184 °C. El rendimiento es 84 %.

30 3. El sólido que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, se recrystalizó de acuerdo con el método 1 en el Ejemplo 2 mediante el uso de metanol. Se obtienen 317 g de trihidroxietil rutósido. La pureza cromatográfica es 98,7 %. El punto de fusión es 185-186 °C. El rendimiento total es 52,5 %.

35 40 Ejemplo 6

1. La preparación de 7-monohidroxietil rutósido es la misma que se describe en el Ejemplo 1.

45 2. Dentro de un autoclave de 5000 ml, se añaden 510 g (0,71 mol) de 7-monohidroxietil rutósido, 10 ml de trimetilamina, 2000 ml de metanol y 132 g (3,0 moles) de óxido de etileno como lo último. Una vez finalizada la adición, el autoclave se sella inmediatamente, se calienta y se mantiene a 75-80 °C bajo agitación, a lo que sigue una reacción de 2-3 horas. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C y la presión se libera, la solución de reacción se filtra. La solución filtrada se pasa respectivamente a través de una columna de resina de intercambio catiónico 732 y de una columna de resina de intercambio aniónico 717. El valor de pH de la solución se ajusta a 5,0±0,2 mediante el uso de HCl 5N. Se deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración se obtiene cristal y se obtiene la torta sólida de 380 g.

50 3. La torta sólida que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, se vuelve a disolver en una cantidad 20 veces mayor de metanol caliente. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra. Se deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración, el cristal se seca al vacío a 40-50 °C. El contenido de trihidroxietil rutósido es 98,1 %. El punto de fusión es 185-186 °C. El rendimiento es 58 %.

Ejemplo 7

60 1. La preparación de 7-monohidroxietil rutósido es la misma que se describe en el Ejemplo 1.

2. Dentro de un autoclave de 5000 ml, se añaden 510 g (0,71 mol) de 7-monohidroxietil rutósido, 10 ml de dietilamina, 2000 ml de metanol y 132 g (3,0 mol) de óxido de etileno como lo último. Una vez finalizada la adición, el autoclave se sella inmediatamente, se calienta y se mantiene a 75-80 °C bajo agitación, a lo que sigue una reacción de 2-3 horas. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C y la presión se libera, se filtra la solución de reacción. El filtrado se pasa respectivamente a través de una columna de resina de intercambio catiónico 732 y de una columna de resina de intercambio aniónico 717. El valor de pH de la solución se ajusta a 5,0±0,2 mediante el uso de HCl 5N.

ES 2 645 456 T3

Se deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración se obtiene cristal y se obtiene una torta sólida de 375 g.

5 3. La torta sólida que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, se vuelve a disolver en una cantidad 20 veces mayor de metanol-isopropanol (37:3) caliente. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra. Se deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración se obtiene cristal, a lo que sigue un secado al vacío a 40-50 °C. Se obtiene un polvo sólido de 302 g. El contenido de trihidroxietil rutósido es 98,3 %. El punto de fusión es 184-186 °C. El rendimiento es 57 %.

10 Ejemplo 8

1. La preparación de 7-monohidroxietyl rutósido es la misma que se describe en el Ejemplo 1.

15 2. Dentro de un autoclave de 5000 ml, se añaden 510 g (0,71 mol) de 7-monohidroxietyl rutósido, 30 ml de agua amoniacal, 2000 ml de metanol y 154 g (3,5 moles) de óxido de etileno. Una vez finalizada la adición, el autoclave se sella inmediatamente, se calienta y se mantiene a 75-80 °C con agitación, a lo que sigue una reacción de 2-3 horas. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C y la presión se libera, la solución de reacción se puede filtrar. La solución filtrada pasa respectivamente a través de la columna de resina de intercambio catiónico 732 y de la columna de resina de intercambio aniónico 717. El valor de pH de la solución se ajusta a 5,0±0,2 mediante el uso de HCl 5N. Se
20 deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración se obtiene cristal y se obtienen 360 g de torta sólida.

25 3. La torta sólida que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, se vuelve a disolver en una cantidad 20 veces mayor de metanol caliente. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra. Se deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración se obtiene cristal, a lo que sigue el secado al vacío a 40-50 °C. Se obtienen 290 g de polvo sólido. El contenido de trihidroxietil rutósido es 98,2 %. El punto de fusión es 184-186 °C. El rendimiento es 55 %.

30 Ejemplo 9

1. La preparación de 7-monohidroxietyl rutósido es la misma que se describe en el Ejemplo 1.

35 2. Dentro de un autoclave de 5000 ml, se añaden 510 g (0,71 mol) de 7-monohidroxietyl rutósido, 10 ml de piridina, 1600 ml de metanol, 400 ml de metanol y 154 g (3,5 moles) de óxido de etileno como lo último. Una vez finalizada la adición, el autoclave se sella inmediatamente, se calienta y se mantiene a 75-80 °C bajo agitación, a lo que sigue una reacción de 2-3 horas. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C y la presión se libera, se filtra la solución de reacción. El filtrado se pasa respectivamente a través de una columna de resina de intercambio catiónico 732 y de una columna de resina de intercambio aniónico 717. El valor de pH de la solución se ajusta a 5,0±0,2 mediante el uso de HCl 5N. Se
40 deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración se obtiene cristal y se obtienen 420 g de torta sólida.

45 3. La torta sólida que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, se vuelve a disolver en una cantidad 20 veces mayor de metanol-etanol (95:5) y se calienta para disolver. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra. Se deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración se obtiene cristal, a lo que sigue un secado al vacío a 40-50 °C. Se obtienen 336 g de polvo sólido. El contenido de trihidroxietil rutósido es 98,2 %. El punto de fusión es 184-186 °C. El rendimiento es 64 %.

Ejemplo 10

50 1. La preparación de 7-monohidroxietyl rutósido es la misma que se describe en el Ejemplo 1.

55 2. Dentro de un autoclave de 5000 ml, se añaden 510 g (0,71 mol) de 7-monohidroxietyl rutósido, 10 ml de piridina, 2000 ml de metanol y 154 g (3,5 mol) de óxido de etileno como lo último. Una vez finalizada la adición, el autoclave se sella inmediatamente, se calienta y se mantiene a 75-80 °C con agitación, a lo que sigue una reacción de 2-3 horas. Cuando la temperatura es inferior a 40 °C y se libera la presión, el valor de pH de la solución se ajusta a 5,0±0,2 mediante el uso de HCl 5N. Se deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración se obtiene cristal y se obtienen 410 g de torta sólida.

60 3. La torta sólida que se obtiene a partir de 2, como se describe anteriormente, se vuelve a disolver en una cantidad 20 veces mayor de metanol y se calienta para disolver. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra. Se deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración se obtiene cristal, a lo que sigue un secado al vacío a 40-50 °C. Se obtiene un polvo sólido de 310 g. El contenido de trihidroxietil rutósido es 98,3 %. El punto de fusión es 184-186 °C. El rendimiento es 61 %.

65 Ejemplo 11

ES 2 645 456 T3

1. Se añaden 100 g de trihidroxietil-rutósido con una pureza del 98,7 % según se obtiene del Ejemplo 5 en 3000 ml de metanol-etanol. La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra. Después de la filtración, el cristal se seca al vacío a 40-50 °C. Se obtienen 80,2 g de trihidroxietil rutósido. La pureza cromatográfica es 98,8 %. El contenido es 98,8 %. El punto de fusión es 186-188 °C.

5

2. Se añaden 80 g de trihidroxietil rutósido con una pureza de 98,8 %, como se ha obtenido anteriormente, en 2400 ml de metanol-isopropanol (95:5). La solución se calienta a reflujo durante 30 minutos y se filtra mientras está caliente. Se deja reposar el filtrado durante 6-8 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración, el cristal se seca al vacío a 40-50 °C. Se obtienen 64,3 g de trihidroxietil rutósido. La pureza cromatográfica es 99,2 %. El contenido es 99,2 %. El punto de fusión es 187-189 °C.

10

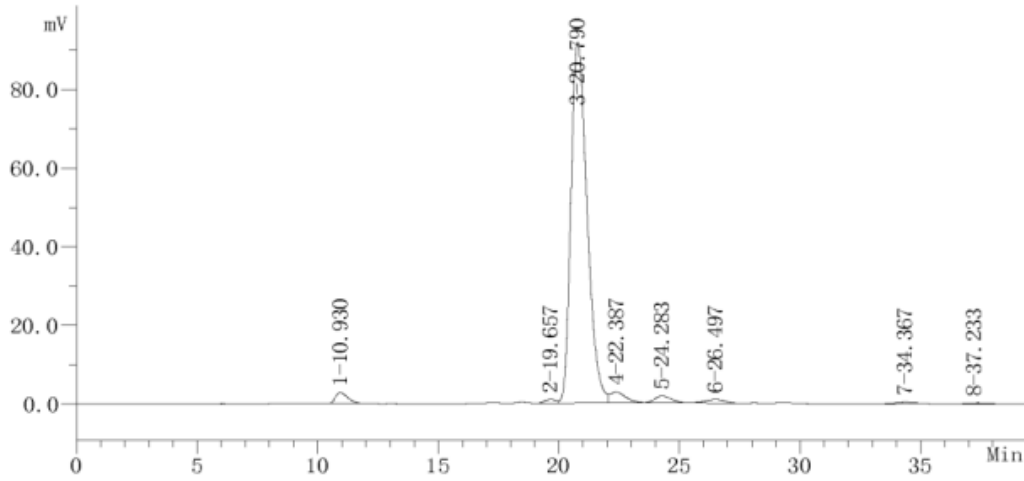
15

REIVINDICACIONES

1. Un método de preparación de trihidroxietil rutósido, que se caracteriza porque el 7-monohidroxietil rutósido se prepara primero por etilación de la rutina, después de eso se purifica y luego se convierte en trihidroxietil rutósido mediante hidroxietilación, en donde:
- 5 en la etapa de preparación de 7-monohidroxietil rutósido, los grupos hidroxilo de la rutina están protegidos por un agente protector de hidroxilo antes de la reacción con un agente de hidroxietilación en un disolvente, en donde el agente protector de hidroxilo es bórax, el agente de hidroxietilación es óxido de etileno, el disolvente se selecciona entre agua, metanol y etanol, la temperatura de la reacción es de 30-50 °C y el tiempo de reacción es de 4-14 horas;
- 10 en la etapa de purificación de 7-monohidroxietil rutósido, se usa un método de recristalización para purificación, en donde el disolvente para recristalización se selecciona entre agua, metanol, etanol, isopropanol y una mezcla de los mismos, y en donde el método de recristalización incluye disolución, cristalización y filtración;
- 15 en la etapa de preparación de trihidroxietil rutósido a partir de 7-monohidroxietil rutósido purificado, se añade un agente de hidroxietilación después de disolver o dispersar 7-monohidroxietil rutósido en un disolvente, en donde el agente de hidroxietilación es óxido de etileno, el disolvente se selecciona entre agua, metanol, etanol, piridina y una mezcla de los mismos, un catalizador se selecciona entre hidróxido de sodio, hidróxido de potasio y agua amoniacal, la temperatura de la reacción es de 50-80 °C y el tiempo de la reacción es de 3-8 horas, y el producto se pasa a través de resinas catiónicas y aniónicas, o se trata con resina macroporo después de completarse la reacción; en donde dichas resinas catiónicas se seleccionan entre resinas de intercambio catiónico de poliestireno fuertemente acídicas, tales como 007X7(732), 001X12, 001X1 y 001X16, las resinas aniónicas se seleccionan entre resinas de intercambio aniónico de poliestireno fuertemente básicas, tales como 201X4(711) y 201X7(717); en donde dichas resinas macroporo se seleccionan entre resinas macroporo de poliestireno no polar, tales como D101, Shanshi101, y resinas macroporo de baja polaridad, tales como D_A, DAB-8 y D301;
- 20 en la etapa de purificación de trihidroxietil rutósido, se usa un método de recristalización para la purificación, donde el disolvente para la recristalización se selecciona entre agua, metanol, etanol, isopropanol y una mezcla de los mismos, y en donde el método de recristalización incluye disolución, cristalización y filtración.
- 30
2. El método de preparación de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende las siguientes etapas:
- (1) Preparación de 7-monohidroxietil rutósido a partir de rutina;
- (2) Purificación de 7-monohidroxietil rutósido;
- (3) Preparación de trihidroxietil rutósido a partir de 7-monohidroxietil-rutósido purificado;
- 35 (4) Purificación de trihidroxietil rutósido.
3. El método de preparación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el 7-monohidroxietil rutósido se purifica hasta una pureza de al menos 95 por ciento en peso, antes de la reacción siguiente.
- 40
4. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el 7-monohidroxietil rutósido se purifica hasta una pureza de al menos 98 por ciento en peso, antes de la reacción siguiente.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el 7-monohidroxietil rutósido se purifica hasta una pureza de al menos 99 por ciento en peso, antes de la reacción siguiente.
- 45
6. El método de preparación de acuerdo con la reivindicación 5, en donde:
- en la etapa de preparación de 7-monohidroxietil-rutósido, el agente protector de hidroxilo es bórax, el agente de hidroxietilación es óxido de etileno, el disolvente se selecciona entre agua, metanol y etanol, la temperatura de la reacción es de 30-50 °C y el tiempo de reacción es de 4-12 horas;
- 50 en la etapa de purificación de 7-monohidroxietil rutósido, se usa un método de recristalización para la purificación, en donde el disolvente para la recristalización se selecciona entre agua, metanol, etanol y una mezcla de los mismos;
- en la etapa de preparación de trihidroxietil rutósido a partir de 7-monohidroxietil rutósido purificado, el agente de hidroxietilación es óxido de etileno, el disolvente se selecciona entre agua, metanol, etanol y una mezcla de los mismos, la temperatura de la reacción es de 50-80 °C y el tiempo de la reacción es de 3-13 horas, y el producto se pasa a través de resinas catiónicas y aniónicas para eliminar sales, o se trata con resina macroporo para eliminar impurezas después que la reacción se completa;
- 55 en la etapa de purificación de trihidroxietil rutósido, se usa la recristalización, en donde el disolvente de recristalización se selecciona entre agua, metanol, etanol, y una mezcla de los mismos.
- 60
7. El método de preparación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el producto hidroxietilado contiene menos de 2 por ciento en peso de derivados no hidroxietilados del rutósido.
8. El método de preparación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el trihidroxietil rutósido final contiene menos de 2 por ciento en peso de impurezas.
- 65

9. El método de preparación de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el trihidroxietil rutósido final contiene menos de 1 por ciento en peso de impurezas.

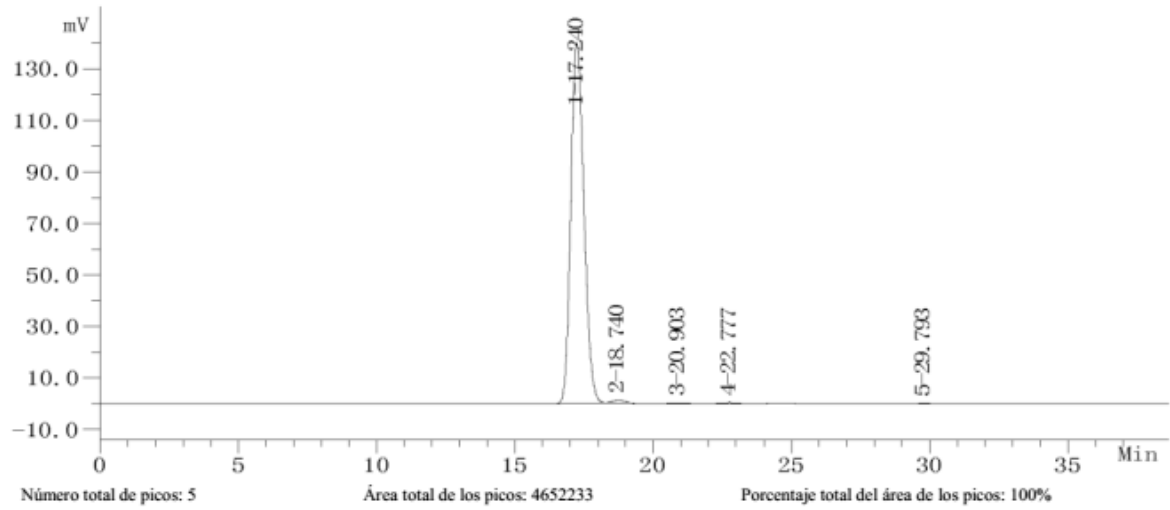
FIGURA 1



Número total de picos: 8 Área total de los picos: 4681591 Área total de los picos en porcentaje: 100%

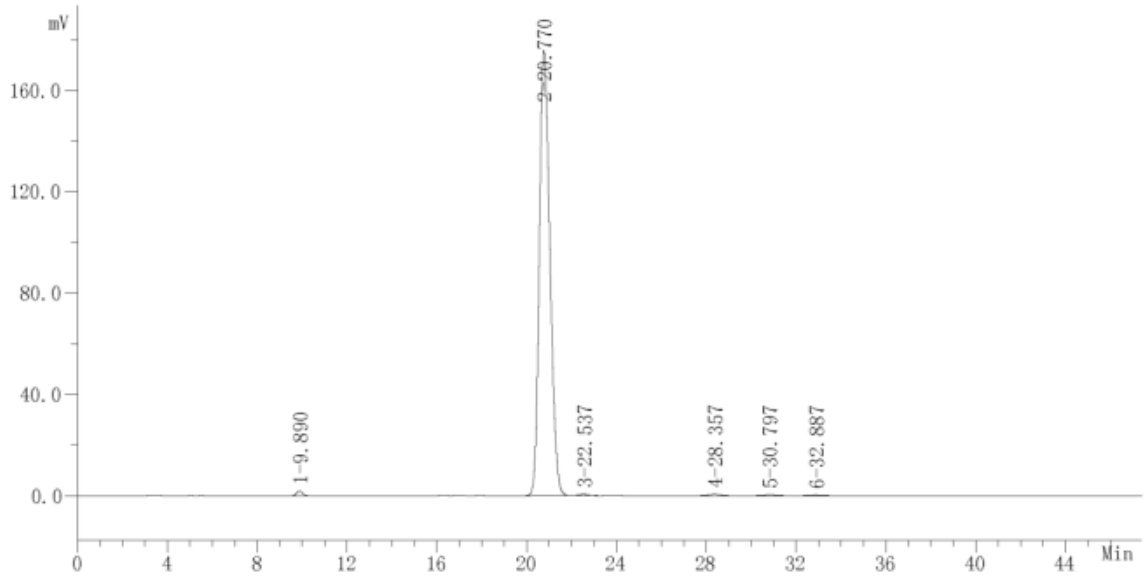
No.	Tiempo de retención	Área del pico	Altura del pico	Resultado del análisis (%)
1	10.930	94276	2724	2.0138
2	19.657	31250	952	0.6675
3	20.790	4276620	91844	91.3497
4	22.387	118287	2641	2.5266
5	24.283	76681	1665	1.6379
6	26.497	50959	922	1.0885
7	34.367	21127	375	0.4513
8	37.233	12392	202	0.2647

FIGURA 2



No.	Tiempo de retención	Área del pico	Altura del pico	Resultado del Análisis (%)
1	17.240	4592575	139973	98.7176
2	18.740	33852	1102	0.7277
3	20.903	9848	295	0.2117
4	22.777	10661	312	0.2292
5	29.793	5297	133	0.1139

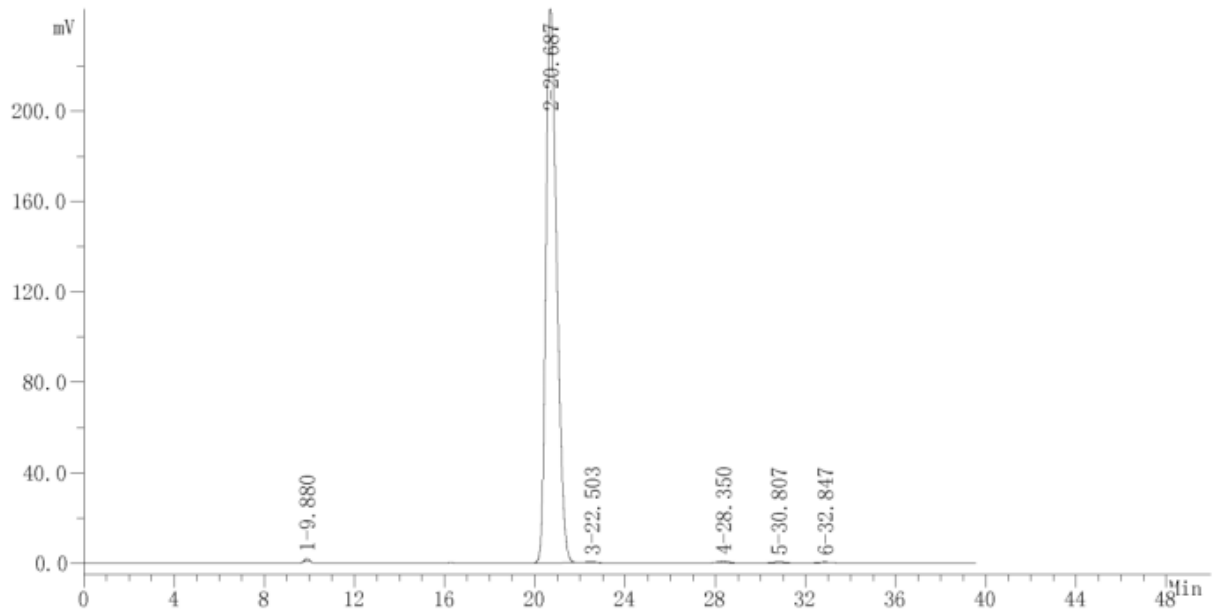
FIGURA 3



Número total de picos: 6 Área total de los picos: 5826677 Porcentaje total de área de los picos: 100%

No.	Tiempo de retención	Área del pico	Altura del pico	Resultado del Análisis (%)
1	9.890	34436	1950	0.5910
2	20.770	5729735	175706	98.3363
3	22.537	13858	452	0.2378
4	28.357	22230	545	0.3815
5	30.797	14343	341	0.2462
6	32.887	12075	279	0.2072

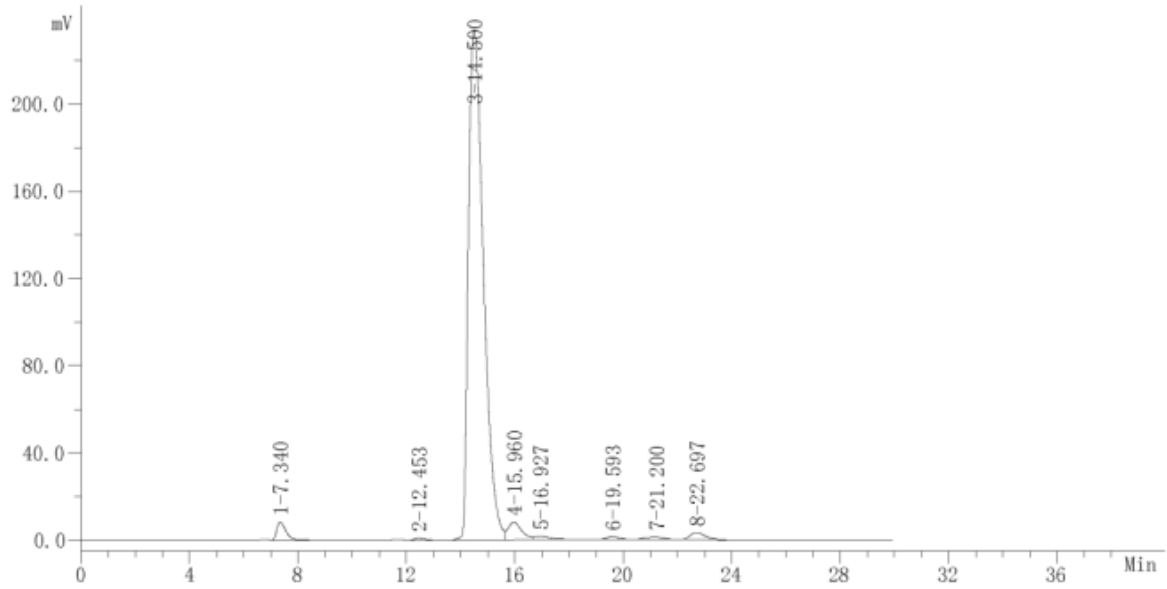
FIGURA 4



Número total de picos: 6 Área total de los picos: 8271327 Porcentaje total del área de los picos: 100%

No.	Tiempo de retención	Área del pico	Altura del pico	Resultado del Análisis (%)
1	9.880	14456	1201	0.1748
2	20.687	8201448	246240	99.1552
3	22.503	10961	418	0.1325
4	28.350	17924	555	0.2167
5	30.807	16019	431	0.1937
6	32.847	10519	317	0.1272

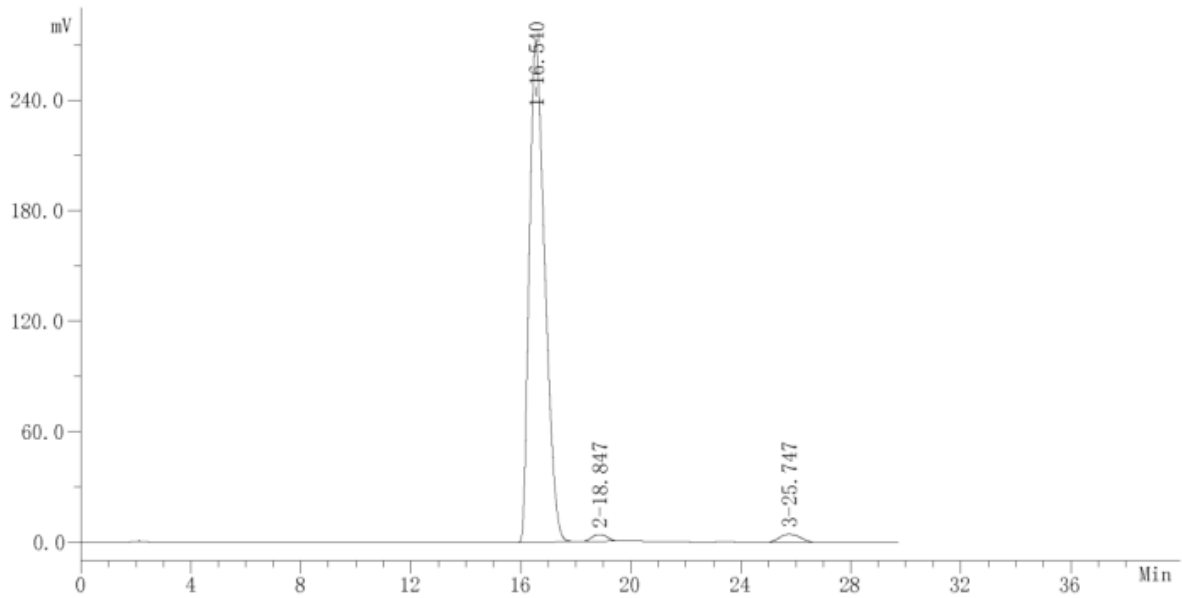
FIGURA 5



Número total de picos: 8 Área total de los picos: 9820227 Porcentaje total del área de los picos: 100%

No.	Tiempo de retención	Área del pico	Altura del pico	Resultado del análisis (%)
1	7.340	189063	8223	1.9252
2	12.453	19055	723	0.1940
3	14.500	9012560	233902	91.7755
4	15.960	286744	8152	2.9199
5	16.927	68807	1485	0.7007
6	19.593	47030	1367	0.4789
7	21.200	61357	1169	0.6248
8	22.697	135612	3341	1.3809

FIGURA 6



Número total de picos: 3 Área total de los picos: 11038969 Porcentaje total del área de los picos: 100%

No.	Tiempo de retención	Área del pico	Altura del pico	Resultado del análisis (%)
1	16.540	10665608	272225	96.6178
2	18.847	145943	3736	1.3221
3	25.747	227419	4344	2.0601