

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 713 324**

51 Int. Cl.:

**C07D 279/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.10.2014 PCT/GB2014/053007**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.04.2015 WO15052496**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2014 E 14789349 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2018 EP 3055291**

54 Título: **Métodos de síntesis química de compuestos de diaminofenotiazinio, incluyendo cloruro de metiltioninio (MTC)**

30 Prioridad:

**07.10.2013 GB 201317702**

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

**21.05.2019**

73 Titular/es:

**WISTA LABORATORIES LTD. (100.0%)  
25 Bukit Batok Crescent, The Elitist 06-13  
Singapore 658066, SG**

72 Inventor/es:

**SINCLAIR, JAMES PETER;  
NICOLL, SARAH LOUISE y  
STOREY, JOHN MERVYN DAVID**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 713 324 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

Métodos de síntesis química de compuestos de diaminofenotiazinio, incluyendo cloruro de metiltioninio (MTC)

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere en general al campo de la síntesis y purificación química y, más específicamente, a métodos para la síntesis y la purificación de determinados compuestos de 3,7-diamino-fenotiazin-5-io (denominados en el presente documento "compuestos de diaminofenotiazinio") incluyendo el cloruro de metiltioninio (MTC) (también conocido como azul de metileno). También se describen los compuestos resultantes (alta pureza), las composiciones que los comprenden (por ejemplo, comprimidos, cápsulas) y su uso en métodos de inactivación de patógenos y métodos de tratamiento médico y diagnóstico, etc., por ejemplo, para taupatías, la enfermedad de Alzheimer (EA), el cáncer de piel, el melanoma, enfermedades víricas, enfermedades bacterianas y enfermedades protozoarias.

15 **Antecedentes**

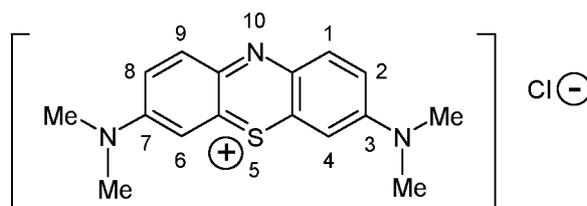
En toda la presente memoria descriptiva, incluyendo las reivindicaciones a continuación, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que la palabra "comprende" y las variaciones tales como "comprenden" y "que comprende" implican la inclusión de un número entero, etapa o grupo de números enteros o etapas declarado, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

Debe observarse que, como se usa en la memoria descriptiva y en cualquier reivindicación adjunta, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen los referentes plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a "un vehículo farmacéutico" incluye mezclas de dos o más de dichos vehículos y similares.

Los intervalos se expresan con frecuencia en el presente documento como de "aproximadamente" un valor particular y/o a "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa dicho intervalo, otra realización incluye de un valor particular y/o a otro valor particular. De forma similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente "aproximadamente", se entenderá que el valor particular forma otra realización.

Cloruro de metiltioninio (MTC) (también conocido como azul de metileno)

35 El cloruro de metiltioninio (MTC) (también conocido como azul de metileno (MB); cloruro de metiltionina; cloruro de tetrametiltionina; cloruro de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazin-5-io; Azul 9; cloruro de tetrametiltionina; cloruro de 3,7-bis(dimetilamino)fenazationio; azul suizo; I.C. 52015; I.C. Disolvente Azul 8; violeta de anilina; y Urolene Blue®) compuesto orgánico tricíclico hidrosoluble, que tiene un peso molecular bajo (319,86), de la siguiente fórmula:



40 MTC

El cloruro de metiltioninio (MTC) (también conocido como azul de metileno), quizás el colorante de fenotiazina e indicador de redox mejor conocido, también se ha usado como una sonda óptica de sistemas biofísicos, como un intercalador en materiales nanoporosos, como mediador redox y en imágenes fotoelectroquímicas.

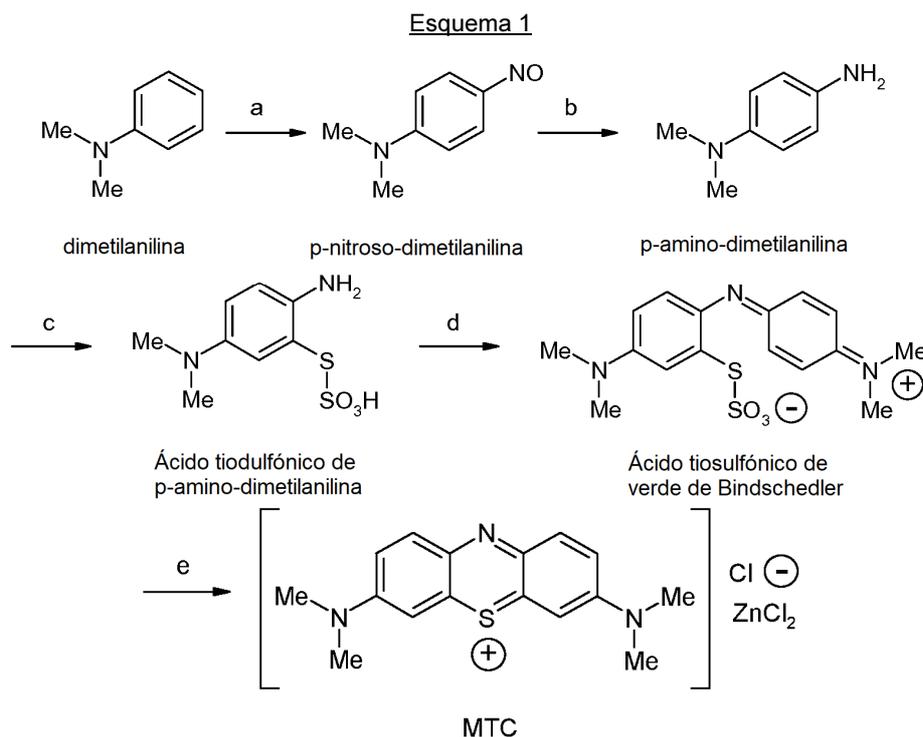
45 Véase, por ejemplo, Índice de Color (Vol. 4, 3ª edición, 1971) y Lillie et al., 1979 y las referencias citadas en el mismo.

El MTC se usa actualmente para tratar la metahemoglobinemia (una afección que se produce cuando la sangre no puede suministrar oxígeno donde se necesita en el cuerpo). El MTC también se usa como un colorante médico (por ejemplo, para teñir determinadas partes del cuerpo antes o durante la cirugía); un diagnóstico (por ejemplo, tal como un colorante indicador para detectar determinados compuestos presentes en la orina); un antiséptico urinario leve; un estimulante para las superficies mucosas; un tratamiento y un preventivo para los cálculos renales; y en el diagnóstico y el tratamiento del melanoma.

55 El MTC se ha usado para tratar la malaria ya sea individualmente (Guttman & Ehrlich, 1891) o en combinación con cloroquina (Schirmer et al. 2003; Rengelhausen et al. 2004).

La malaria en los seres humanos es provocada por una de las cuatro especies de protozoos del género

- Plasmodium: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* o *P. malariae*. Todas las especies se transmiten por la picadura de un mosquito *Anopheles* hembra infectado. Ocasionalmente, la transmisión se produce por transfusión de sangre, trasplante de órganos, intercambio de agujas o congénitamente de la madre al feto. La malaria provoca 300-500 millones de infecciones en todo el mundo y aproximadamente 1 millón de muertes al año. Sin embargo, la resistencia a los fármacos es una preocupación importante y es mayor para *P. falciparum*, la especie que representa casi todas las muertes relacionadas con la malaria. Los fármacos o combinaciones de fármacos que se recomiendan actualmente para la profilaxis de la malaria incluyen clorhidrato de cloroquina/proguanilo, mefloquina, doxiciclina y primaquina.
- El MTC (con el nombre Virostat, de Bioenvision Inc., Nueva York) ha de que se muestra una potente actividad viricida in vitro. Específicamente, Virostat es eficaz contra virus tales como el VIH y el Virus del Nilo Occidental en ensayos de laboratorio. El virus del Nilo Occidental (VNO) es una enfermedad potencialmente grave que afecta al sistema nervioso central. La gran mayoría de las personas infectadas no mostrarán síntomas visibles o mostrarán síntomas leves parecidos a la gripe, tales como fiebre y dolor de cabeza. Aproximadamente uno de cada 150 desarrollará síntomas graves, tal como temblores, convulsiones, debilidad muscular, pérdida de la visión, entumecimiento, parálisis o coma. En general, el VNO se transmite por la picadura de un mosquito infectado, pero también puede propagarse a través de transfusiones de sangre, trasplantes de órganos, lactancia materna o durante el embarazo de madre a hijo. Virostat también se encuentra actualmente en ensayos clínicos para el tratamiento de la hepatitis C crónica. La hepatitis C es una infección vírica del hígado. El virus, el VHC, es una causa importante de hepatitis aguda y de enfermedad hepática crónica, que incluye la cirrosis y el cáncer de hígado. El VHC se transmite principalmente por contacto directo con la sangre humana. Las principales causas de infección por el VHC en todo el mundo son el uso de transfusiones de sangre no examinadas y la reutilización de agujas y jeringuillas que no se han esterilizado adecuadamente. La Organización Mundial de la Salud ha declarado que la hepatitis C es un problema de salud mundial, con aproximadamente el 3 % de la población mundial infectada con el VHC y varía considerablemente según la región. La prevalencia en los EE.UU. se estima en el 1,3 % o aproximadamente 3,5 millones de personas. Egipto contiene la prevalencia más alta de hepatitis C en el mundo, estimada en más del 20 % de los aproximadamente 62 millones de habitantes de la nación.
- El MTC, cuando se combina con la luz, puede evitar la replicación de ácidos nucleicos (ADN o ARN). El plasma, las plaquetas y los glóbulos rojos no contienen ADN o ARN nuclear. Cuando el MTC se introduce en los componentes de la sangre, atraviesa las paredes celulares bacterianas o la membrana vírica y después se mueve hacia el interior de la estructura del ácido nucleico. Cuando se activan con la luz, los compuestos se unen al ácido nucleico del patógeno vírico o bacteriano, evitando la replicación del ADN o ARN. Debido a que el MTC está diseñado para desactivar patógenos, tiene el potencial de reducir el riesgo de transmisión de patógenos que no se detectarían mediante ensayos.
- Se ha descubierto que el MTC y los derivados del mismo (por ejemplo, "compuestos de diaminofenotiazinio") son útiles en el tratamiento de taupatías (tales como, pero no limitadas a, la enfermedad de Alzheimer) (véase, por ejemplo, Wischik, C.M., et al., 1996, 2002).
- El MTC se describió por primera vez en una Patente alemana en 1877 (*Badische Anilin- und Soda-Fabrik*, 1877). En esa Patente, el MTC se sintetizó mediante nitrosilación de dimetilnilina, reducción posterior para formar *N,N*-dimetil-1,4-diaminobenceno y posterior acoplamiento oxidativo en presencia de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) y cloruro de hierro (III) (FeCl<sub>3</sub>).
- Berthsen describió estudios posteriores de MTC y métodos para su síntesis (véase Berthsen, 1885a, 1885b, 1889).
- Se describieron síntesis adicionales de MTC y compuestos relacionados en el documento DE46805 y el documento DE47345 usando un agente reductor de cinc. Fierz-David y Blangley, 1949, también describen métodos para la síntesis de MTC a partir de dimetilnilina, como se ilustra en el siguiente esquema.



5

En la etapa (a), la nitrosodimetilanilina se prepara a partir de dimetilaniлина por tratamiento con nitrito ( $\text{NaNO}_2$ ) en solución acuosa de ácido (HCl). En la etapa (b), el compuesto nitroso se reduce para formar p-aminodimetilanilina usando solución acuosa de ácido (HCl) adicional usando polvo de cinc. El residuo metálico después de la etapa (b) se retira por filtración y el filtrado es oxidado en presencia de ácido tiosulfónico, ácido sulfúrico y solución de cloruro de cinc no reductor, etapa (c). La oxidación adicional en presencia de dimetilaniлина da como resultado el ácido tiosulfónico de Verde de Bindschedlers, etapa (d). Después se cierra el anillo usando dióxido de manganeso o sulfato de cobre para formar azul de metileno. Más específicamente, se acidifica ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) una solución neutra transparente de p-aminodimetilanilina, y se añade una solución de cloruro de cinc no reductor ( $\text{ZnCl}_2$  con  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ). Se añaden sulfato de aluminio acuoso ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) y tiosulfato de sodio cristalino ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) y dicromato de sodio acuoso ( $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ). La mezcla se calienta con vapor seco. Después se añade dimetilaniлина ácida (HCl) acuosa. Se añade dicromato de sodio acuoso ( $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ). La mezcla se calienta con vapor seco y se vuelve de color azul verdoso oscuro debido a la formación del ácido tiosulfónico de verde Bindschedler. Se añade una suspensión acuosa de dióxido de manganeso o sulfato de cobre y la mezcla se calienta con vapor seco, y el colorante precipita de la solución concentrada de cloruro de cinc. Para recuperar el colorante de la mezcla, se enfría y se acidifica ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) para disolver las sales de aluminio, manganeso y cromo. La mezcla se enfría adicionalmente y el colorante en bruto se recoge por filtración. La purificación a partir de agua, cloruro de sodio y cloruro de cinc proporciona la sal doble de cinc del azul de metileno en forma de cristales de color rojo-bronce.

25

Se describen métodos de síntesis muy similares en el Índice de Color (Vol. 4, 3ª edición, 1971), pág. 4470.

Masuya et al., 1992, describen determinados derivados de fenotiazina y métodos para su preparación y uso en la terapia fotodinámica del cáncer y en inmunoensayos que usan quimioluminiscencia. Los compuestos se preparan por vías similares a las analizadas anteriormente.

30

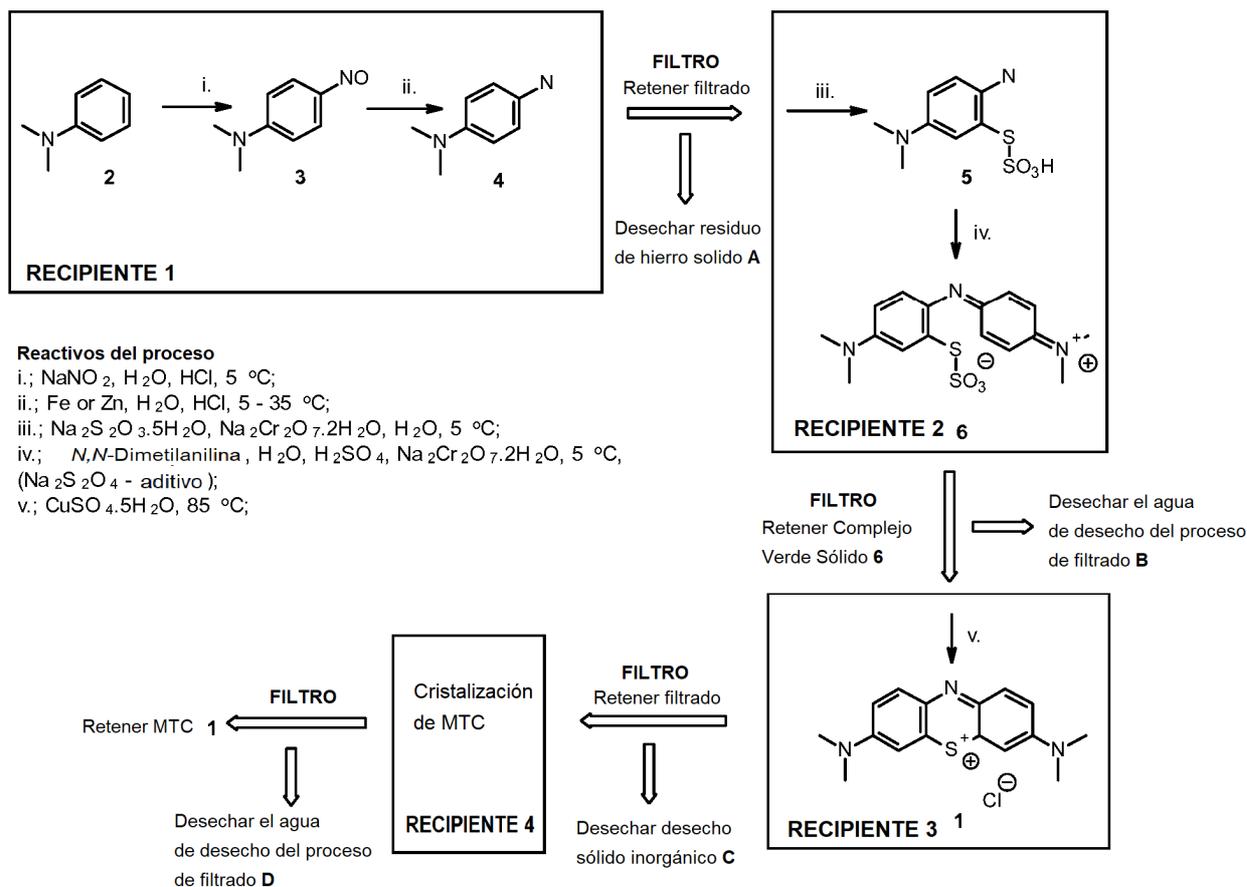
Leventis et al., 1997, describen métodos para la síntesis de determinados análogos de MTC, que emplean fenotiazina como material de partida y que añaden los sustituyentes-3,7 deseados por halogenación seguida de aminación. Los autores afirman que el MTC se sintetiza comercialmente mediante oxidación de *N,N*-dimetil-p-fenilendiamina con  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en presencia de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , seguida de una oxidación adicional en presencia de *N,N*-dimetilamina.

35

Fierz-David et al., 1949, describe la síntesis de la sal doble de cloruro de cinc de MTC y la eliminación de cinc por quelación con carbonato de sodio seguida de filtración para generar azul de metileno sin cinc. Sin embargo, los autores reconocen que esta técnica no puede usarse a gran escala, porque los rendimientos son bajos.

40

Los métodos para sintetizar MTC de alta pureza y sus derivados se han propuesto en el documento WO 2006/032879. Los compuestos se sintetizan de acuerdo con el siguiente esquema:



Estas etapas pueden resumirse de la siguiente manera: (i) nitrosilación (NOS, por sus siglas en inglés), (ii) reducción de nitrosilo (NR, por sus siglas en inglés), (iii) formación de ácido tiosulfónico (TSAF, por sus siglas en inglés), (iv) acoplamiento oxidativo (OC, por sus siglas en inglés), (v) cierre de anillo (RC, por sus siglas en inglés) y recristalización (RX, por sus siglas en inglés). También se describe una variante, en la que el ácido tiosulfónico del intermedio Verde de Bindshedler (compuesto 5) no es aislado por filtración. El documento WO2007/110629 desvela vías de síntesis similares al documento WO200/032879 para MTC y compuestos relacionados en los ejemplos. El documento W02010/130977 desvela la síntesis de MTC y compuestos relacionados a través de una vía similar, pero usando un agente oxidante de persulfato.

Los inventores han desarrollado métodos alternativos y mejorados para la síntesis de compuestos de diaminofenotiazinio (incluyendo, en particular, MTC). Los nuevos métodos dan como resultado rendimientos más altos, tiempos de reacción más cortos y un rendimiento más alto, requieren menos energía y generan menos desechos. Los compuestos obtenidos tienen altos niveles de pureza.

### Sumario de la invención

Un aspecto de la presente invención se refiere a métodos de síntesis de compuestos de diaminofenotiazinio.

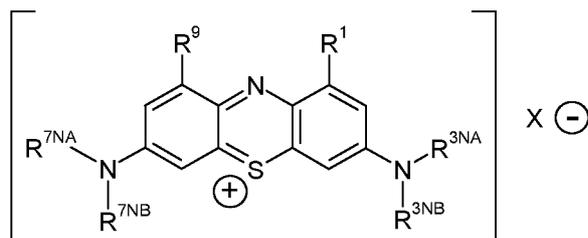
También se describen compuestos de diaminofenotiazinio que se obtienen, o pueden obtenerse, mediante un método como se describe en el presente documento y composiciones que comprenden esos compuestos. Otro aspecto de la divulgación se refiere a estos compuestos y/o composiciones para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, por ejemplo, con respecto a cualquiera de las enfermedades o indicaciones que se analizan en el presente documento.

Como apreciará un experto en la materia, las características y realizaciones preferidas de un aspecto de la invención también se referirán a otros aspectos de la invención.

### Divulgación detallada

#### COMPUESTOS

En general, la presente invención se refiere a métodos para la preparación de determinados compuestos de 3,7-diamino-fenotiazin-5-ilo de la siguiente fórmula, denominados en conjunto en el presente documento "compuestos de diaminofenotiazinio":

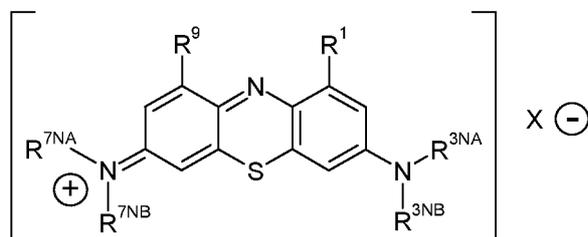
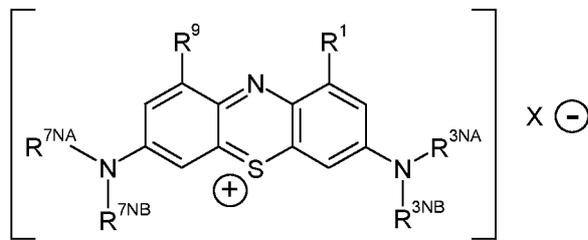


en la que:

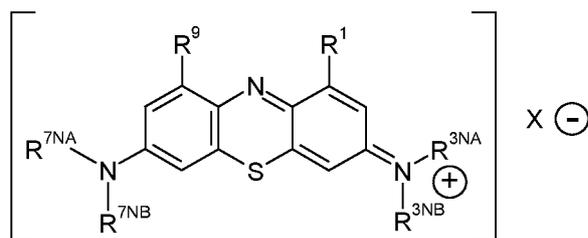
- 5 cada uno de  $R^1$  y  $R^9$  es seleccionado independientemente entre: -H; alquilo  $C_{1-4}$ ; alquenilo  $C_{2-4}$ ; y alquilo  $C_{1-4}$  halogenado;  
 cada uno de  $R^{3NA}$  y  $R^{3NB}$  es seleccionado independientemente entre: alquilo  $C_{1-4}$ ; alquenilo  $C_{2-4}$ ; y alquilo  $C_{1-4}$  halogenado;  
 10 cada uno de  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  es seleccionado independientemente entre: alquilo  $C_{1-4}$ ; alquenilo  $C_{2-4}$ ; y alquilo  $C_{1-4}$  halogenado; y  
 X es uno o más contraiones aniónicos para conseguir neutralidad eléctrica.

La estructura anterior es solo una de las muchas estructuras de resonancia equivalentes, algunas de las cuales se muestran a continuación, y todas las cuales tienen por objetivo ser abarcadas por la estructura anterior:

15



20



En algunas realizaciones, los grupos alquilo  $C_{1-4}$  son seleccionados entre: grupos alquilo  $C_{1-4}$  lineales, tales como -Me, -Et, -nPr, -iPr y -nBu; grupos alquilo  $C_{3-4}$  ramificados, tales como -iPr, -iBu, -sBu y -tBu; y grupos alquilo  $C_{3-4}$  cíclicos, tales como -cPr y -cBu.

25

En algunas realizaciones, los grupos alquenilo  $C_{2-4}$  son seleccionados entre grupos alquenilo  $C_{1-4}$  lineales, tales como -CH=CH<sub>2</sub> (vinilo) y -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub> (alilo).

30

En algunas realizaciones, los grupos alquilo  $C_{1-4}$  halogenados son seleccionados entre: -CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> y -CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>.

En algunas realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^9$  es independientemente -H, -Me, -Et, o -CF<sub>3</sub>.

En algunas realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^9$  es independientemente -H, -Me o -Et.

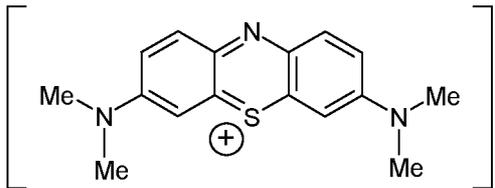
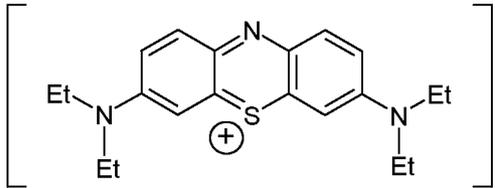
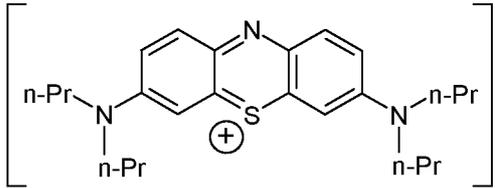
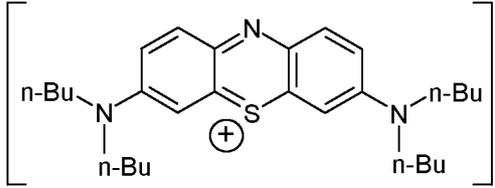
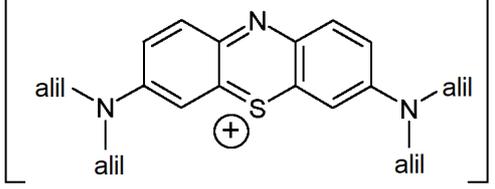
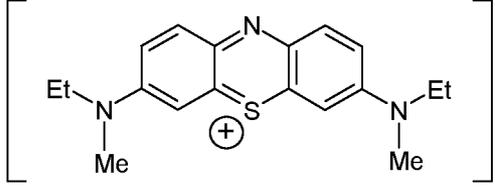
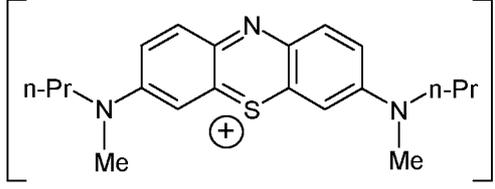
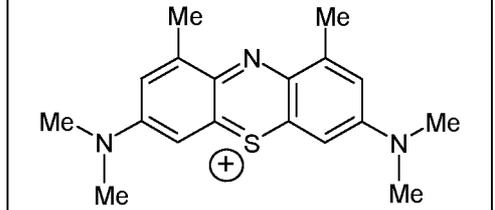
En algunas realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^9$  es independientemente -H.

En algunas realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^9$  es independientemente -Me.

35 En algunas realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^9$  es independientemente -Et.

- En algunas realizaciones,  $R^1$  y  $R^9$  son iguales.  
 En algunas realizaciones,  $R^1$  y  $R^9$  son diferentes.
- 5 En algunas realizaciones, cada uno de  $R^{3NA}$  y  $R^{3NB}$  es independientemente -Me, -Et, -nPr, -nBu,  $-CH_2-CH=CH_2$  o  $-CF_3$ .  
 En algunas realizaciones, cada uno de  $R^{3NA}$  y  $R^{3NB}$  es independientemente -Me o -Et.  
 En algunas realizaciones, cada uno de  $R^{3NA}$  y  $R^{3NB}$  es independientemente -Me.  
 En algunas realizaciones, cada uno de  $R^{3NA}$  y  $R^{3NB}$  es independientemente -Et.
- 10 En algunas realizaciones,  $R^{3NA}$  y  $R^{3NB}$  son iguales.  
 En algunas realizaciones,  $R^{3NA}$  y  $R^{3NB}$  son diferentes.
- En algunas realizaciones, cada uno de  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  es independientemente -Me, -Et, -nPr, -nBu,  $-CH_2-CH=CH_2$  o  $-CF_3$ .
- 15 En algunas realizaciones, cada uno de  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  es independientemente -Me o -Et.  
 En algunas realizaciones, cada uno de  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  es independientemente -Me.  
 En algunas realizaciones, cada uno de  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  es independientemente -Et.
- 20 En algunas realizaciones,  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  son iguales.  
 En algunas realizaciones,  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  son diferentes.
- En algunas realizaciones,  $R^{3NA}$  y  $R^{3NB}$  y  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  son iguales.  
 En algunas realizaciones, los grupos  $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$  y  $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$  son iguales.
- 25 En algunas realizaciones, los grupos  $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$  y  $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$  son iguales y son seleccionados entre:  $-NMe_2$ ,  $-NEt_2$ ,  $-N(nPr)_2$ ,  $-N(Bu)_2$ ,  $-NMeEt$ ,  $-NMe(nPr)$  y  $-N(CH_2CH=CH_2)_2$ .
- En algunas realizaciones, los grupos  $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$  y  $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$  son iguales y son seleccionados entre:  $-NMe_2$  y  $-NEt_2$ .
- 30 En algunas realizaciones, los grupos  $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$  y  $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$  son *distintos de*  $-NMe_2$ .
- En algunas realizaciones, uno o más de los átomos de carbono son  $^{11}C$  o  $^{13}C$ .
- 35 En algunas realizaciones, uno o más de los átomos de carbono son  $^{11}C$ .  
 En algunas realizaciones, uno o más de los átomos de carbono son  $^{13}C$ .  
 En algunas realizaciones, uno o más de los átomos de nitrógeno son  $^{15}N$ .
- En algunas realizaciones, uno o más o todos los átomos de carbono de uno o más o todos los grupos  $R^{3NA}$ ,  $R^{3NB}$ ,  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  son  $^{13}C$ .
- 40 En algunas realizaciones, cada uno de los grupos  $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$  y  $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$  es  $-N(^{13}CH_3)_2$ .
- En algunas realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^9$  es -H y cada uno de los grupos  $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$  y  $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$  es  $-N(^{13}CH_3)_2$ .
- 45 En algunas realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^9$  es -H; cada uno de los grupos  $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$  y  $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$  es  $-N(^{13}CH_3)_2$ ; y  $X^-$  es  $Cl^-$ .
- 50 En algunas realizaciones,  $X^-$  es independientemente un anión halógeno (es decir, haluro).  
 En algunas realizaciones,  $X^-$  es independientemente  $Cl^-$ ,  $Br^-$  o  $I^-$ .  
 En algunas realizaciones,  $X^-$  es independientemente  $Cl^-$ .
- En algunas realizaciones, el compuesto está en forma de una sal mixta, por ejemplo, una sal mixta  $ZnCl_2$ .
- 55 En algunas realizaciones,  $X^-$  es como se ha definido anteriormente, excepto porque el compuesto no es una sal mixta  $ZnCl_2$ .

Los ejemplos de dichos compuestos incluyen los siguientes:

	Cl <sup>-</sup>	MTC (Azul de metileno)
	Cl <sup>-</sup>	ETC
	Cl <sup>-</sup>	PTC
	Cl <sup>-</sup>	BTC
	Cl <sup>-</sup>	ATC
	Cl <sup>-</sup>	EMTC
	Cl <sup>-</sup>	PMTC
	Cl <sup>-</sup>	1,9-DMMTC

	$\text{Cl}^-$ 1,9-DMETC
	$\text{Cl}^-$ 1,9-DEETC
	$\text{Cl}^-$ 1,9-D(TFM)MTC
	$\text{Cl}^-$ 1,9-DM13CMTC
	$\text{Cl}^-$ 13CMTC

### Pureza

- 5 Los métodos que se describen en el presente documento pueden producir compuestos de diaminofenotiazinio de alta pureza.
- Por ejemplo, muchos de los métodos que se describen en el presente documento producen un MTC de muy alta pureza con niveles extremadamente bajos de ambas impurezas orgánicas (por ejemplo, de Azure B y Violeta de Metileno de Bernthsen (MVB)) e impurezas metálicas (por ejemplo, que cumplen o exceden los límites de la Farmacopea Europea).
- 10 Por tanto, un aspecto de la divulgación se refiere a un compuesto de diaminofenotiazinio como se describe en el presente documento, *obtenido mediante, u obtenible mediante*, un método como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a MTC *obtenido mediante, u obtenible mediante*, un método como se describe en el presente documento.
- 15 En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza superior al 98 %.
- En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza superior al 97 %.
- En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza superior al 96 %.
- En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza superior al 95 %.
- 20 En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza superior al 94 %.
- En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza superior al 93 %.

En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza superior al 92 %.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 6 % de Azure B como impureza.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 5 % de Azure B como impureza.

5 En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 4 % de Azure B como impureza.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 3 % de Azure B como impureza.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 2 % de Azure B como impureza.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 1 % de Azure B como impureza.

10 En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 0,15 % de MVB como impureza.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 0,14 % de MVB como impureza.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 0,13 % de MVB como impureza.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 0,10 % de MVB como impureza.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene menos del 0,05 % de MVB como impureza.

15 (Todos los porcentajes de pureza mencionados en el presente documento son en peso, a menos que se especifique lo contrario).

20 En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza elemental (por ejemplo, para Al, Cr, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Mo, Cd, Sn y Pb) que es mejor que los límites de la Farmacopea Europea (EP, por sus siglas en inglés).

La expresión "pureza elemental" a la que se hace referencia en el presente documento se refiere a las cantidades de los once (11) metales especificados por la Farmacopea Europea: Al, Cr, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Mo, Cd, Sn y Pb.

25 Los límites de la Farmacopea Europea a los que se hace referencia en el presente documento se establecen en la siguiente tabla:

Tabla 1		
Límites de la Farmacopea Europea (mg/g)	Versión EP4 (2002)	Versiones EP5.4-EP7.8 (2005-2013)
Aluminio (Al)	100	100
Cromo (Cr)	10	100
Zinc (Zn)	10	100
Cobre (Cu)	100	300
Hierro (Fe)	100	200
Manganeso (Mn)	10	10
Níquel (Ni)	10	10
Molibdeno (Mo)	10	10
Cadmio (Cd)	1	1
Lata (Sn)	10	10
Plomo (Pb)	10	10
Mercurio (Hg)	1	1

30 En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza elemental que es mejor que 0,9 veces el límite de la Farmacopea Europea (EP).

En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza elemental que es mejor que 0,5 veces los límites de la Farmacopea Europea (EP).

35 En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza elemental que es mejor que 0,2 veces los límites de la Farmacopea Europea (EP).

En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, MTC) tiene una pureza elemental que es mejor que 0,1 veces los límites de la Farmacopea Europea (EP).

40 (Por ejemplo, 0,5 veces los límites más recientes de la Farmacopea Europea (EP) es 50 µg/g de Al, 50 µg/g de Cr, 50 µg/g de Zn, etc.)

En el presente documento se desvelan todas las combinaciones plausibles y compatibles de los grados de pureza anteriores como si cada combinación individual fuera recitada específica y explícitamente.

#### 45 MÉTODOS DE SÍNTESIS

Los presentes inventores han identificado diversos métodos mejorados de síntesis de MTC y otros compuestos de diaminofenotiazinio. En particular, han identificado mejoras en los métodos del documento WO2006/032879.

Rendimiento

Los métodos de síntesis que se describen en el presente documento proporcionan altos rendimientos de compuestos de diaminofenotiazinio.

- 5 En algunas realizaciones, el rendimiento es superior al 35 %.  
 En algunas realizaciones, el rendimiento es superior al 37,5 %.  
 En algunas realizaciones, el rendimiento es superior al 40 %.

- 10 En algunas realizaciones, el rendimiento es superior al 42,5 %.  
 En algunas realizaciones, el rendimiento es superior al 45 %.  
 En algunas realizaciones, el rendimiento es superior al 47,5 %.

- 15 Preferentemente, el rendimiento notificado es puramente el del compuesto de diaminofenotiazinio y, por tanto, tiene en cuenta el perfil de impurezas y el contenido de humedad de la muestra. En algunas realizaciones, los rendimientos se calculan basándose en el peso anhidro.

- 20 En un aspecto de la presente invención, se proporcionan métodos eficaces de síntesis de compuestos de diaminofenotiazinio.

- Una característica importante de estos métodos es que pueden completarse varias etapas en el mismo recipiente de reacción.

- 25 La etapa de reducción de nitrosilo (NR) (ii), la etapa de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) (iii) y la etapa de acoplamiento oxidativo (OC) (iv) se realizan en el mismo recipiente de reacción. No se realiza filtración entre las etapas (ii) y (iii).

- 30 En general, cuando se dice que las etapas posteriores en una síntesis se producen en el "mismo recipiente de reacción" o en el "mismo recipiente", esto significa que las etapas de reacción se producen en el mismo recipiente. Los reactivos para las etapas posteriores de la síntesis se añaden simplemente al producto de la etapa anterior, sin transferir el producto a otro recipiente. En particular, se excluye la transferencia de un producto de reacción a otro recipiente a través de un filtro. Para una reacción que se produce completamente en el mismo recipiente de reacción, la reacción puede denominarse método de 1 solo recipiente. De manera similar, cuando hay una sola transferencia de un primer recipiente a un segundo recipiente, esto puede denominarse un método de 2 recipientes.  
 35 Una síntesis en la que hay dos transferencias puede denominarse método de 3 recipientes, etc.

- 40 La omisión de la filtración entre las etapas (ii) y (iii) ahorra tiempo y, por tanto, aumenta el rendimiento de la reacción. También significa que se requieren menos recipientes de reacción en comparación con el método de la técnica anterior. Se genera menos agua de desecho, ya que no se lava el sólido filtrado. Adicionalmente, se ha observado que la eliminación de esta etapa de filtración conduce a un aumento del rendimiento del producto de MTC, en relación con las reacciones en las que se realiza una filtración de este tipo. En casos preferidos, la pureza del compuesto del producto no se ve comprometida.

- 45 Se usa Cr(VI) (al menos) en la etapa de acoplamiento oxidativo (OC). Es altamente tóxico y la contaminación por Cr(VI) es inaceptable en productos destinados a la farmacia. Además, puede desestabilizar el intermedio zwitteriónico e impedir la posterior etapa de cierre del anillo (RC), reduciendo de este modo el rendimiento del compuesto final de diaminofenotiazinio. En el método del documento WO2006/032879, por tanto, es necesario reducir el Cr(VI) residual a Cr (III) mediante la adición de hidrosulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) o mediante un ajuste del pH.  
 50

- 55 En el presente método, la omisión de la etapa de filtración entre las etapas de NR y de TSAF, significa que el agente reductor utilizado en la reducción de nitrosilo (NR) no se retira. Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que este agente reductor puede usarse para reducir el Cr(VI) después del acoplamiento oxidativo (OC).

- 60 En consecuencia, en algunos casos, la etapa de reducción de cromato después del acoplamiento oxidativo puede tener lugar en el mismo recipiente de reacción que las etapas de NR, de TSAF y de OC. En estos casos no es necesario añadir un agente reductor adicional (tal como  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) o ajustar el pH. Por tanto, se usan menos materiales y se generan menos desechos. En casos preferidos, la pureza del compuesto del producto no se ve comprometida.

- 65 En algunos casos, la etapa de nitrosilación (NO) y/o el cierre del anillo (RC) también pueden completarse en el mismo recipiente de reacción que las etapas de reducción de nitrosilo (NR), de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) y de acoplamiento oxidativo (OC).

Completar la etapa de cierre de anillo (RC) en el mismo recipiente de reacción es particularmente ventajoso, ya que elimina otra etapa de filtración del método del documento WO2006/032879, reduciendo de este modo los desechos, aumentando el rendimiento y ahorrando tiempo. Además, la eliminación de la presente etapa de filtración significa que no hay necesidad de añadir ácido clorhídrico acuoso al producto filtrado sólido de color verde para formar una suspensión (tal como en la etapa (v) del documento WO2006/032879, como se ha mostrado anteriormente). Esto reduce adicionalmente el uso de material y el desecho.

Por tanto, el método de síntesis comprende las etapas de, en orden:  
reducción de nitrosilo (NR);  
formación de ácido tiosulfónico (TSAF);  
acoplamiento oxidativo (OC);  
en el que estas etapas se completan en el mismo recipiente de reacción.

En algunas realizaciones, opcionalmente, el intermedio Zwitteriónico formado en la etapa de acoplamiento oxidativo (OC) es aislado y es purificado, por ejemplo, mediante filtración, antes de someterlo a la etapa de cierre del anillo (RC).

En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende las etapas de, en orden:  
nitrosilación (NOS);  
reducción de nitrosilo (NR);  
formación de ácido tiosulfónico (TSAF);  
acoplamiento oxidativo (OC);  
en el que estas etapas se completan en el mismo recipiente de reacción.

En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende las etapas de, en orden:  
reducción de nitrosilo (NR);  
formación de ácido tiosulfónico (TSAF);  
acoplamiento oxidativo (OC);  
cierre de anillo (RC);  
en el que estas etapas se completan en el mismo recipiente de reacción.

En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende las etapas de, en orden:  
nitrosilación (NOS);  
reducción de nitrosilo (NR);  
formación de ácido tiosulfónico (TSAF);  
acoplamiento oxidativo (OC);  
cierre de anillo (RC);  
en el que estas etapas se completan en el mismo recipiente de reacción.

En algunas realizaciones, las etapas de NO, NR, TSAF y OC se completan en un primer recipiente de reacción, la etapa de cierre del anillo (RC) se completa en un segundo recipiente de reacción y la formación de sal (CSF) (y opcionalmente la recristalización (RX)) se completa en un tercer recipiente de reacción. En otras palabras, este es un método de 'tres recipientes'.

En algunas realizaciones, las etapas de NO, NR, TSAF, OC y RC se completan en un primer recipiente de reacción y la formación de sal (por ejemplo, la formación de sal de cloruro CSF) (y opcionalmente la recristalización (RX)) se completa en un segundo recipiente. En otras palabras, este es un 'método de dos recipientes'.

En el presente documento se describe un método de síntesis que comprende las etapas de, en orden:  
formación de ácido tiosulfónico (TSAF);  
acoplamiento oxidativo (OC);  
cierre de anillo (RC);  
en el que durante o antes de la etapa de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) se añade un agente activador.

En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende las etapas de, en orden:  
reducción de nitrosilo (NR);  
formación de ácido tiosulfónico (TSAF);  
acoplamiento oxidativo (OC);  
cierre de anillo (RC);  
en el que durante o antes de la etapa de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) se añade un agente activador.

En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende las etapas de, en orden:  
nitrosilación (NOS);  
reducción de nitrosilo (NR);  
formación de ácido tiosulfónico (TSAF);  
acoplamiento oxidativo (OC);

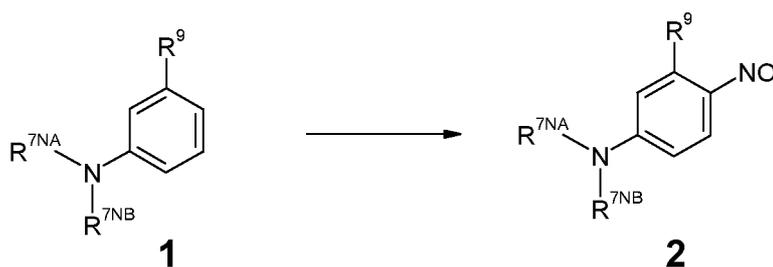
cierre de anillo (RC);  
 en el que durante o antes de la etapa de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) se añade un agente activador.

5 En algunas realizaciones, opcionalmente, el intermedio Zwitteriónico formado en la etapa de acoplamiento oxidativo (OC) es aislado y es purificado, por ejemplo, mediante filtración, antes de someterlo a la etapa de cierre del anillo (RC).

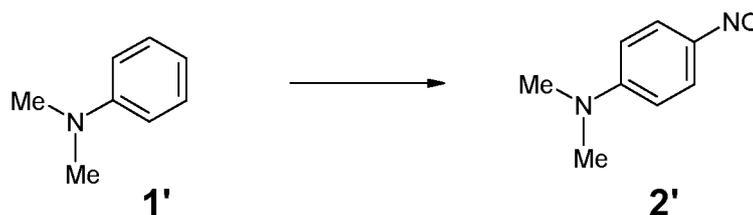
Opcionalmente, en este aspecto, el compuesto de diaminofenotiazinio no es una sal doble de  $ZnCl_2$ .

10 Nitrosilación (NOS)

En esta etapa, una anilina *N,N*-disustituída-3-opcionalmente sustituida, 1, se 4-nitrosila para proporcionar una *N,N*-disustituída-3-opcionalmente sustituida-4-nitrosil anilina, 2, como se ilustra en el siguiente esquema:



En algunas realizaciones, una *N,N*-dimetil anilina, 1', se 4-nitrosila para proporcionar una *N,N*-dimetil-4-nitrosil anilina, 2', como se ilustra en el siguiente esquema:



En algunas realizaciones, la nitrosilación se realiza usando un nitrito.

En algunas realizaciones, el nitrito es o comprende  $NO_2^-$ .

En algunas realizaciones, el nitrito es o comprende nitrito de metal alcalino.

25 En algunas realizaciones, el nitrito es o comprende nitrito de sodio o nitrito de potasio.

En algunas realizaciones, el nitrito es nitrito de sodio ( $NaNO_2$ ).

En algunas realizaciones, la relación molar de nitrito a anilina, 1, es de 0,8 a 1,5.

En algunas realizaciones, la relación molar es de 1,0 a 1,5.

30 En algunas realizaciones, la relación molar es 1,1 a 1,5.

En algunas realizaciones, la relación molar es 1,1 a 1,3.

En algunas realizaciones, la nitrosilación se realiza en condiciones ácidas.

En algunas realizaciones, la nitrosilación se realiza a un pH de 1 o menos.

35 En algunas realizaciones, la nitrosilación se realiza a un pH de 1 a -1.

En algunas realizaciones, la nitrosilación se realiza a un pH de 1 a 0.

(A menos que se especifique lo contrario, todos los valores de pH se miden a temperatura ambiente).

En algunas realizaciones, las condiciones ácidas se obtienen usando un ácido fuerte.

40 En algunas realizaciones, las condiciones ácidas se obtienen usando HCl (que tiene un protón ácido fuerte).

En algunas realizaciones, la relación molar de protones ácidos a anilina, 1, es de 1 a 4.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 2 a 4.

45 En algunas realizaciones, el intervalo es de 3 a 4.

En algunas realizaciones, la relación es de aproximadamente 3,2.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 2 a 3.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 2,25 a 2,75.

50 En algunas realizaciones, la relación es de aproximadamente 2,5.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un medio acuoso.

En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 2 a 25 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 2 a 15 °C.

5 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 2 a 10 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de aproximadamente 5 °C.

En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de 10 a 240 minutos.

En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de 30 a 120 minutos.

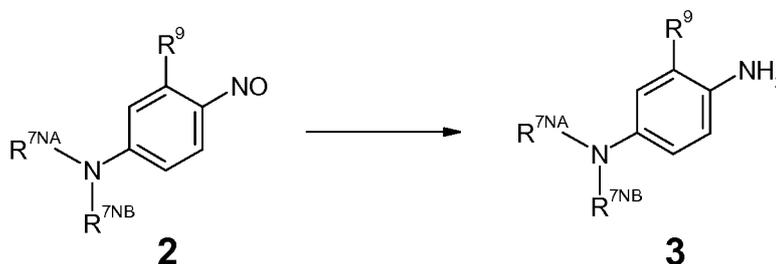
10 En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de aproximadamente 60 minutos.

En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.

Reducción de nitrosilo (NR)

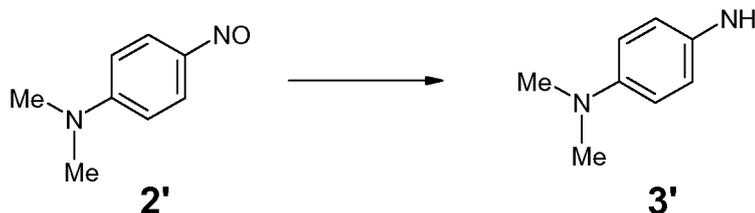
15

En esta etapa, una *N,N*-disustituida-3-opcionalmente sustituida-4-nitrosil anilina, 2, se reduce para formar un benceno *N,N*-disustituido-1,4-diamino-5-opcionalmente sustituido, 3, como se ilustra en el siguiente esquema:



20

En algunas realizaciones, una *N,N*-dimetil-4-nitrosil anilina, 2', se reduce para formar un *N,N*-dimetil-1,4-diaminobenceno, 3', como se ilustra en el siguiente esquema:



25

La reducción es por reacción con un agente reductor y el agente reductor es o comprende Fe(0).

En algunas realizaciones, el agente reductor es o comprende hierro metálico.

En algunas realizaciones, el agente reductor es hierro metálico.

30

El hierro metálico puede obtenerse en el mercado, por ejemplo, en forma de limaduras metálicas.

En algunas realizaciones, la relación molar de Fe(0) a anilina, 1, es de 1,0 a 4,0.

35 En algunas realizaciones, el intervalo es de 1,5 a 4,0.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 1,5 a 3,0.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 1,5 a 2,5.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 1,5 a 3,5.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 2,0 a 3,0.

40 En algunas realizaciones, la relación es de aproximadamente 2,4.

En algunas realizaciones, el exceso de agente reductor utilizado es suficiente para reducir cualquier Cr(VI) residual de la siguiente etapa de acoplamiento oxidativo (OC).

45 En algunas realizaciones, la reacción se realiza en condiciones ácidas.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza a un pH de 1 o menos.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza a un pH de 1 a -1.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza a un pH de 1 a 0.

50 En algunas realizaciones, las condiciones ácidas se obtienen usando un ácido fuerte.

En algunas realizaciones, las condiciones ácidas se obtienen usando HCl (que tiene un protón ácido fuerte).

En algunas realizaciones, la relación molar de protones ácidos a anilina, 1, es de 1 a 4.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 2 a 4.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 3 a 4.

5 En algunas realizaciones, la relación es de aproximadamente 3,2.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 2 a 3.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 2,25 a 2,75.

En algunas realizaciones, la relación es de aproximadamente 2,5

10 En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un medio acuoso.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza a una temperatura de 2 a 35 °C.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza a una temperatura de 10 a 30 °C.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza a una temperatura de aproximadamente 10 °C.

15

En algunas realizaciones, la reacción se realiza durante un tiempo de 10 a 240 minutos.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza durante un tiempo de 30 a 180 minutos.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza durante un tiempo de aproximadamente 120 minutos.

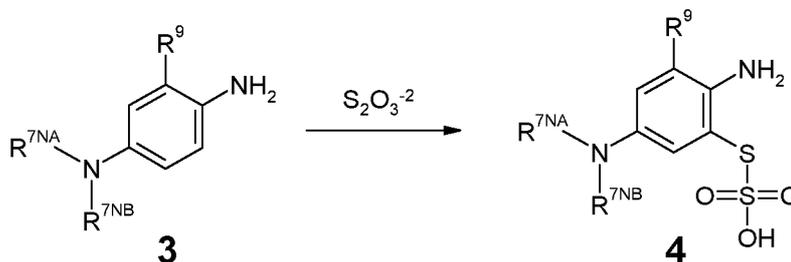
20 En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.

A diferencia de los métodos del documento WO2006/032879, cuando el agente reductor es hierro metálico, el exceso de hierro metálico no se retira de la mezcla de reacción después de completar la reacción por filtración.

25 Formación de ácido tiosulfónico (TSAF)

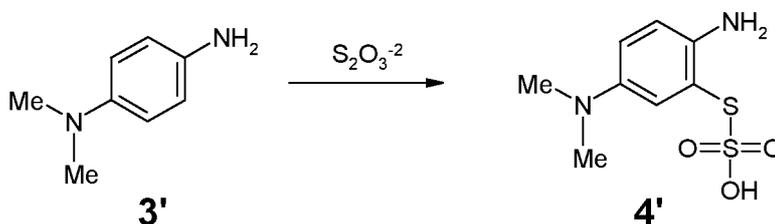
En esta etapa, un benceno *N,N*-disustituido-1,4-diamino-5-opcionalmente sustituido, 3, es oxidado en presencia de un tiosulfato para proporcionar un S-{2-(amino)-3-(opcionalmente sustituido)-5-(amino disustituido)-fenil} éster del ácido tiosulfúrico, 4, como se ilustra en el siguiente esquema:

30



En algunas realizaciones, un *N,N*-dimetil-1,4-diamino-benceno, 3', es oxidado en presencia de un tiosulfato para proporcionar un S-{2-(amino)-5-(dimetilamino)-fenil} éster del ácido tiosulfúrico, 4', como se ilustra en el siguiente esquema:

35



El tiosulfato es o comprende  $S_2O_3^{2-}$ .

40

En algunas realizaciones, el tiosulfato es o comprende  $Na_2S_2O_3$ .

En algunas realizaciones, el tiosulfato es  $Na_2S_2O_3$  o un hidrato del mismo.

Puede obtenerse  $Na_2S_2O_3$  en el mercado, por ejemplo, en forma de la sal anhidra o como el pentahidrato.

45

En algunas realizaciones, la relación molar de tiosulfato a diamina, 3, es de 0,8 a 1,5.

En algunas realizaciones, la relación molar es de 1,0 a 1,5.

En algunas realizaciones, la relación molar es 1,1 a 1,5.

En algunas realizaciones, la relación molar es 1,1 a 1,3.

50

- En algunas realizaciones, la oxidación es por reacción con un agente oxidante.  
 En algunas realizaciones, el agente oxidante es o comprende Cr(VI).  
 En algunas realizaciones, el agente oxidante es o comprende  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ .  
 En algunas realizaciones, el agente oxidante es o comprende  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .
- 5 En algunas realizaciones, el agente oxidante es  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  o un hidrato del mismo.
- Puede obtenerse  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en el mercado, por ejemplo, en forma de un dihidrato.
- En algunas realizaciones, la relación molar de Cr(VI) a diamina, 3, es de 0,2 a 2,0.
- 10 En algunas realizaciones, la relación molar es de 0,2 a 1,0.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de 0,2 a 0,8.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de 0,3 a 0,7.
- En algunos de los métodos que se describen en el presente documento, puede añadirse un agente activador antes o durante la etapa de formación del ácido tiosulfónico. Esto activa el ion tiosulfato, aumentando su reactividad. El rendimiento del compuesto final de diaminofenotiazinio aumenta. En algunos casos, el rendimiento aumenta en al menos aproximadamente el 10 %, preferentemente aproximadamente el 20 % y más preferentemente aproximadamente el 25 %, en relación con las reacciones en las que se omite el agente activador.
- 15
- 20 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que el agente activador promueve la nucleofilia del ion tiosulfato, aumentando de este modo el rendimiento del ácido tiosulfónico (en la etapa de TSAF).
- El agente activador puede comprender o consiste en un compuesto que comprende un catión de aluminio. El compuesto es preferentemente una sal de aluminio hidrosoluble. La naturaleza del anión no es fundamental, a condición de que no interfiera con la reacción. Dichos compuestos incluyen, pero no se limitan a, sulfato de aluminio. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se piensa que el tiosulfato de aluminio está tan altamente disociado que reacciona de manera eficaz como un ácido tiosulfúrico libre (véase "*The Fundamental Processes Of Dye Chemistry*", del Dr. Hans Eduard Fierz-David).
- 25
- 30 Por ejemplo, un agente activador que consiste en hexadecahidrato de sulfato de aluminio puede aumentar el rendimiento en aproximadamente un 25 %.
- Se añaden preferentemente entre aproximadamente 0,20 y aproximadamente 2,0 equivalentes molares de agente activante a la mezcla, en relación con el número de moles de materiales de partida reactivos (es decir, la *N,N*-dialquilanilina).
- 35
- En consecuencia, en algunas realizaciones, la reacción se realiza en presencia de un agente activador.
- En algunas realizaciones, el agente activador comprende Al(III).
- 40 En algunas realizaciones, el agente activador comprende  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ .  
 En algunas realizaciones, el agente de activación comprende un hidrato de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ .  
 En algunas realizaciones, el agente de activación comprende hexadecahidrato de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ .
- En algunas realizaciones, la relación molar de Al(III) con respecto a la diamina es de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 2,0.
- 45 En algunas realizaciones, la relación molar de Al(III) a la diamina es de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 2,0.
- En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 1,0.
- En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 1,0.
- 50 En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,8.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 0,8.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,6.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 0,6.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 0,15 a aproximadamente 0,5.
- 55
- En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 0,15.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 0,5.
- En algunas realizaciones, la reacción se realiza en presencia de un ácido fuerte. Opcionalmente, el ácido puede añadirse al agente oxidante.
- 60 Como alternativa, el ácido puede añadirse a la diamina antes del tratamiento con el agente oxidante.
- En algunas realizaciones, el ácido fuerte es ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (que tiene dos protones ácidos fuertes).
- 65 En algunas realizaciones, la relación molar de protones ácidos a diamina, 15, es de 1,0 a 4,0.  
 En algunas realizaciones, el intervalo es de 1,5 a 2,5.

En algunas realizaciones, el intervalo es aproximadamente 2,0.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un medio acuoso.

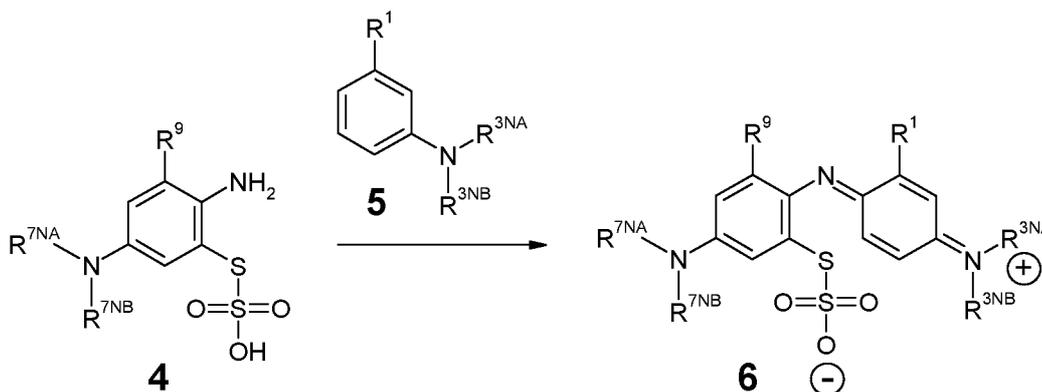
- 5 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 2 a 25 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 2 a 15 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 2 a 10 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de aproximadamente 5 °C.

- 10 En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de 10 a 240 minutos.  
 En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de 30 a 120 minutos.  
 En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de aproximadamente 60 minutos.

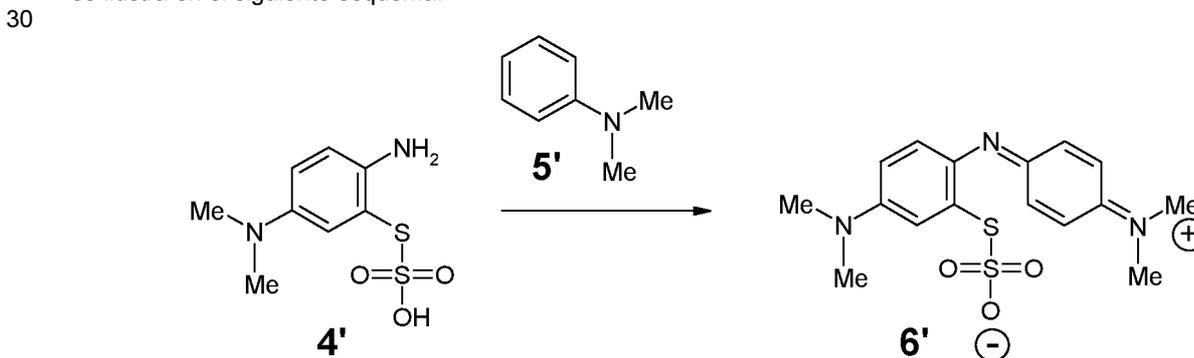
En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.

15 Acoplamiento oxidativo (OC)

- 20 En esta etapa, un S-{2-(amino)-3-(opcionalmente sustituido)-5-(amino disustituido)-fenil} éster del ácido tiosulfúrico, **4**, se acopla oxidativamente a una *N,N*-disustituida-3-opcionalmente sustituida-anilina, **5**, usando un agente oxidante que es o comprende Cr(VI), para proporcionar un amonio [4-{2-(tiosulfato)-4-(amino disustituido)-6-(opcionalmente sustituido)-fenil-imino}-3-(opcionalmente sustituido)-ciclohexa-2,5-dieniliden]-*N,N*-disustituido, **6**, como se ilustra en el siguiente esquema:



- 25 En algunas realizaciones, un S-{2-(amino)-5-(dimetilamino)-fenil} éster del ácido tiosulfúrico, **4'**, se acopla oxidativamente a una *N,N*-dimetil-anilina, **5'**, usando un agente oxidante que es o comprende Cr(VI), para proporcionar un [4-{2-(tiosulfato)-4-(dimetilamino)-fenil-imino}-ciclohexa-2,5-dieniliden]-*N,N*-dimetil amonio, **6'**, como se ilustra en el siguiente esquema:



En algunas realizaciones, el éster, **4**, se añade en primer lugar, antes de que se añada la anilina, **5**.

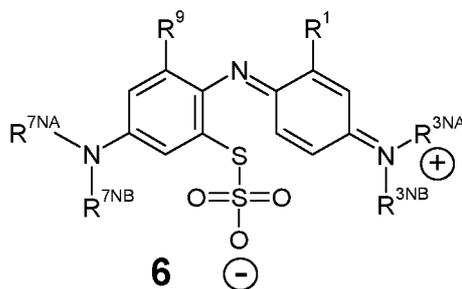
- 35 En algunas realizaciones, el agente oxidante es o comprende Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup>.  
 En algunas realizaciones, el agente oxidante es o comprende Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.  
 En algunas realizaciones, el agente oxidante es Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

- 40 En algunas realizaciones, la relación molar del éster, **4**, con respecto a la anilina, **5**, es de 0,5 a 1,5.  
 En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,8 a 1,2.  
 En algunas realizaciones, el intervalo es aproximadamente 1,0.

- En algunas realizaciones, la relación molar de Cr(VI) con respecto a la anilina, **5**, es de 0,4 a 4,0.  
 En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,6 a 3,0.  
 En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,8 a 3,0.  
 En algunas realizaciones, el intervalo es aproximadamente 1,0.
- 5 En algunas realizaciones, la reacción se realiza en condiciones ácidas.
- En algunas realizaciones, la reacción se realiza a un pH de 1 o menos.  
 En algunas realizaciones, la reacción se realiza a un pH de 1 a -1.
- 10 En algunas realizaciones, la reacción se realiza a un pH de 1 a 0.
- En algunas realizaciones, el pH al final de la etapa de reacción es de 2 a 6.  
 En algunas realizaciones, el pH al final de la etapa de reacción es 3 a 5.  
 En algunas realizaciones, el pH al final de la etapa de reacción es de aproximadamente 4.
- 15 En algunas realizaciones, el pH al final de la etapa de reacción es de aproximadamente 3,94.
- En algunas realizaciones, las condiciones ácidas se obtienen usando un ácido fuerte.  
 En algunas realizaciones, las condiciones ácidas se obtienen usando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (que tiene dos protones ácidos fuertes).
- 20 En algunas realizaciones, la relación molar de protones ácidos con respecto a la anilina, **5**, es de 1,0 a 4,0.  
 En algunas realizaciones, el intervalo es de 1,5 a 2,5.
- En algunas realizaciones, el intervalo es de aproximadamente 2,0.
- 25 En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un medio acuoso.
- En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 2 a 20 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 2 a 15 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de aproximadamente 5 °C.
- 30 En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de 10 minutos a 12 horas.  
 En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de 30 minutos a 4 horas.  
 En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de aproximadamente 2 horas.
- 35 En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.
- En algunas realizaciones, la anilina, **5**, es igual que la anilina, **1**.

Aislamiento y purificación del intermedio zwitteriónico (IAPOZI)

- 40 En esta etapa, cuando está presente, el intermedio zwitteriónico, **6**, es aislado y es purificado.



- 45 En algunas realizaciones, el aislamiento y la purificación es por filtración.
- En algunas realizaciones, el aislamiento y la purificación se realizan por filtración seguida de lavado.  
 En algunas realizaciones, el lavado es lavado con H<sub>2</sub>O.  
 En algunas realizaciones, el lavado es lavado con H<sub>2</sub>O y tetrahidrofurano (THF).
- 50 En algunas realizaciones, la relación en volumen de H<sub>2</sub>O a THF es de 1:1 a 10:1, preferentemente 4:1.
- En algunas realizaciones, el aislamiento y la purificación se realizan por filtración seguida de lavado y secado.
- En algunas realizaciones, el secado es secado al aire.
- 55 En algunas realizaciones, el secado es secado al aire durante 2 a 72 horas.  
 En algunas realizaciones, el secado es secado al aire durante 2 a 48 horas.

En algunas realizaciones, el secado es secado al aire durante 2 a 24 horas.

En algunas realizaciones, el secado es secado en horno.

En algunas realizaciones, el secado es secado en horno durante 2 a 72 horas.

5 En algunas realizaciones, el secado es secado en horno durante 2 a 48 horas.

En algunas realizaciones, el secado es secado en horno durante 2 a 24 horas.

En algunas realizaciones, el secado es secado en horno a 30 a 60 °C durante 2 a 48 horas.

10 Por ejemplo, en algunas realizaciones, la mezcla de reacción se filtra y el residuo (por ejemplo, -100°mmol de producto en bruto) se lava con H<sub>2</sub>O (por ejemplo, 4x250 cm<sup>3</sup>) y/o THF (por ejemplo, 100°cm<sup>3</sup>), y después se seca al aire durante la noche.

15 Por ejemplo, en algunas realizaciones, la mezcla de reacción se filtra (por ejemplo, a través de un filtro Buchner al vacío), el sólido se retira, se añade a otro recipiente con agua dulce, la mezcla se agita vigorosamente y se filtra nuevamente. El proceso de "filtrar-recuperar-resuspender" puede repetirse varias veces. El sólido obtenido finalmente puede usarse en etapas posteriores.

20 En algunas realizaciones, se añade un agente de filtro antes de la filtración. Esto puede mejorar la facilidad de filtración y reducir la pérdida de producto en la filtración.

Un agente de filtro adecuado comprende o consiste en celulosa. La celulosa es una materia prima regenerativa y, por tanto, puede desecharse por incineración mientras se mantiene un ciclo de CO<sub>2</sub> cerrado.

25 En algunas realizaciones, a la filtración le sigue el lavado del producto filtrado con un "volumen de lavado" de agua.

En algunas realizaciones de este tipo, el volumen total de lavado es inferior a aproximadamente 100 volúmenes (100 vol.) de agua (en relación con la cantidad de anilina), inferior a aproximadamente 50 vol., inferior a aproximadamente 30 vol., inferior a aproximadamente 20 vol. o inferior a o de aproximadamente 10 vol.

30 En algunas realizaciones, el volumen de lavado total se usa en porciones (por ejemplo, 10 vol., 4 veces, para proporcionar un volumen de lavado total de 40 vol.).

35 Se observa que estos volúmenes de lavado son significativamente más bajos que los volúmenes de lavado utilizados durante las filtraciones en el documento WO2006/032879.

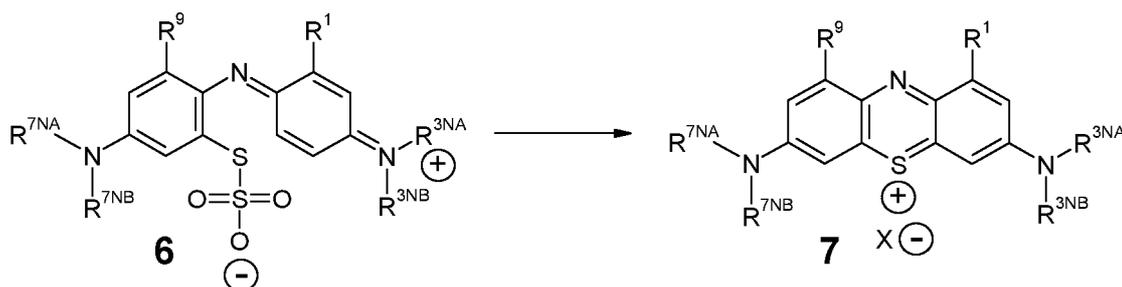
El método del documento WO2006/032879 usa aproximadamente 250 volúmenes de agua en total para la reacción. Usando los métodos de la presente invención, es posible reducir esto a, por ejemplo, aproximadamente 53 volúmenes de agua.

40 La reducción en el volumen de lavado reduce el desecho de agua al final de la reacción y es ventajoso ya que reduce significativamente el volumen de desecho. Los volúmenes de desechos más pequeños tienen la ventaja de un almacenamiento y transporte más fáciles y, por tanto, pueden representar un ahorro de costes. Adicionalmente, un volumen de lavado más pequeño significa que el régimen de filtración será más corto en general, con el consiguiente ahorro de tiempo y energía. Adicionalmente, puesto que los volúmenes de lavado pueden calentarse para este procedimiento, un volumen general más pequeño tiene ventajas adicionales en términos de ahorro de energía y costes.

50 En algunas realizaciones, el resto filtrado se usa directamente en la siguiente etapa sin tratamiento adicional.

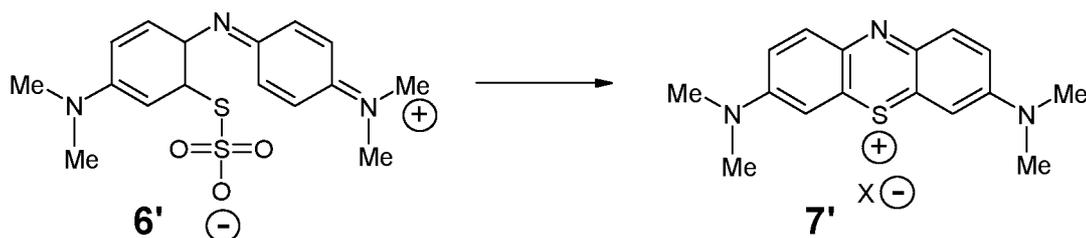
#### Cierre de anillo (RC)

55 En esta etapa, un amonio [4-{2-(tiosulfato)-4-(amino disustituido)-6-(opcionalmente sustituido)-fenilimino}-3-(opcionalmente sustituido)-ciclohexa-2,5-dieniliden]-N,N-disustituido, **6**, es sometido a un cierre de anillo para proporcionar una sal de 3,7-bis(amino-disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**, como se ilustra en el siguiente esquema:



En algunas realizaciones, un [2-(tiosulfato)-4-(dimetilamino)-fenilimino]-ciclohexa-2,5-dieniliden]-*N,N*-dimetil amonio, **6'**, es sometido a un cierre de anillo para proporcionar una sal de 3,7-bis(dimetilamino)-fentiozain-5-io, **7'**, como se ilustra en el siguiente esquema:

5



En algunas realizaciones, el cierre de anillo se consigue mediante tratamiento con un agente oxidante.

En algunas realizaciones, el agente oxidante es o comprende Cu(II).

10 En algunas realizaciones, el agente oxidante es o comprende sulfato de Cu(II).

En algunas realizaciones, el agente oxidante es sulfato de Cu(II) o un hidrato del mismo.

El sulfato de Cu(II) puede obtenerse en el mercado, por ejemplo, en forma de un pentahidrato.

15 Sin desear quedar ligado a teoría particular alguna, se cree que el Cu(II) se convierte en Cu(I) en la reacción y precipita como Cu<sub>2</sub>O insoluble.

En algunas realizaciones, el cierre del anillo se realiza en condiciones ácidas.

En algunas realizaciones, el cierre del anillo se realiza a un pH de 1 a 5.

20 En algunas realizaciones, el cierre del anillo se realiza a un pH de 2 a 5.

En algunas realizaciones, el cierre del anillo se realiza a un pH de 3 a 4,5.

En algunas realizaciones, el cierre del anillo se realiza a un pH de 3,5 a 4,1.

En algunas realizaciones, el cierre del anillo se realiza a un pH de aproximadamente 3,8.

25 En algunas realizaciones, el pH deseado se obtiene mediante la adición de ácido fuerte.

En algunas realizaciones, el pH deseado se obtiene mediante la adición de HCl.

En algunas realizaciones, la relación molar de Cu(II) con respecto al amonio, **6**, es de 0,02 a 0,15.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,03 a 0,12

30 En algunas realizaciones, el intervalo es de aproximadamente 0,10.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un medio acuoso.

35 En algunas realizaciones, la reacción se realiza suspendiendo el amonio [4-[2-(tiosulfato)-4-(amino disustituido)-6-(opcionalmente sustituido)-fenil-imino]-3-(opcionalmente sustituido)-ciclohexa-2,5-dieniliden]-*N,N*-disustituido, **6** (por ejemplo, como se obtiene de la etapa de acoplamiento oxidativo (OC)) en una solución acuosa de ácido clorhídrico, añadiendo el agente oxidante y después calentando.

40 En algunas realizaciones de este tipo, el volumen de suspensión utilizado es de aproximadamente 15 a aproximadamente 30 equivalentes volumétricos (de 15 vol. a 30 vol.), en relación con la anilina, es decir, para 10,0 g de anilina (aproximadamente 10 ml), el volumen de la suspensión sería de aproximadamente 150 a 300 ml.

En algunas realizaciones, el volumen de la suspensión es de aproximadamente 25 vol.

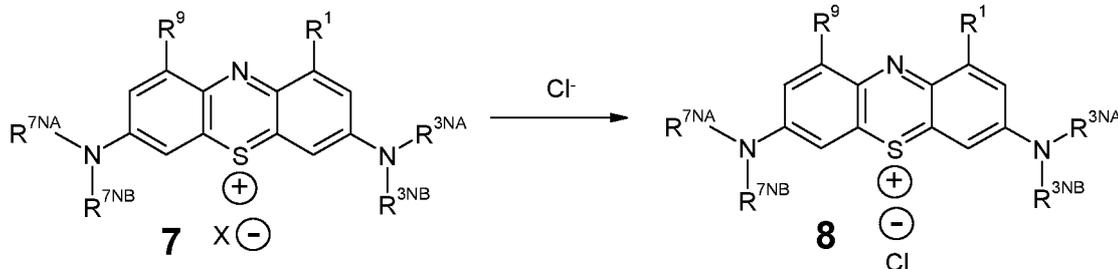
45 Este volumen de suspensión se reduce significativamente en comparación con el volumen de suspensión utilizado en el método del documento W02006/032879. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que la reducción significativa del volumen de la suspensión utilizada en esta etapa puede ser ventajosa por varias razones. En primer lugar, tiene la ventaja de que se requiere una capacidad reducida del reactor, lo que significa que se requiere un recipiente de reactor más pequeño para la síntesis usando la misma masa de intermedio Verde de Bindschedler, o

- se podría usar una masa más grande en el tamaño convencional del recipiente utilizado. Esto puede tener beneficios en términos de rendimiento. En segundo lugar, la etapa de cierre de anillo tiene lugar a una temperatura elevada (85 °C), por tanto, un volumen de disolvente más pequeño puede ser ventajoso, puesto que llevará un tiempo más corto alcanzar la temperatura óptima y requerirá una menor entrada de energía para alcanzar esa temperatura,
- 5 dando como resultado un ahorro tanto de energía como de costes. El uso de un volumen de suspensión más pequeño también puede conducir a un aumento en el rendimiento del producto. El coste de la eliminación, el tratamiento y el transporte de desechos también se reduce si finalmente se obtiene un volumen más pequeño de efluente al final del proceso.
- 10 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 30 a 95 °C.  
En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 50 a 90 °C.  
En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 60 a 90 °C.  
En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de aproximadamente 85 °C.
- 15 En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de 10 a 120 minutos.  
En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de 20 a 90 minutos.  
En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de aproximadamente 60 minutos.
- 20 En algunas realizaciones, la reacción se realiza hasta que la mezcla de reacción cambia de color, por ejemplo, se vuelve de un color azul profundo.
- En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.
- 25 En algunas realizaciones, después de la reacción, la mezcla de reacción se filtra y se recoge el filtrado. (El filtrado contiene el producto deseado en solución).
- En algunas realizaciones, la filtración se realiza a una temperatura próxima a la temperatura de reacción, para proporcionar un filtrado "en caliente".
- 30 En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se enfría primero y la filtración se realiza aproximadamente a temperatura ambiente, para proporcionar un filtrado "en frío".
- 35 En algunas realizaciones, se añade un agente de filtro antes de la filtración. Esto puede mejorar la facilidad de filtración y reducir la pérdida de producto en la filtración.
- Un agente de filtro adecuado comprende o consiste en celulosa. La celulosa es una materia prima regenerativa y, por tanto, puede desecharse por incineración mientras se mantiene un ciclo de CO<sub>2</sub> cerrado.
- 40 En algunas realizaciones, a la filtración le sigue el lavado del producto filtrado con un "volumen de lavado" de agua.
- En algunas realizaciones de este tipo, el volumen total de lavado es inferior a aproximadamente 200 volúmenes (200 vol.) en agua (en relación con la cantidad de anilina), inferior a aproximadamente 150 vol., inferior a aproximadamente 100 vol., inferior a aproximadamente 50 vol., inferior a aproximadamente 25 vol. o inferior a o de aproximadamente 20 vol.
- 45 En algunas realizaciones, el volumen total de lavado se usa en porciones (por ejemplo, 10 vol., 4 veces, para proporcionar un volumen total de lavado de 40 vol., o 5 vol. 4 veces, para proporcionar un volumen total de lavado de 20 vol.).
- 50 Se observa que estos volúmenes de lavado son significativamente menores que los volúmenes de lavado utilizados durante las filtraciones en el documento WO2006/032879.
- 55 Como se ha mencionado anteriormente, el método del documento WO2006/032879 usa aproximadamente 250 volúmenes de agua en total para la reacción. Usando los métodos de la presente invención, es posible reducir esto a, por ejemplo, aproximadamente 53 volúmenes de agua.
- 60 La reducción en el volumen de lavado reduce el desecho de agua al final de la reacción y es ventajoso ya que reduce significativamente el volumen de desecho. Los volúmenes de desechos más pequeños tienen la ventaja de un almacenamiento y transporte más fáciles y, por tanto, pueden representar un ahorro de costes. Adicionalmente, un volumen de lavado más pequeño significa que el régimen de filtración será más corto en general, con el consiguiente ahorro de tiempo y energía. Adicionalmente, puesto que los volúmenes de lavado pueden calentarse para este procedimiento, un volumen general más pequeño tiene ventajas adicionales en términos de ahorro de energía y costes.
- 65 Ventajosamente, en algunas realizaciones, el filtrado final de desechos obtenido después de la filtración descrita anteriormente puede usarse, con ajuste al pH pertinente, como disolvente de suspensión para esta etapa en

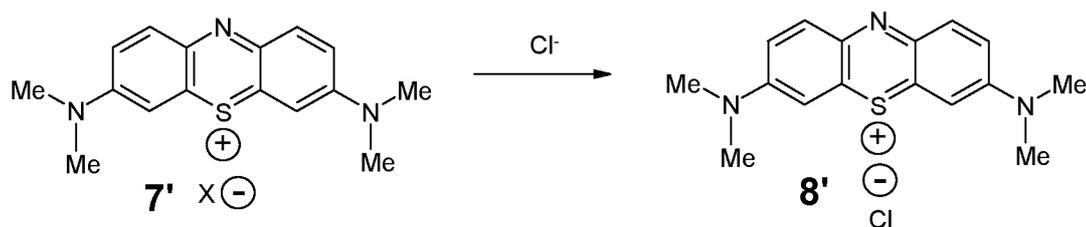
reacciones posteriores durante al menos 2 ciclos de reacción. Esto es ventajoso puesto que permite el reciclaje de lo que es un producto de desecho, pero también conduce a mayores rendimientos de producto.

Formación de sal de cloruro (CSF)

5 En esta etapa, una sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituida)-fenotiazin-5-io, **7**, se hace reaccionar con cloruro, para proporcionar una sal de cloruro de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **8**, como se ilustra en el siguiente esquema:



15 En algunas realizaciones, una sal de 3,7-bis(dimetilamino)-fenotiazin-5-io, **7'**, se hace reaccionar con cloruro, para proporcionar una sal de cloruro de 3,7-bis(dimetilamino)-fenotiazin-5-io, **8'** (es decir, MTC), como se ilustra en el siguiente esquema:



*Tratamiento con ácido clorhídrico como fuente de cloruro:*

- 20 En algunas realizaciones, el cloruro es ácido clorhídrico.
- En algunas realizaciones, la reacción se realiza a un pH relativamente bajo.  
 En algunas realizaciones, el pH relativamente bajo es de -1 a 3.  
 En algunas realizaciones, el pH relativamente bajo es de 0 a 3.
- 25 En algunas realizaciones, el pH relativamente bajo es de 0 a 2.  
 En algunas realizaciones, el pH relativamente bajo es de aproximadamente 1.
- En algunas realizaciones, el pH se ajusta al pH relativamente bajo lentamente.  
 En algunas realizaciones, el pH se ajusta durante un período de 5 a 120 minutos.
- 30 En algunas realizaciones, el pH se ajusta durante un período de 5 a 60 minutos.  
 En algunas realizaciones, el pH se ajusta durante un período de 5 a 30 minutos.  
 En algunas realizaciones, el pH se ajusta durante un período de aproximadamente 10 minutos.
- En algunas realizaciones, la reacción se realiza a una temperatura relativamente fría.
- 35 En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 2 a 40 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 2 a 30 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 5 a 30 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 10 a 30 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 15 a 30 °C.
- 40 En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 20 a 30 °C.
- En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de aproximadamente 25 °C.
- En algunas realizaciones, la reacción se realiza hasta que la mezcla de reacción (inicialmente, por ejemplo, de un color azul profundo) se vuelve de color azul claro a incolora.
- 45 En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.

*Tratamiento con una sal de cloruro como fuente de cloruro:*

50

En algunas realizaciones, el cloruro es sal de cloruro.  
 En algunas realizaciones, el cloruro es cloruro de metal alcalino.  
 En algunas realizaciones, el cloruro es cloruro de sodio.

- 5 En algunas realizaciones, hay un gran exceso molar de cloruro (de sodio).  
 En algunas realizaciones, la relación molar del cloruro con respecto a la sal, 7, es de 5 a 200.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de 10 a 150.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de 10 a 100.  
 En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 50.
- 10 En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un medio acuoso.  
  
 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 20 a 95 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 30 a 95 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de 50 a 80 °C.
- 15 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de aproximadamente 65 °C.  
 En algunas realizaciones, la temperatura de reacción es de aproximadamente la temperatura ambiente.  
  
 En algunas realizaciones, el tiempo de reacción es de 10 a 30 minutos.
- 20 En algunas realizaciones, la reacción se realiza hasta que la mezcla de reacción (inicialmente, por ejemplo, de un color azul profundo) se vuelve de color azul claro a incolora.  
  
 En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.
- 25 En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se deja enfriar después de la adición del cloruro, para producir el producto en forma de un precipitado.  
  
 En algunas realizaciones, el compuesto de diaminofenotiazinio final se lava con ácido acuoso después de la precipitación/cristalización.
- 30 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, este lavado con ácido adicional puede ayudar a retirar los contaminantes de sales inorgánicas y, por tanto, puede dar como resultado un producto de diaminofenotiazinio más puro. El lavado con ácido descompone el producto de diaminofenotiazinio cuando está en el filtro, retirando de este modo el medio de reacción residual, que puede contener altos niveles de sales y otras impurezas.
- 35 En algunas realizaciones, el lavado con ácido se realiza con una solución acuosa de ácido clorhídrico.  
  
 En algunas realizaciones, el lavado con ácido se realiza con una solución acuosa al 5 % de ácido clorhídrico.
- 40 En algunas realizaciones, el lavado con ácido se realiza con una solución acuosa de ácido clorhídrico.  
  
 En algunas realizaciones, el lavado con ácido se realiza con de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 volúmenes (de 1 vol. a 3 vol.) de la solución ácida acuosa.  
 En algunas realizaciones, el lavado con ácido se realiza con aproximadamente 2 volúmenes (2 vol.) de solución ácida acuosa.
- 45 En algunas realizaciones, el lavado con ácido se realiza con 1 vol., 2 veces, de la solución ácida acuosa.  
  
 Después de la etapa de formación de sal de cloruro (CSF), puede realizarse una o más etapas adicionales de tratamiento o purificación (es decir, ST, DT, CT, EDTAT, OE), como se describe más adelante. Si se realizan dos o más de estas etapas de tratamiento, pueden realizarse en cualquier orden. Estas etapas de tratamiento dan lugar a una pureza mejorada, especialmente un contenido de metal reducido y un contenido de impureza orgánica reducido.
- 50

#### Tratamiento adicional

- 55 En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende adicionalmente una etapa posterior seleccionada entre:  
  
 tratamiento con sulfuro (ST, por sus siglas en inglés);  
 tratamiento con dimetilditiocarbamato (DT, por sus siglas en inglés);  
 tratamiento con carbonato (CT, por sus siglas en inglés); y
- 60 tratamiento con ácido etilendiaminotetraacético (EDTAT, por sus siglas en inglés).  
  
 En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende adicionalmente una etapa posterior seleccionada entre:
- 65 tratamiento con sulfuro (ST);  
 tratamiento con dimetilditiocarbamato (DT);  
 tratamiento con carbonato (CT);

tratamiento con ácido etilendiaminotetraacético (EDTAT); y  
extracción orgánica (OE, por sus siglas en inglés).

En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende adicionalmente una etapa posterior seleccionada entre:

- 5           tratamiento con sulfuro (ST);  
          tratamiento con dimetilditiocarbamato (DT);  
          tratamiento con carbonato (CT); y  
          tratamiento con ácido etilendiaminotetraacético (EDTAT);  
10 seguida de la etapa posterior de:  
extracción orgánica (OE).

En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende adicionalmente una etapa posterior seleccionada entre:  
15 tratamiento con sulfuro (ST);  
seguido de la etapa posterior de  
extracción orgánica (OE).

En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende adicionalmente la etapa posterior de:  
20 extracción orgánica (OE).

En algunas realizaciones, el método de síntesis comprende adicionalmente la etapa posterior de:  
recristalización (RX).

Por tanto, en algunas realizaciones, el método de síntesis comprende las etapas de, en orden:

- 25           nitrosilación (NOS);  
          reducción de nitrosilo (NR);  
          formación de ácido tiosulfónico (TSAF);  
          acoplamiento oxidativo (OC);  
30           opcionalmente, aislamiento y purificación del intermedio zwitteriónico (IAPOZI);  
          cierre de anillo (RC);  
          formación de sales de cloruro (LCR);  
          uno o más de:  
35           tratamiento con sulfuro (ST);  
          tratamiento con dimetilditiocarbamato (DT);  
          tratamiento con carbonato (CT); y  
          tratamiento con ácido etilendiaminotetraacético (EDTAT);  
40           extracción orgánica (OE);  
          recristalización (RX).

En algunas realizaciones, se realizan una o más etapas de tratamiento adicionales seleccionados entre ST, DT, CT  
y EDTAT, seguidas de OE.

#### 45 Tratamiento con sulfuro (ST)

En esta etapa, una sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**, o una sal de  
50 cloruro de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **8**, se trata con un sulfuro.

En algunas realizaciones, la sal, **7**, se trata con un sulfuro.  
En algunas realizaciones, la sal de cloruro, **8**, se trata con un sulfuro.

El sulfuro es o comprende S<sup>2-</sup>.

En algunas realizaciones, el sulfuro es un sulfuro de metal.

En algunas realizaciones, el sulfuro es un sulfuro de metal alcalino.

En algunas realizaciones, el sulfuro es o comprende Na<sub>2</sub>S.

60 En algunas realizaciones, el sulfuro es Na<sub>2</sub>S.

En algunas realizaciones, el sulfuro es un sulfuro de metal de transición.

En algunas realizaciones, el sulfuro es o comprende ZnS.

En algunas realizaciones, el sulfuro es ZnS.

65 En algunas realizaciones, la cantidad de sulfuro es de 0,01 a 0,20 equivalentes.

## ES 2 713 324 T3

- En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,05 a 0,15 equivalentes.  
En algunas realizaciones, el intervalo es de aproximadamente 0,1 equivalentes.
- 5 En algunas realizaciones, la concentración (inicial) de sal 7 u 8 es de 0,005 a 0,25 M.  
En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,02 a 0,30 M.  
En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,05 a 0,20 M.  
En algunas realizaciones, la concentración (inicial) es de aproximadamente 0,10 M.
- 10 En algunas realizaciones, el tratamiento es un tratamiento con un sulfuro y un cloruro.  
En algunas realizaciones, el cloruro es o comprende NaCl.  
En algunas realizaciones, el cloruro es NaCl.
- 15 En algunas realizaciones, hay un exceso molar de cloruro.  
En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de 5 a 300 equivalentes.  
En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de 5 a 40 equivalentes.  
En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de 5 a 30 equivalentes.  
En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de aproximadamente 20 equivalentes.  
En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de aproximadamente 200 equivalentes.
- 20 En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza a una temperatura de 2 a 20 °C.  
En algunas realizaciones, el intervalo de temperatura es de 2 a 15 °C.  
En algunas realizaciones, el intervalo de temperatura es de 5 a 15 °C.  
En algunas realizaciones, la temperatura es de aproximadamente 10 °C (por ejemplo,  $10 \pm 2$  °C).
- 25 En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza en un medio acuoso.
- 30 En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza en condiciones básicas.  
En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza a un pH de 9 a 12.  
En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza a un pH de 10 a 11.  
En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza a un pH de aproximadamente 10,5.
- 35 En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza de manera que el pH de la mezcla de reacción alcance al menos 9 a 12.  
En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza de manera que el pH de la mezcla de reacción alcance al menos 10 a 11.  
En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza de manera que el pH de la mezcla de reacción alcance al menos aproximadamente 10,5.
- 40 En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza a una temperatura de aproximadamente 10 °C (por ejemplo,  $10 \pm 2$  °C) y a un pH de aproximadamente 10,5, o se realiza de manera que el pH de la mezcla de reacción alcance al menos aproximadamente 10,5.
- 45 En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.
- 50 Por ejemplo, en algunas realizaciones, el producto de MTC en bruto se disuelve completamente en agua a una concentración de aproximadamente 0,1 M a una temperatura de aproximadamente 65 °C. La solución se enfría. La solución enfriada se filtra opcionalmente. La solución se trata con aproximadamente 0,1 equivalentes de sulfuro de sodio acuoso o una cantidad suficiente para conseguir un pH de aproximadamente 10,5 (por ejemplo,  $10,5 \pm 0,5$ ). La mezcla resultante se agita (por ejemplo, durante aproximadamente 10 minutos), se filtra y el filtrado se recoge. En algunas realizaciones, se añade un gran exceso de cloruro de sodio (por ejemplo, aproximadamente 23 equivalentes) al filtrado con agitación y se recoge el precipitado resultante. Como alternativa, en otra realización, el pH de la solución fría (por ejemplo, a aproximadamente 20 °C) se ajusta a aproximadamente pH 1 usando HCl y se recoge el precipitado resultante.
- 55 En algunas realizaciones, después del tratamiento con sulfuro (por ejemplo, y antes del tratamiento con cloruro), el producto (por ejemplo, en solución) se lava adicionalmente con un disolvente orgánico.
- 60 En algunas realizaciones, el disolvente orgánico es seleccionado entre diclorometano, 1,2-dicloroetano, cloroformo, acetato de etilo, éter dietílico, clorobenceno, éter de petróleo (por ejemplo, 40:60), benceno, tolueno y acetato de metilo. En algunas realizaciones, el disolvente orgánico es diclorometano.
- 65 En algunas realizaciones, por ejemplo, después del lavado con un disolvente orgánico, el pH de la solución del producto lavado se ajusta a aproximadamente 4,5, a aproximadamente 5,5 o aproximadamente 5,0. En algunas realizaciones, la solución (por ejemplo, adicionalmente) se calienta/enfría a aproximadamente 20 °C y después es sometido a recristalización en ácido frío (por ejemplo, se ajusta el pH a aproximadamente 1 usando HCl y se recoge el precipitado resultante). En una realización alternativa, la solución se calienta (por ejemplo, adicionalmente) a

aproximadamente 65 °C y es sometido a precipitación en caliente.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el producto de MTC en bruto se disuelve completamente en agua a una concentración de aproximadamente 0,06 M a una temperatura de aproximadamente 60 °C. La solución se enfría. La solución enfriada se filtra opcionalmente. La solución se trata con aproximadamente 0,07 equivalentes de sulfuro de sodio acuoso. La mezcla resultante se agita (por ejemplo, durante aproximadamente 15 minutos), se filtra y el filtrado se recoge. El filtrado se lava con diclorometano (por ejemplo, varias veces). En algunas realizaciones, el filtrado lavado se calienta a aproximadamente 60 °C y se añade un gran exceso de cloruro de sodio (por ejemplo, aproximadamente 260 equivalentes) al filtrado (caliente) con agitación. La solución caliente se deja enfriar muy lentamente y se recoge el precipitado (altamente cristalino) (por ejemplo, "precipitación en caliente"). Como alternativa, en otra realización, el pH del filtrado lavado (por ejemplo, aproximadamente 20 °C) se ajusta a aproximadamente pH 1 usando HCl y se recoge el precipitado resultante.

#### Tratamiento con dimetilditiocarbamato (DT)

En esta etapa, una sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**, o una sal de cloruro de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **8**, se trata con un dimetilditiocarbamato.

En algunas realizaciones, la sal, **7**, se trata con un dimetilditiocarbamato.  
En algunas realizaciones, la sal de cloruro, **8**, se trata con un dimetilditiocarbamato.

El dimetilditiocarbamato es o comprende  $(\text{CH}_3)_2\text{NCS}_2^-$ .

En algunas realizaciones, el dimetilditiocarbamato es o comprende  $(\text{CH}_3)_2\text{NCS}_2\text{Na}$ .

En algunas realizaciones, el dimetilditiocarbamato es  $(\text{CH}_3)_2\text{NCS}_2\text{Na}$ .

En algunas realizaciones, la cantidad de dimetilditiocarbamato es de 0,01 a 0,20 equivalentes.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,05 a 0,15 equivalentes.

En algunas realizaciones, el intervalo es de aproximadamente 0,1 equivalentes.

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) de sal **7** u **8** es de 0,005 a 0,25 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,02 a 0,30 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,05 a 0,20 M.

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) es de aproximadamente 0,10 M.

En algunas realizaciones, el tratamiento es un tratamiento con un dimetilditiocarbamato y un cloruro.

En algunas realizaciones, el cloruro es o comprende NaCl.

En algunas realizaciones, el cloruro es NaCl.

En algunas realizaciones, hay un exceso molar de cloruro.

En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de 5 a 40 equivalentes.

En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de 5 a 30 equivalentes.

En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de aproximadamente 20 equivalentes.

En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza en un medio acuoso.

En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el producto de MTC en bruto se disuelve completamente en agua a una concentración de aproximadamente 1 M a una temperatura de aproximadamente 65 °C. La solución se enfría. La solución enfriada se filtra opcionalmente. La solución se trata con aproximadamente 0,1 equivalentes de ácido dimetilditiocarbámico acuoso, sal de sodio. La mezcla resultante se agita (por ejemplo, durante aproximadamente 10 minutos), se filtra y el filtrado se recoge. Se añade un gran exceso de cloruro de sodio (por ejemplo, aproximadamente 23 equivalentes) al filtrado con agitación y se recoge el precipitado resultante.

En algunas realizaciones, después del tratamiento con dimetilditiocarbamato (por ejemplo, y antes del tratamiento con cloruro), el producto (por ejemplo, en solución) se lava adicionalmente con un disolvente orgánico, tal como se ha descrito anteriormente para el tratamiento con sulfuro.

En algunas realizaciones, por ejemplo, después del lavado con un disolvente orgánico, el pH de la solución del producto lavado se ajusta a aproximadamente 4,5, a aproximadamente 5,5 o a aproximadamente 5,0, como se ha descrito anteriormente para el tratamiento con sulfuro.

#### Tratamiento con carbonato (CT)

En esta etapa, una sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**, o una sal de

cloruro de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, 8, se trata con un carbonato.

En algunas realizaciones, la sal, 7, se trata con un carbonato.

En algunas realizaciones, la sal de cloruro, 8, se trata con un carbonato.

5

El carbonato es o comprende  $\text{CO}_3^{2-}$

En algunas realizaciones, el carbonato es o comprende carbonato de metal alcalino.

En algunas realizaciones, el carbonato es o comprende carbonato de sodio.

En algunas realizaciones, el carbonato es carbonato de sodio.

10 En algunas realizaciones, la cantidad de carbonato de sodio es de 0,01 a 0,20 equivalentes.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,05 a 0,15 equivalentes.

En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 0,1 equivalentes.

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) de sal 7 u 8 es de 0,005 a 0,25 M.

15 En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,02 a 0,30 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,05 a 0,20 M.

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) es de aproximadamente 0,10 M.

En algunas realizaciones, el tratamiento es un tratamiento con un carbonato y un cloruro.

20 En algunas realizaciones, el cloruro es o comprende NaCl.

En algunas realizaciones, el cloruro es NaCl.

En algunas realizaciones, hay un exceso molar de cloruro.

En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de 5 a 40 equivalentes.

25 En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de 5 a 30 equivalentes.

En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de aproximadamente 20 equivalentes.

En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza en un medio acuoso.

30 En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el producto de MTC en bruto se disuelve completamente en agua a una concentración de aproximadamente 0,1 M a una temperatura de aproximadamente 65 °C. La solución se enfría. La solución enfriada se filtra opcionalmente. La solución se trata con aproximadamente 0,1 equivalentes de carbonato de sodio acuoso. La mezcla resultante se agita (por ejemplo, durante aproximadamente 10 minutos), se filtra y el filtrado se recoge. Se añade un gran exceso de cloruro de sodio (por ejemplo, aproximadamente 23 equivalentes) al filtrado con agitación y se recoge el precipitado resultante.

35

En algunas realizaciones, después del tratamiento con carbonato (por ejemplo, y antes del tratamiento con cloruro), el producto (por ejemplo, en solución) se lava adicionalmente con un disolvente orgánico, como se ha descrito anteriormente para el tratamiento con sulfuro.

40

En algunas realizaciones, por ejemplo, después del lavado con un disolvente orgánico, el pH de la solución del producto lavado se ajusta a aproximadamente 4,5, a aproximadamente 5,5 o aproximadamente 5,0, como se ha descrito anteriormente para el tratamiento con sulfuro.

45

#### Tratamiento con ácido etilendiaminotetraacético (EDTAT)

En esta etapa, una sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, 7, o una sal de cloruro de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, 8, se trata con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o una sal de EDTA.

50

En algunas realizaciones, la sal, 7, se trata con EDTA o una sal de EDTA.

En algunas realizaciones, la sal de cloruro, 8, se trata con EDTA o una sal de EDTA.

55

En algunas realizaciones, la sal de EDTA es o comprende sal de metal alcalino de EDTA.

En algunas realizaciones, la sal de EDTA es o comprende sal disódica de EDTA.

En algunas realizaciones, la sal de EDTA es sal disódica de EDTA.

60 En algunas realizaciones, la cantidad de EDTA es de 0,01 a 0,20 equivalentes.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,05 a 0,15 equivalentes.

En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 0,1 equivalentes.

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) de sal 7 u 8 es de 0,005 a 0,25 M.

65 En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,02 a 0,30 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,05 a 0,20 M.

## ES 2 713 324 T3

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) es de aproximadamente 0,10 M.

En algunas realizaciones, el tratamiento es un tratamiento con EDTA o una sal de EDTA y un cloruro. En algunas realizaciones, el cloruro es o comprende NaCl.

5 En algunas realizaciones, el cloruro es NaCl.

En algunas realizaciones, hay un exceso molar de cloruro.

En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de 5 a 40 equivalentes.

En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de 5 a 30 equivalentes.

10 En algunas realizaciones, la cantidad de cloruro es de aproximadamente 10 equivalentes.

En algunas realizaciones, el tratamiento se realiza en un medio acuoso.

En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se agita durante la etapa de reacción.

15 Por ejemplo, en algunas realizaciones, el producto de MTC en bruto se disuelve completamente en agua a una concentración de aproximadamente 0,1 M a una temperatura de aproximadamente 65 °C. La solución se enfría a temperatura ambiente y después la solución se trata con aproximadamente 0,1 equivalentes de sal disódica de EDTA acuoso. La mezcla resultante se agita (por ejemplo, durante aproximadamente 1 hora), se filtra y el filtrado se recoge. Se añade un gran exceso de cloruro de sodio (por ejemplo, aproximadamente 10 equivalentes) al filtrado con agitación y se recoge el precipitado resultante.

20 En algunas realizaciones, después del tratamiento con EDTA (por ejemplo, y antes del tratamiento con cloruro), el producto (por ejemplo, en solución) se lava adicionalmente con un disolvente orgánico, como se ha descrito anteriormente para el tratamiento con sulfuro.

25 En algunas realizaciones, por ejemplo, después del lavado con un disolvente orgánico, el pH de la solución del producto lavado se ajusta a aproximadamente 4,5, a aproximadamente 5,5 o aproximadamente 5,0, como se ha descrito anteriormente para el tratamiento con sulfuro.

30 Extracción orgánica (OE)

35 En esta etapa, una sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituida)-fenotiazin-5-io, **7**, o una sal de cloruro de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **8**, en solución o suspensión acuosa, se trata con (por ejemplo, se lava con) un disolvente orgánico.

En algunas realizaciones, la sal, **7**, en solución o suspensión acuosa, se trata con (por ejemplo, se lava con) un disolvente orgánico.

40 En algunas realizaciones, la sal de cloruro, **8**, en solución o suspensión acuosa, se trata con (por ejemplo, se lava con) un disolvente orgánico.

En algunas realizaciones, el disolvente orgánico es diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, DCM).

El DCM es un producto químico de "clase 2", con una exposición diaria permitida (PDE, por sus siglas en inglés) de 6 mg/día.

45 En algunas realizaciones, la relación de volumen de la solución acuosa o la suspensión de sal, **7** u **8**, con respecto al disolvente orgánico (por ejemplo, DCM) es de 0,1 a 10.

En algunas realizaciones, la relación es de 0,5 a 5.

50 En algunas realizaciones, la proporción es 0,5 a 2.

En algunas realizaciones, el tratamiento (por ejemplo, el lavado) se realiza de manera iterativa usando una pluralidad de alícuotas del disolvente orgánico (por ejemplo, DCM).

55 Por ejemplo, en algunas realizaciones, se lavan 250 ml de solución acuosa de la sal, **7** u **8**, con 50 ml de DCM, cinco veces, para un volumen total de 250 ml de DCM y una relación de volumen de 1.

En algunas realizaciones la solución o suspensión acuosa de sal, **7** u **8**, tiene un pH de 8 a 12. En algunas realizaciones, el intervalo de pH es de 9 a 12.

En algunas realizaciones, el intervalo de pH es de 9 a 11.

60 En algunas realizaciones, el intervalo de pH es de aproximadamente 10,8.

En algunas realizaciones, el tratamiento (por ejemplo, el lavado) se realiza a una temperatura de 2 a 20 °C.

En algunas realizaciones, el intervalo de temperatura es de 2 a 15 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura es de aproximadamente 10 °C.

65 El tratamiento (por ejemplo, el lavado) puede realizarse, por ejemplo, usando un recipiente de reacción equipado con un agitador mecánico superior fijado a un eje con una paleta, así como una llave de descarga en el fondo del matraz.

La solución acuosa o la suspensión de sal, **7** u **8**, se coloca en el recipiente y se añade una parte alícuota de disolvente orgánico (por ejemplo, DCM) y la mezcla heterogénea se agita durante un período adecuado. Se permite que las capas se separen y la capa inferior (disolvente orgánico) se desecha a través de la llave de descarga. Se añade otra alícuota de disolvente orgánico (por ejemplo, DCM) y el proceso se repite, por ejemplo, varias veces.

5 La extracción orgánica (OE) es particularmente eficaz para reducir en gran medida los niveles de impureza orgánica del producto sólido (por ejemplo, cristalino) que se obtiene en última instancia.

10 En algunas realizaciones, en primer lugar se realizan una o más etapas de tratamiento seleccionadas entre ST, DT, CT y EDTAT, seguidas de extracción orgánica (OE).

#### Recristalización (RX)

15 En esta etapa, una sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**, o una sal de cloruro de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **8**, se recristaliza.

En algunas realizaciones, la sal, **7**, se recristaliza.

En algunas realizaciones, la sal de cloruro, **8**, se recristaliza.

20 La etapa de recristalización mejora adicionalmente la pureza y también proporciona un producto con un tamaño de partícula adecuado, por ejemplo, un tamaño de partícula adecuado para su uso en la formulación farmacéutica posterior.

25 Para evitar dudas, obsérvese que "cristalización" y "recristalización" se usan indistintamente en el presente documento para significar la formación de un precipitado sólido (por ejemplo, cristales) en una solución o suspensión, y que "re" en el término "recristalización" no requiere que el producto recién cristalizado haya estado anteriormente en forma sólida o cristalina.

30 En algunas realizaciones, después de la recristalización, el producto cristalino se filtra y después se lava sobre el filtro con una solución de lavado.

En algunas realizaciones, la solución de lavado es un ácido acuoso diluido.

En algunas realizaciones, la solución de lavado es agua fría, acidificada.

En algunas realizaciones, la solución de lavado está a un pH de aproximadamente 1.

En algunas realizaciones, la solución de lavado está a una temperatura de aproximadamente 5 °C.

35 En algunas realizaciones, el lavado se realiza con aproximadamente 1 a aproximadamente 5 volúmenes (de 1 vol. a 5 vol.) de la solución de lavado.

En algunas realizaciones, el lavado con ácido se realiza con aproximadamente 4 volúmenes (4 vol.) de solución de ceniza.

En algunas realizaciones, el lavado con ácido se realiza con 4 vol., 2 veces, de la solución de lavado.

40 *Recristalización ácida en frío (RX-CAR):*

45 En algunas realizaciones, la recristalización es la recristalización en agua (por ejemplo, en una solución acuosa o suspensión acuosa) a una temperatura relativamente fría ajustando el pH a un pH relativamente bajo (por ejemplo, "cristalización ácida en frío").

En algunas realizaciones, el pH se ajusta usando HCl.

En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 2 a 40 °C.

50 En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 2 a 30 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 5 a 30 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 10 a 30 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 15 a 30 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de 20 a 30 °C.

55 En algunas realizaciones, la temperatura relativamente fría es de aproximadamente 25 °C.

En algunas realizaciones, el pH relativamente bajo es de -1 a 3.

En algunas realizaciones, el pH relativamente bajo es de 0 a 3.

En algunas realizaciones, el pH relativamente bajo es de 0 a 2.

60 En algunas realizaciones, el pH relativamente bajo es de aproximadamente 1.

En algunas realizaciones, el pH se ajusta al pH relativamente bajo lentamente.

En algunas realizaciones, el pH se ajusta durante un período de 5 a 120 minutos.

En algunas realizaciones, el pH se ajusta durante un período de 5 a 60 minutos.

65 En algunas realizaciones, el pH se ajusta durante un período de 5 a 30 minutos.

En algunas realizaciones, el pH se ajusta durante un período de aproximadamente 10 minutos.

La recristalización ácida en frío (RX-CAR) es particularmente eficaz para reducir en gran medida el contenido de metal del producto sólido resultante (por ejemplo, cristalino).

5 *Precipitación en caliente (RX-HSO):*

En algunas realizaciones, la recristalización es recristalización en agua (por ejemplo, en una solución acuosa o suspensión acuosa) a una temperatura elevada inicial, en presencia de un cloruro, tal como el cloruro de sodio (por ejemplo, "precipitación en caliente").

10

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) de sal 7 u 8 es de 0,002 a 0,05 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,005 a 0,04 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,01 a 0,04 M.

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) es de aproximadamente 0,03 M.

15

En algunas realizaciones, la temperatura elevada inicial es de 30 a 90 °C.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 40 a 80 °C.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 50 a 80 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura elevada inicial es de aproximadamente 65 °C.

20

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) de cloruro de (sodio) es de 0,1 a 3,0 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,5 a 2,5 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 1,0 a 2,2 M.

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) es de aproximadamente 2,0 M.

25

En algunas realizaciones, hay un gran exceso molar de cloruro de sodio.

En algunas realizaciones, la relación molar de cloruro de (sodio) con respecto a la sal, 7 u 8, es de 5 a 100.

En algunas realizaciones, la relación molar es de 20 a 80.

30

En algunas realizaciones, la relación molar es de 50 a 80.

En algunas realizaciones, la relación molar es de aproximadamente 65.

35

En algunas realizaciones, la recristalización incluye el secado posterior del precipitado recristalizado (altamente cristalino), por ejemplo, en un horno a una temperatura adecuada (por ejemplo, de 50 a 120 °C) durante un tiempo adecuado (por ejemplo, de 1 a 24 horas).

40

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el producto de MTC en bruto o el producto de MTC en bruto tratado se disuelve en H<sub>2</sub>O a una concentración de aproximadamente 0,03 M y aproximadamente a 65 °C. Opcionalmente, la solución se filtra. Se añade cloruro de sodio. La mezcla se deja enfriar, por ejemplo, a aproximadamente la temperatura ambiente, lentamente, por ejemplo, durante 1 a 10 horas. El precipitado resultante (altamente cristalino) se recoge y, opcionalmente, se seca, por ejemplo, en un horno (por ejemplo, a aproximadamente 75 °C) durante un tiempo adecuado (por ejemplo, aproximadamente 16 horas).

45

*Titulación (RX-TRIT):*

En algunas realizaciones, la recristalización es recristalización en agua (por ejemplo, en una solución acuosa o suspensión acuosa) a una temperatura elevada inicial, en presencia de tetrahidrofurano (THF) (por ejemplo, titulación).

50

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) de sal 7 u 8 es de 0,002 a 0,20 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,01 a 0,20 M.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 0,05 a 0,15 M.

En algunas realizaciones, la concentración (inicial) es de aproximadamente 0,13 M.

55

En algunas realizaciones, la temperatura elevada inicial es de 30 a 90 °C.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 40 a 80 °C.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 50 a 80 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura elevada inicial es de aproximadamente 65 °C.

60

En algunas realizaciones, la proporción de agua con respecto a THF es de 20:1 a 2:1, en volumen.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 10:1 a 2:1.

En algunas realizaciones, el intervalo es de 7:1 a 3:1.

En algunas realizaciones, la relación es de aproximadamente 5:1.

65

En algunas realizaciones, la recristalización incluye el secado posterior del precipitado recristalizado (altamente cristalino), por ejemplo, en un horno a una temperatura adecuada (por ejemplo, de 50 a 120 °C) durante un tiempo

adecuado (por ejemplo, de 1 a 24 horas).

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el producto de MTC en bruto o el producto de MTC en bruto tratado se disuelve en agua a una concentración de aproximadamente 0,13 M y a aproximadamente 65 °C. Opcionalmente, la solución se filtra. La mezcla se deja enfriar lentamente y se añade THF cuando la temperatura alcanza aproximadamente 25 °C, en una relación de volumen de agua:THF de aproximadamente 5:1. La mezcla se deja enfriar nuevamente, por ejemplo, a aproximadamente 5 °C, lentamente, por ejemplo, durante de 1 a 10 horas. El precipitado resultante (altamente cristalino) se recoge y, opcionalmente, se seca, por ejemplo, en un horno (por ejemplo, a aproximadamente 100 °C) durante un tiempo adecuado (por ejemplo, aproximadamente 2 horas).

#### Composiciones

Un aspecto de la presente divulgación se refiere a composiciones que comprenden un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en el presente documento.

Un aspecto de la presente divulgación se refiere a composiciones que comprenden un compuesto de diaminofenotiazinio que *se obtiene mediante, o es obtenible mediante*, un método como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la composición comprende adicionalmente un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

#### Métodos de inactivación de patógenos

Un aspecto de la presente divulgación se refiere al uso de un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en el presente documento, en un método de inactivación de un patógeno en una muestra (por ejemplo, una muestra de sangre o plasma), comprendiendo el método la introducción del compuesto en la muestra, y exponiendo la muestra a la luz.

Un aspecto de la presente divulgación se refiere al uso de un compuesto de diaminofenotiazinio, que *se obtiene mediante, o es obtenible mediante*, un método como se describe en el presente documento, en un método de inactivación de un patógeno en una muestra (por ejemplo, una muestra de sangre o plasma), comprendiendo el método introducir el compuesto en la muestra y exponer la muestra a la luz.

#### Métodos de tratamiento médico

Un aspecto de la presente divulgación se refiere a un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento (por ejemplo, de una patología) del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Un aspecto de la presente divulgación se refiere a un compuesto de diaminofenotiazinio, que *se obtiene mediante, o es obtenible mediante*, un método como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento (por ejemplo, de una patología) del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Un aspecto de la presente divulgación se refiere al uso de un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en el presente documento, para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una patología.

Un aspecto de la presente divulgación se refiere al uso de un compuesto de diaminofenotiazinio, que *se obtiene mediante, o es obtenible mediante*, un método como se describe en el presente documento, para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una patología.

Un aspecto de la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en el presente documento.

Un aspecto de la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una patología en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de diaminofenotiazinio, que *se obtiene mediante, o es obtenible mediante*, un método como se describe en el presente documento.

#### Patologías

En algunas realizaciones, la patología es una taupatía.

Una "taupatía" es una afección en la que la proteína tau (y la función aberrante o el procesamiento de la misma) desempeña un papel. La enfermedad de Alzheimer es un ejemplo de una taupatía. La patogenia de los trastornos neurodegenerativos, tales como la enfermedad de Pick y la parálisis supranuclear progresiva (PSP) parece

- correlacionarse con una acumulación de agregados de tau truncados patológicos en el giro dentado y las células piramidales estrelladas del neocórtex, respectivamente. Otras demencias incluyen la demencia fronto-temporal (DFT); la demencia fronto-temporal con parkinsonismo vinculada al cromosoma 17 (DFTP-17); complejo de desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA); degeneración palido-ponto-nigral (DPPN); síndrome de Guam-ALS; degeneración palido-nigro-luisiana (DPNL); degeneración cortico-basal (CDB) y otros (véase, por ejemplo, Wischik et al., 2000, especialmente la Tabla 5.1 en el mismo). Cada una de estas enfermedades, que se caracteriza principalmente o parcialmente por una agregación tau anormal, se denomina en el presente documento una "taupatía".
- 5 En algunas realizaciones, la patología es la enfermedad de Alzheimer (EA).
- 10 En algunas realizaciones, la patología es el cáncer de piel.  
En algunas realizaciones, la patología es el melanoma.  
En algunas realizaciones, la patología es vírica, bacteriana o protozoaria.  
En algunas realizaciones, la patología protozoaria es la malaria. En esta realización, el tratamiento puede ser en combinación con otro agente antimicrobiano, por ejemplo, en combinación con cloroquina o atovaquona.
- 15 En algunas realizaciones, la patología vírica es provocada por la hepatitis C, el VIH o el virus del Nilo Occidental.

### Tratamiento

- 20 El término "tratamiento", como se usa en el presente documento en el contexto del tratamiento de una afección, se refiere generalmente al tratamiento y la terapia, ya sea de un ser humano o de un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el que se consigue algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso de la afección, e incluye una reducción en la tasa de progreso, un alto en la tasa de progreso, una regresión de la afección, una mejoría de la afección y una curación de la afección. También se incluye el tratamiento como medida profiláctica (es decir, profilaxis, prevención).
- 25 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a esa cantidad de un compuesto activo o un material, composición o forma de dosificación que comprende un compuesto activo, que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, proporcionado con una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con una pauta de tratamiento deseado.
- 30 El término "tratamiento" incluye tratamientos combinados y terapias, en las que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo, secuencial o simultáneamente. Los ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero no se limitan a, quimioterapia (la administración de agentes activos, incluyendo, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ejemplo, como en inmunoterapia), profármacos (por ejemplo, como en terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT, etc. cirugía, radioterapia y terapia génica.

### Vías de administración

- 40 El compuesto de diaminofenotiazinio o la composición farmacéutica que lo comprende, puede administrarse a un sujeto/paciente mediante cualquier vía de administración conveniente, ya sea por vía sistémica/por vía periférica o por vía tópica (es decir, en el sitio de acción deseado).
- 45 Las vías de administración incluyen, pero no se limitan a, la oral (por ejemplo, mediante ingestión); bucal; sublingual; transdérmica (incluyendo, por ejemplo, mediante un parche, apósito, etc.); transmucosa (incluyendo, por ejemplo, mediante un parche, apósito, etc.); intranasal (por ejemplo, mediante pulverización nasal); ocular (por ejemplo, mediante colirios); pulmonar (por ejemplo, mediante inhalación o terapia de insuflación usando, por ejemplo, un aerosol, por ejemplo, a través de la boca o la nariz); rectal (por ejemplo, mediante supositorio o enema); vaginal (por ejemplo, mediante pesario); parenteral, por ejemplo, mediante inyección, incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intratecal, intraespinal, intracapsular, subcapsular, intraorbital, intraperitoneal, intratraqueal, subcuticular, intraarticular, subaracnoidea e intraesternal en el cerebro); mediante implante de un depósito o reservorio, por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular.

### El sujeto/paciente

- 55 El sujeto/paciente puede ser un animal, un mamífero, un mamífero placentario, un marsupial (por ejemplo, canguro, uombat), un monotrema (por ejemplo, ornitorrinco), un roedor (por ejemplo, una cobaya, un hámster, una rata, un ratón), un múrido (por ejemplo, un ratón), un lagomorfo (por ejemplo, un conejo), un ave (por ejemplo, un pájaro), un cánido (por ejemplo, un perro), un felido (por ejemplo, un gato), un équido (por ejemplo, un caballo), un porcino (por ejemplo, un cerdo), un óvido (por ejemplo, una oveja), un bóvido (por ejemplo, una vaca), un primate, simio (por ejemplo, un mono o simio), un mono (por ejemplo, tití, babuino), un simio (por ejemplo, gorila, chimpancé, orangután, gibón) o un ser humano.

Además, el sujeto/paciente puede ser cualquiera de sus formas de desarrollo, por ejemplo, un feto.

- 65 En una realización preferida, el sujeto/paciente es un ser humano.

### Formulaciones

Si bien es posible que el compuesto de diaminofenotiazinio se use (por ejemplo, se administre) solo, con frecuencia es preferible presentarlo como una composición o formulación.

5 En algunas realizaciones, la composición es una composición farmacéutica (por ejemplo, formulación, preparación, medicamento) que comprende un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en el presente documento y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, la composición es una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en el presente documento, junto con uno o más ingredientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la materia, incluyendo, pero no limitada a, 10 vehículos farmacéuticamente aceptables, diluyentes, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ejemplo, agentes humectantes), agentes enmascaradores, agentes colorantes, agentes aromatizantes y agentes edulcorantes.

En algunas realizaciones, la composición comprende adicionalmente otros agentes activos, por ejemplo, otros 15 agentes terapéuticos o profilácticos.

Pueden encontrarse vehículos, diluyentes, excipientes, etc. adecuados en textos farmacéuticos convencionales. Véase, por ejemplo, el *Handbook of Pharmaceutical Additives*, 2ª edición (editores M. Ash e I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, Nueva York, EE.UU.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 20ª edición, 20 Publicación. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; y el *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, segunda edición, 1994.

Otro aspecto de la presente divulgación se refiere a métodos de fabricación de una composición farmacéutica que comprende mezclar al menos un compuesto fenotiazínico [<sup>11</sup>C]-radiomarcado o de tipo fenotiazínico, como se define 25 en el presente documento, junto con uno o más ingredientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, vehículos, diluyentes, excipientes, etc. Si se formulan como unidades individuales (por ejemplo, comprimidos, etc.), cada unidad contiene una cantidad predeterminada (dosis) de compuesto activo

La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos, 30 ingredientes, materiales, composiciones, formas de dosificación, etc., que son, dentro del alcance del criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo, un ser humano) sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, en proporción con una relación razonable de riesgo/beneficio. Cada vehículo, diluyente, excipiente, etc. también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación.

Las formulaciones pueden prepararse mediante cualquier método bien conocido en la técnica de la farmacia. Dichos 35 métodos incluyen la etapa de asociar el compuesto activo a un vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el compuesto activo a los vehículos (por ejemplo, vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, etc.) y después moldeando el producto, si es necesario.

La formulación puede prepararse para proporcionar una liberación rápida o lenta; una liberación inmediata, 40 retardada, temporalizada o sostenida; o una combinación de las mismas.

Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral (por ejemplo, mediante inyección), incluyen líquidos 45 estériles acuosos o no acuosos, isotónicos, apirógenos (por ejemplo, soluciones, suspensiones), en donde el principio activo se disuelve, se suspende o se proporciona de otro modo (por ejemplo, en un liposoma u otro material microparticulado). Dichos líquidos pueden contener otros ingredientes farmacéuticamente aceptables, tales como antioxidantes, tampones, conservantes, estabilizantes, bacteriostáticos, agentes de suspensión, agentes espesantes y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre (u otro fluido corporal relevante) del recipiente. Los ejemplos de excipientes incluyen, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales y similares. Los ejemplos de vehículos isotónicos adecuados para su uso en dichas formulaciones incluyen la inyección de 50 cloruro de sodio, la solución de Ringer o la inyección de Ringer lactato. Normalmente, la concentración del principio activo en el líquido es de aproximadamente 1 ng/ml a aproximadamente 10 mg/ml, por ejemplo, de aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 1 mg/ml. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes sellados de dosis unitarias o de dosis múltiples, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que requiera solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para 55 inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

#### Ejemplos de formulaciones preferidas

60 Un aspecto de la presente divulgación se refiere a una unidad de dosificación (por ejemplo, un comprimido o cápsula farmacéutica) que comprenda de 20 a 300 mg de un compuesto de diaminofenotiazinio como se describe en el presente documento (por ejemplo, obtenido mediante, u obtenible mediante, un método como el descrito en el presente documento; tiene una pureza como se describe en el presente documento; etc.) y un vehículo, diluyente o 65 excipiente farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, la unidad de dosificación es un comprimido.  
En algunas realizaciones, la unidad de dosificación es una cápsula.

En algunas realizaciones, la cantidad es de 30 a 200 mg.

En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 30 mg.

En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 60 mg.

En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 100 mg.

5 En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 150 mg.

En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 200 mg.

En algunas realizaciones, el vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable es o comprende uno o ambos de entre un glicérido (por ejemplo, Gelucire 44/14 ®; glicéridos de lauroil macrogol-32 PhEur, USP) y dióxido de silicio coloidal (por ejemplo, Aerosil 200 ® al 2 %; dióxido de silicio coloidal, PhEur, USP).

10

#### Dosificación

Un experto en la materia apreciará que las dosificaciones adecuadas del compuesto de diaminofenotiazinio y las composiciones que comprenden el compuesto de diaminofenotiazinio, pueden variar de un paciente a otro. La determinación de la dosis óptima generalmente implicará el equilibrio del nivel de beneficio terapéutico contra cualquier riesgo o efecto secundario perjudicial. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de diversos factores incluyendo, pero no limitados a, la actividad del compuesto particular, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación, la gravedad de la afección y la especie, el sexo, la edad, el peso, la afección, la salud general y el historial médico previo del paciente. La cantidad de compuesto y la vía de administración serán en última instancia a criterio del médico, veterinario o clínico, aunque generalmente la dosis es seleccionadora para conseguir concentraciones locales en el sitio de acción que consigan el efecto deseado sin provocar efectos secundarios sustanciales o perjudiciales.

15

20

25

La administración puede efectuarse en una dosis, de forma continua o intermitente (por ejemplo, en dosis divididas a intervalos adecuados) a lo largo del tratamiento. Los métodos de determinación de los medios más eficaces y la dosis de administración son bien conocidos por los expertos en la materia y variarán con la formulación utilizada para la terapia, el propósito de la terapia, la célula o células diana que se están tratando y el sujeto que se está tratando. Las administraciones únicas o múltiples pueden realizarse con el nivel de dosis y el patrón seleccionado por el especialista, veterinario o clínico.

30

En general, una dosis adecuada del compuesto activo está en el intervalo de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 25 mg (más normalmente de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 mg) por kilogramo de peso corporal del sujeto por día. Cuando el compuesto activo es una sal, un éster, una amida, un profármaco o similar, la cantidad administrada se calcula sobre la base del compuesto original y, por tanto, el peso real que se usa aumenta proporcionalmente.

35

En algunas realizaciones, el compuesto activo (por ejemplo, MTC) se administra a un paciente humano de acuerdo con la siguiente pauta de dosificación: aproximadamente 100 mg, 3 veces al día.

40

En algunas realizaciones, el compuesto activo (por ejemplo, MTC) se administra a un paciente humano de acuerdo con la siguiente pauta de dosificación: aproximadamente 150 mg, 2 veces al día.

45

En algunas realizaciones, el compuesto activo (por ejemplo, MTC) se administra a un paciente humano de acuerdo con la siguiente pauta de dosificación: aproximadamente 200 mg, 2 veces al día.

#### **Ejemplos**

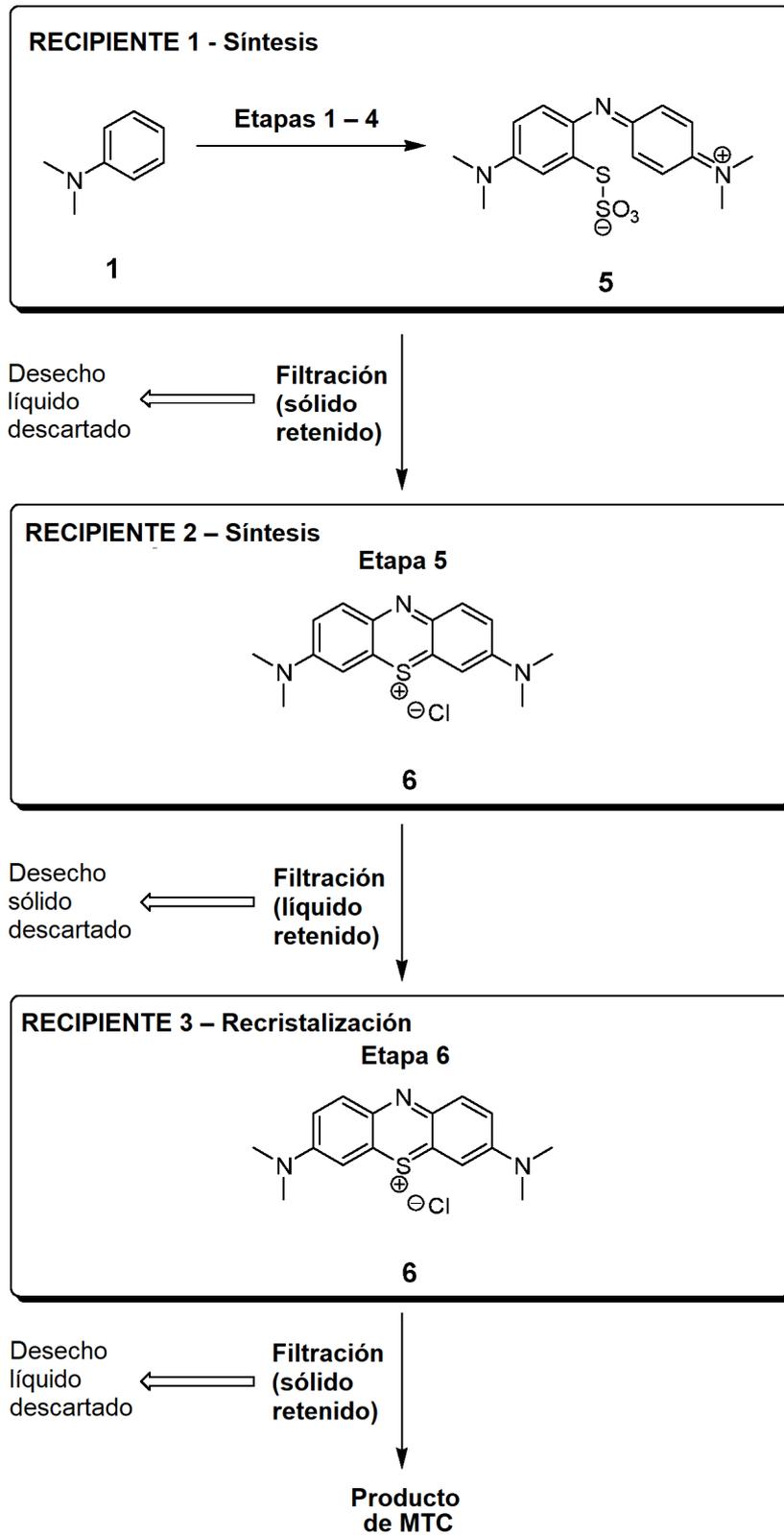
Los siguientes son ejemplos que se proporcionan únicamente para ilustrar la presente invención y no pretenden limitar el alcance de la invención, como se describe en el presente documento.

50

#### Ejemplo 1

Este es un método de 3 recipientes, tal como se muestra en el Esquema 1, a continuación.

55



Esquema 1- Síntesis mediante un proceso de 3 recipientes

La Tabla 1 esboza las cantidades de reactivos y disolventes utilizados para producir MTC en una escala de 10 g (es decir, a partir de 10 g de dimetilanilina).

Tabla 1 cantidades de reactivo utilizadas en cada etapa de síntesis

Etapa 1					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	mmoles	Cantidad	Pureza
Dimetilanilina (1)	121,18	1,0 eq	82,52	10,00 g	> 98,5 %
Nitrito de sodio	69,00	1,1 eq	91,30	6,30 g	> 97,0 %
Ácido clorhídrico (32 %)	-	2,4 vol	-	24,00 ml	Reactivo
Agua	-	15,0 vol	-	150,00 ml	Destilado
Etapa 2					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	mmoles	Cantidad	Pureza
Ácido clorhídrico (32 %)	-	2,4 vol	-	24,00 ml	Reactivo
Hierro (malla 40-60)	63,50	2,3 eq	190,55	12,10 g	Reactivo
Etapa 3					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	mmoles	Cantidad	Pureza
Sulfato de aluminio hexadecahidrato	630,39	0,15 eq	12,38	7,80	≥95,0 %
Pentahidrato de tiosulfato de sodio	248,10	1,1 eq	90,77	22,52 g	≥99,5 %
Dihidrato de dicromato de sodio	298,00	0,41 eq	33,83	10,08 g	≥99,5 %
Agua	-				destilada
Etapa 4					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	mmoles	Cantidad	Pureza
Dimetilanilina	121,18	1,0 eq	82,52	10,00 g	≥98,5 %
Ácido sulfúrico	-	0,44 vol	-	4,40 ml	Reactivo
Dihidrato de dicromato de sodio	298,00	1,1 eq.	90,77	27,05 g	≥99,5 %
Ayuda de filtro de celulosa Scar-o-floc	-	-	-	10,00 g	Reactivo
Agua	-	18,0 vol	-	180,00 ml	Destilado
Etapa 5					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	mmoles	Cantidad	Pureza
Ácido clorhídrico 0,01 M	-	25,0 vol	-	250,0 ml	Reactivo
Pentahidrato de sulfato de cobre	249,69	0,1 eq	8,25	2,06 g	99 %
Etapa 6					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	moles	Cantidad	Pureza
Cloruro de sodio	58,44	20,72 eq	1,71	100,00 g	> 99,5
Agua	-	40,0 vol	-	400,00 ml	Destilado
Rendimiento global					55 % (46 %) [método 1] 44 % (39 %) [método 2]
Los rendimientos entre paréntesis representan el material de partida y/o la pureza del producto					

#### Síntesis de *N,N*-dimetil-*p*-fenilendiamina (compuesto 3, etapas uno y dos)

- 5 A un matraz de fondo redondo de 1 litro de 3 bocas equipado con un embudo de adición y termómetro, y mantenido en un baño de hielo, se le añadieron agua (100 ml) y dimetilanilina (PM 121,18, 10,00 g, 82,52<sup>o</sup>mmol). La mezcla se agitó hasta que la temperatura fue de 5 °C (± 2 °C) y se añadió ácido clorhídrico concentrado (32 %, 24,00 ml, 2,4 vol.) durante un período de 5 minutos. Una vez que la temperatura volvió a 5 °C (± 2 °C) y la dimetilanilina se disolvió completamente, se añadió una solución de nitrito de sodio (PM 69,00, 6,30 g, 91,30<sup>o</sup>mmol) en agua (50 ml, 5,0 vol.) al embudo de adición. La solución incolora se añadió gota a gota durante un período de 25 minutos, lo que
- 10 llevó a que la mezcla de reacción se volviera turbia y de color naranja. Una vez completada la adición, la mezcla se agitó durante 1 hora a 5 °C (± 2 °C). Al final de este período, comenzó la etapa 2. Se añadió ácido clorhídrico concentrado (32 %, 24,0 ml, 2,4 vol.) a la mezcla en una porción. La adición de hierro en porciones (PM 63,50, 12,10 g, 190,55<sup>o</sup>mmol) comenzó después en un período de 25 minutos. Durante la adición, se observó espuma burbujeante sobre la superficie de la mezcla y la temperatura subió a 10 °C. Una vez finalizada la adición de hierro, la mezcla se en agitación y se mantuvo a una temperatura de 10-12 °C durante 2 horas. Normalmente, la reacción se dejó agitando durante la noche y se obtuvo una solución de color marrón rojizo oscuro.
- 15

#### Síntesis del ácido tiosulfónico de *N,N*-dimetil-*p*-fenilendiamina (compuesto 4, etapa tres)

- 20 La reacción continuó en el mismo recipiente que el descrito anteriormente, sin filtración de los residuos de hierro. El matraz de fondo redondo se mantuvo en un baño de hielo para bajar la temperatura a 5 °C (± 2 °C). Se añadió hexadecahidrato de sulfato de aluminio (PM 630,39, 7,80 g, 12,38<sup>o</sup>mmol) en forma de un sólido seco y la mezcla se

dejó agitar durante 5 minutos para permitir que se produjera la disolución. Después se añadió una solución de pentahidrato de tiosulfato de sodio (PM 248,10, 22,52 g, 90,77°mmol) en agua (25,0 ml, 2,5 vol.), en una porción y la mezcla se agitó durante otros 5 minutos. Después se añadió una solución de dihidrato de dicromato de sodio (PM 298,00, 10,08 g, 33,83°mmol) en agua (40,0 ml, 4,0 vol.) al embudo de adición y la solución se añadió gota a gota a la mezcla de reacción durante un período de 25 minutos. Durante este proceso, la temperatura de la mezcla aumentó ligeramente (generalmente a 9 °C). Una vez finalizado el proceso de adición, la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. Al final de este período, la siguiente etapa se realizó directamente en el mismo matraz.

#### Síntesis del ácido tiosulfónico de verde de Bindschedler (compuesto 5, etapa cuatro)

Se preparó una solución de dimetilanilina (PM 121,18, 10,00 g, 82,52°mmol), agua (10,0 ml, 1,0 vol.) y ácido sulfúrico mediante la adición en porciones de ácido sulfúrico a una mezcla enfriada con hielo de dimetilanilina y agua. La temperatura se controló durante toda la adición, de modo que no se permitió que subiera por encima de 15 °C. Al añadir la porción final de ácido, la solución se dejó enfriar a 5 °C ( $\pm 2$  °C). La solución se añadió después a la mezcla de reacción en una porción y se añadió una solución de dihidrato de dicromato de sodio (PM 298,00, 27,05 g, 90,77°mmol) en agua (70,0 ml, 7,0 vol.) al embudo de adición. La adición gota a gota de la solución de dicromato se realizó durante un período de 25 minutos y el proceso de adición se acompañó de un brillo de la superficie de color púrpura y una coloración verde que apareció en la mezcla de reacción a granel. La mezcla se dejó en agitación a 5 °C ( $\pm 2$  °C) durante 2 horas. Al final de este período, se añadió al matraz agente de filtro de celulosa SCAR-O-FLOC (10,0 g) y la mezcla se agitó hasta que se formó una suspensión suave. La suspensión se filtró después y el resto se lavó con agua (100,0 ml, 10,0 vol.). El resto se usó directamente en la siguiente etapa sin tratamiento adicional.

#### Síntesis del cloruro de metiltioninio (compuesto 6, etapa cinco)

El residuo verde obtenido se volvió a suspender en ácido clorhídrico 0,01 M (250,0 ml, 25,0 vol.) y se devolvió a un matraz de fondo redondo de 1 litro equipado con un termómetro, condensador y tapón. Se añadió pentahidrato de sulfato de cobre (PM 249,69, 2,06 g, 8,25°mmol) a la suspensión en el matraz y la mezcla de color verde oscuro se calentó a 85 °C durante 1 hora. Al final de este período, la mezcla se había vuelto de color azul oscuro, lo que indicaba que se había formado azul de metileno.

#### Aislamiento de cloruro de metiltioninio (compuesto 6, etapa seis) mediante "precipitación por adición de sal"

La mezcla de reacción se filtró en caliente (a la temperatura de reacción, 85 °C) produciendo un filtrado de color azul oscuro y un residuo de color azul oscuro. El residuo se lavó después con agua caliente (~60 °C, 100,0 ml, 4 veces, 10,0 vol., 4 veces) y los filtrados combinados se añadieron a un vaso de precipitados.

Se añadió cloruro de sodio (PM 58,44, 100,00 g, 1,71 mol) a los filtrados combinados en un vaso de precipitados y la mezcla se colocó en una placa caliente, pero se apagó y se dejó agitar durante un mínimo de tres horas, pero normalmente durante la noche, para permitir que el MTC cristalizara.

Después, el producto se aisló por filtración proporcionando un sólido de color verde oscuro/azul/oro, que se secó en un horno de vacío a 50 °C durante 16 horas.

Se obtuvo MTC con un rendimiento del 55 % (52 %). [El rendimiento entre paréntesis representa la pureza del reactivo y/o del producto].

#### Ejemplo 2

El proceso del Ejemplo 1 se aumentó a escala para usar 20 g de dimetilanilina. Al final de la síntesis (usando un proceso de "precipitación por adición de sal" de cloruro de sodio) se obtuvo MTC con un rendimiento del 63 % (56 %). [El rendimiento entre paréntesis representa la reactividad y/o la pureza del producto].

#### Ejemplo 3

Se usó el proceso del Ejemplo 1, excepto porque el aislamiento de MTC (etapa final) se consiguió mediante el siguiente proceso.

La mezcla de reacción se filtró en caliente (a la temperatura de reacción, 85 °C) produciendo un filtrado de color azul oscuro y un residuo de color azul oscuro. El residuo se lavó después con agua caliente (~60 °C, 100,0 ml, 4 veces, 10 vol., 4 veces) y los filtrados combinados se añadieron a un vaso de precipitados.

El pH de los filtrados combinados se ajustaría a pH = 1 usando ácido clorhídrico concentrado y la mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante un mínimo de tres horas, pero normalmente durante la noche, para permitir que el MTC cristalizara.

El producto se aisló después por filtración proporcionando un sólido de color verde oscuro/azul/oro, que se secó en

un horno de vacío a 50 °C durante 16 horas.

El MTC se obtuvo con un rendimiento del 44 % (39 %).

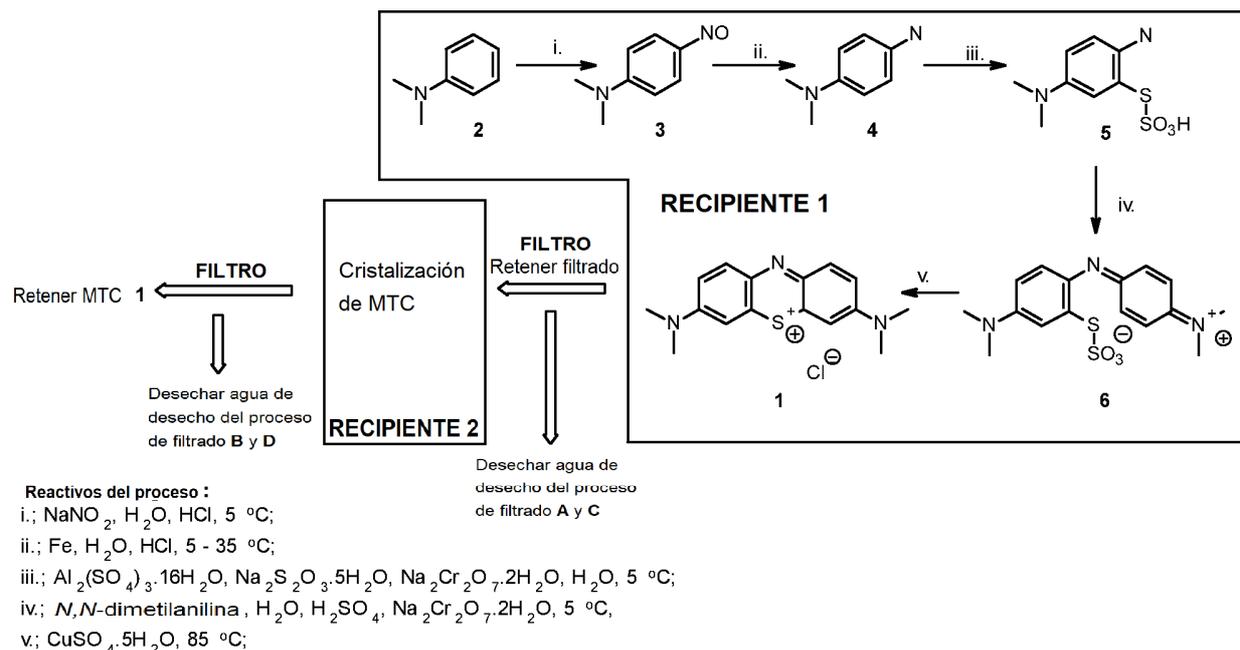
5 Ejemplo 4

El proceso del Ejemplo 3 se aumentó a escala para usar 20 g de dimetilaniлина, con la excepción de que se utilizó un volumen de la suspensión de 25,0 vol. en la etapa cinco. Al final de la síntesis (usando un proceso de "precipitación por adición de sal" con ácido clorhídrico) se obtuvo un MTC con un rendimiento del 56 % (50 %).

10

Ejemplo 5a

Este es un método de 2 recipientes, como se muestra en el Esquema 2a, a continuación:



15

**Esquema 2<sup>a</sup>: Proceso de MTC en dos reactores**

La Tabla 2a resume las cantidades de reactivos y disolventes utilizados para producir MTC en una escala de 10 g (es decir, a partir de 10 g de dimetilaniлина) usando el método del Ejemplo 5a.

20

**Tabla 2a: Cantidades de reactivos**

Etapa 1					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	Moles	Cantidad	Pureza
N,N-Dimetilanilina (2)	121,19	1,0 eq.	0,0825	10,0 g	99 % de
Agua	-	15 vol.	-	150 ml	Desionizado
Ácido clorhídrico	-	2,4 vol.	-	24 ml	32 % de
Nitrito de sodio	69,0	1,1 eq.	0,0913	6,3 g	98 % de
Agua	-	5,0 vol.	-	50 ml	Desionizado
<b>Nitroso 3)</b>	<b>150,08</b>	<b>1,0 eq.</b>	<b>0,0825</b>	<b>12,38 g</b>	<b>No aislado</b>
				Rendimiento > 95 % No aislado	
Etapa 2					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	moles	Cantidad	Pureza
Ácido clorhídrico	-	2,4 vol.	-	24 ml	32 % de
Limaduras de hierro	55,85	2,63 eq.	0,217	12,1 g	Reactivo
<b>amina (4)</b>	<b>136,10</b>	<b>1,0 eq.</b>	<b>0,0825</b>	<b>11,23 g</b>	<b>No aislado</b>
				Rendimiento >95 % No aislado	
Etapa 3					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	moles	Cantidad	Pureza

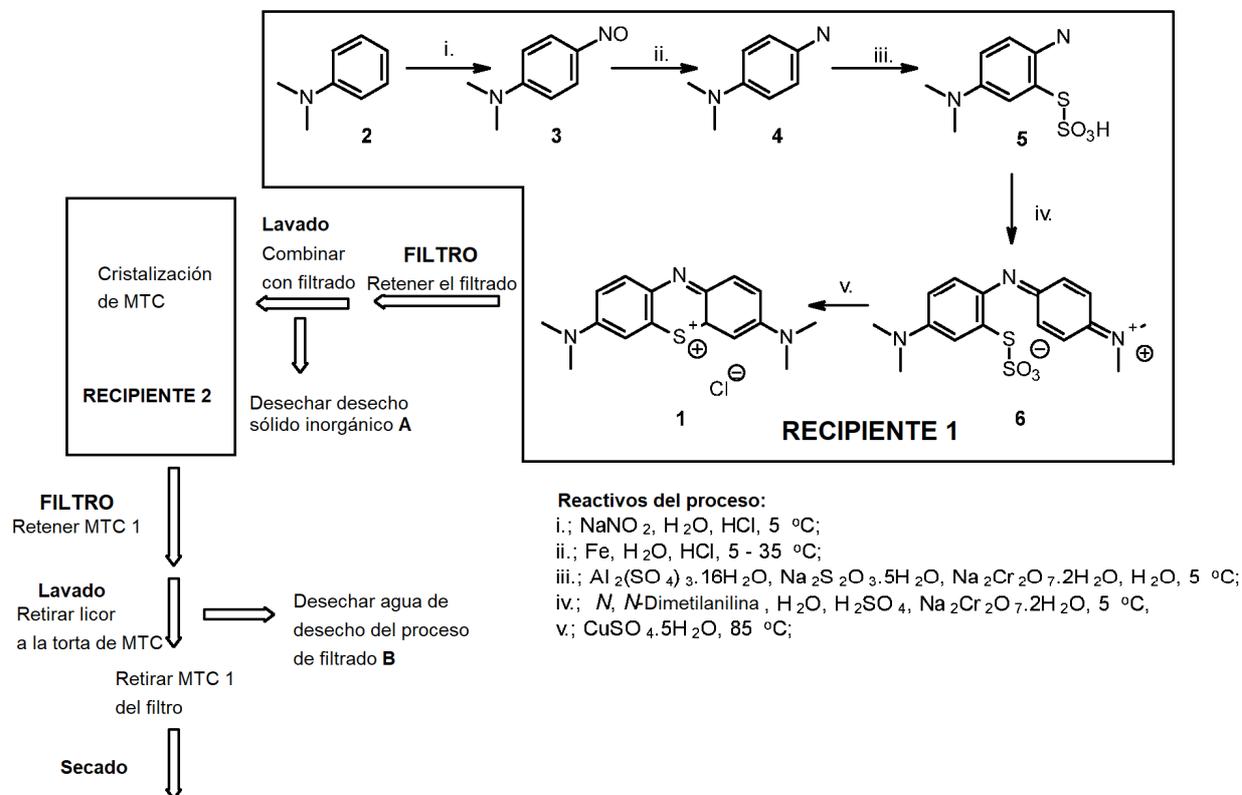
ES 2 713 324 T3

Sulfato de aluminio	342,14 (Anhidro) 630,42 (16H <sub>2</sub> O)	0,5 eq.	0,412	26,09	96 % 16H <sub>2</sub> O
Tiosulfato de sodio	248,18	1,10 eq.	0,0907	22,5 g	≥ 99,5 % 5H <sub>2</sub> O
Agua	-	2,5 vol.	-	25 ml	Desionizado
Dicromato de sodio	298,00 (2H <sub>2</sub> O)	0,41 eq.	0,0336	10,0 g	≥ 99,5 % 2H <sub>2</sub> O
Agua	-	4,0 vol.	-	40 ml	Desionizado
<b>Ácido tiosulfónico (5)</b>	<b>248,32</b>	<b>1,0 eq.</b>	<b>0,0825</b>	<b>20,49 g</b>	<b>No aislado</b>
				<b>Rendimiento -</b>	<b>No aislado</b>
<b>Etapas 4</b>					
<i>N,N</i> -Dimetilnilina	121,19	1,0 eq.	0,0825	10,0 g	99 %
Agua	-	1,0 vol.	-	10 ml	Desionizado
Ácido sulfúrico	-	0,8 % p/p	-	8,0 g	> 98 %
Dicromato de sodio	298,00 (2H <sub>2</sub> O)	1,06 eq.	0,0872	26,0 g	≥ 99,5 % 2H <sub>2</sub> O
Agua	-	7,0 vol.	-	70 ml	Desionizado
<b>Ácido tiosulfónico de VG (6)</b>	<b>365,09</b>	<b>1,0 eq.</b>	<b>0,0825</b>	<b>30,12 g</b>	<b>No aislado</b>
				<b>Rendimiento -</b>	<b>No aislado</b>
<b>Etapas 5</b>					
Sulfato de cobre (II)	249,70	0,097	0,0080	2,0	99 %
Agua	-	13 vol.	-	130 ml	Desionizado
Ácido clorhídrico	-	0,65 vol.	-	~ 6,5 ml	32 %
<b>MTC (1)</b>	<b>319,85 (Anhd)</b>	<b>1,0</b>	<b>0,0825</b>	<b>26,39</b>	-
				<b>(&gt; 95 %)</b>	
<b>Etapas 5</b>					
<b>Rendimiento global</b>					<b>40 %</b>

- 5 A un matraz de fondo redondo (MFR) se le añadieron *N,N*-dimetilnilina (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, PM 121,2, 10 g, 0,0825 mol), agua (150 cm<sup>3</sup>) y HCl (32 %, 24 cm<sup>3</sup>). La mezcla se enfrió a ~5 °C. A esta mezcla se le añadió gota a gota una solución acuosa de nitrito de sodio (NaNO<sub>2</sub>, PM 69,0, 6,3 g, 0,0913 mol) en agua (100 cm<sup>3</sup>) durante un período de 25 minutos. La suspensión resultante se agitó a baja temperatura (5-10 °C) durante 1 hora. La mezcla se enfrió a aproximadamente 5 °C. Se añadió HCl (32 %, 24 cm<sup>3</sup>) en una alícuota. Se añadieron limaduras de hierro (Fe, PM 55,85, 12,1 g, 0,217 mol) en porciones de una alícuota. La mezcla se agitó durante 2 horas a una temperatura inferior a 30 °C.
- 10 La mezcla se enfrió a aproximadamente 5 °C. La mezcla se trató con hexadecahidrato de sulfato de aluminio (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>·16H<sub>2</sub>O, PM 630,42, 26 g, 0,412 mol). La mezcla se trató con una solución de pentahidrato de tiosulfato de sodio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O, PM 248,2, 22,5 g, 0,0907 mol) en agua (25 cm<sup>3</sup>). Se añadió gota a gota una solución de dihidrato de dicromato de sodio (Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O, PM 298,0, 10,0 g, 0,0336 mmol) en agua (40 cm<sup>3</sup>) durante un período de 30 minutos. La solución se agitó después a baja temperatura (aproximadamente 5 °C) durante 1 hora.
- 15 Después se añadió una solución homogénea de *N,N*-dimetilnilina (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, PM 121,2, 10 g, 0,0825 mol), agua (10 cm<sup>3</sup>) y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98 %, 8 g) a la solución enfriada. Después, se añadió gota a gota una solución de dihidrato de dicromato de sodio (Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O, PM 298,0, 26,0 g, 0,0872 mmol) en agua (70 cm<sup>3</sup>) durante un período de 30 minutos. La mezcla se agitó a aproximadamente 5 °C durante 2 horas.
- 20 Se añadió pentahidrato de sulfato de cobre (II) (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, PM 249,7, 2,06 g, 8,25 mmol) a la mezcla de reacción. La temperatura aumentó a 85 °C. La mezcla se agitó a esta temperatura durante 1 hora. Se formó un color azul profundo. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla se filtró. El residuo se lavó con agua (80 cm<sup>3</sup>, 2 veces). El filtrado se recogió. El filtrado se trató con ácido clorhídrico para obtener un pH de 1, lo que precipitó el cloruro de metiltioninio en bruto. La mezcla se agitó hasta que desapareció el color azul profundo. La mezcla se filtró para proporcionar cloruro de metiltioninio (MTC) en bruto en forma de un sólido (10,62 g, 40 % basado en el peso anhidro).
- 25

Ejemplo 5b

Este es un método de 2 recipientes, como se muestra en el Esquema 2b, a continuación:



5

Esquema 2b: Proceso de MTC en dos reactores

La Tabla 2b esboza las cantidades de reactivos y disolventes utilizados para producir MTC en una escala de 10 g (es decir, a partir de 10 g de dimetilaniлина) usando el método del Ejemplo 5b.

10

Tabla 2b: Cantidades de reactivos

Etapa 1					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	Moles	Cantidad	Pureza
<i>N,N</i> -Dimetilaniлина (2)	121,19	1,0 eq.	0,0825	10,0 g	99 %
Agua	-	15 vol.	-	150 ml	Desionizado
Ácido clorhídrico	-	2,4 vol.	-	24 ml	32 %
Nitrito de sodio	69,0	1,1 eq.	0,0913	6,3 g	98 %
Agua	-	5,0 vol.	-	50 ml	Desionizado
Nitroso (3)	150,08	1,0 eq.	0,0825	12,38 g	No aislado
				Rendimiento > 95 %	No aislado
Etapa 2					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	Moles	Cantidad	Pureza
Ácido clorhídrico	-	2,4 vol.	-	24 ml	32 %
Limaduras de hierro	55,85	2,63 eq.	0,217	12,1 g	Reactivo
Amina (4)	136,10	1,0 eq.	0,0825	11,23 g	No aislado
				Rendimiento > 95 %	No aislado

Etapa 3					
Sustancia	PM (g/mol)	Eq/Vol	Moles	Cantidad	Pureza
Sulfato de aluminio	342,14 (Anhidro) 630,42 (16H <sub>2</sub> O)	0,5 eq.	0,412	26,0 g	96 % 16H <sub>2</sub> O
Tiosulfato de sodio	248,18	1,10 eq.	0,0907	22,5 g	≥ 99,5 % 5H <sub>2</sub> O
Agua	-	2,5 vol.	-	25 ml	Desionizado
Dicromato de sodio	298,00 (2H <sub>2</sub> O)	0,41 eq.	0,0336	10,0 g	≥ 99,5 % 2H <sub>2</sub> O
Agua	-	4,0 vol.	-	40 ml	Desionizado
Ácido tiosulfónico (5)	248,32	1,0 eq.	0,0825	20,49 g	No aislado
				Rendimiento -	No aislado
Etapa 4					
<i>N,N</i> -Dimetilanilina	121,19	1,0 eq.	0,0825	10,0 g	99 % de
Agua	-	1,0 vol.	-	10 ml	Desionizado
Ácido sulfúrico	-	0,8 % p/p	-	8,0 g	> 98 %
Dicromato de sodio	298,00 (2H <sub>2</sub> O)	1,06 eq.	0,0872	26,0 g	≥99,5 % 2H <sub>2</sub> O
Agua	-	7,0 vol.	-	70 ml	Desionizado
Ácido tiosulfónico de VB (6)	365,09	1,0 eq.	0,0825	30,12 g	No aislado
				Rendimiento -	No aislado
Etapa 5					
Sulfato de cobre (II)	249,70	0,097	0,0080	2,0	99 %
Agua	-	40 vol.	-	400 ml	Desionizado
Ácido clorhídrico	-	0,65 vol.	-	~6,5 ml	32 %
MTC (1)	319,85 (anhidro)	1,0	0,0825	26,39	-
				(≥ 95 %)	
Rendimiento global		48 %			

### Etapa i

1. Se añade *N,N*-dimetilanilina (10,0 g, 0,0825 mol) al matraz de reacción.
- 5 2. Se añade una mezcla de ácido clorhídrico al 32 % (24°Cm<sup>3</sup>) y agua (150°Cm<sup>3</sup>) al matraz de reacción.
3. La solución se agita para garantizar la homogeneidad.
4. La mezcla de reacción se enfría a 5 °C (± 2 °C).
5. Se añade una solución de un nitrito de sodio acuoso [(6,3 g, 0,0913 mol) en agua (50°Cm<sup>3</sup>) durante 30 minutos. *Se observará una temperatura máxima de 10 °C, durante la cual se obtiene una mezcla de reacción marrón con un precipitado de color naranja.*
- 10 6. La reacción debe agitarse durante 60 minutos adicionales, mientras se mantiene una temperatura de 5 °C (±2 °C).

### Etapa ii

7. Adición de ácido clorhídrico al 32 % (24°Cm<sup>3</sup>)
8. Adición de limaduras de hierro (12,1 g, 0,217 mol) durante 60 minutos, garantizando que la temperatura permanezca por debajo de 35 °C.
9. La reacción se deja agitar durante aproximadamente 17 horas. (± 1 h), a aprox. 20 °C. *Durante este tiempo, el precipitado de color naranja desaparecerá, se formará espuma de la mezcla de reacción y quedará un licor de reacción de color marrón homogéneo que contiene restos de limaduras de hierro residuales.*
- 20

[Método de CCF: neutralizar una muestra de mezcla de reacción con NaHCO<sub>3</sub> y extraer en acetato de etilo, manchar la capa de acetato de etilo y desarrollar la TLC con acetato de etilo, hexano 1:3. El nitroso se desarrolla con un Fr = - 0,3 (mancha de color naranja) y la diamina en la línea basal (mancha de color marrón)].

### Etapa iii

10. La mezcla de reacción se enfría a 5 °C (± 1 °C)
11. Adición de sulfato de aluminio sólido (26,0 g, 0,0423 mol).
12. La mezcla de reacción se agita durante 5 minutos.
13. Adición de solución de tiosulfato de sodio [(22,5 g, 0,0907 mol) en agua (25°Cm<sup>3</sup>)] en una alícuota.
14. La mezcla de reacción se agita durante cinco minutos.
15. Adición de solución de dicromato de sodio [(10,0 g, 0,0336 mol) en agua (40°Cm<sup>3</sup>) gota a gota durante 30

minutos. Se mantiene una temperatura no superior a 12 °C ( $\pm 1$  °C). *El precipitado de color marrón aparece durante esta etapa, con un ligero aclaramiento en el color de la mezcla de reacción de color marrón.*

16. La reacción se agita durante 1 h a 5 °C ( $\pm 2$  °C).

#### 5 Etapa iv

17. Se prepara una solución de *N,N*-dimetilanilina [(10,0 g, 0,0825 mol) en agua (10°cm<sup>3</sup>) y ácido sulfúrico (8 g)] mediante la adición de ácido sulfúrico gota a gota a una mezcla fría de *N,N*-dimetilanilina y agua. Se debe tener precaución durante la adición de ácido ya que es extremadamente exotérmica.

10 18. La solución de *N,N*-dimetilanilina [(10,0 g, 0,0825 mol) en agua (10°cm<sup>3</sup>) y ácido sulfúrico (8 g)] se añade después al matraz de reacción como una sola alícuota.

19. Adición de una solución de dicromato de sodio [(26,0 g, 0,0872 mol) en agua (70°cm<sup>3</sup>)] gota a gota durante 30 minutos, mientras se mantiene la temperatura por debajo de 12 °C.

20. La reacción se agita durante 2 h adicionales. 5 °C ( $\pm 2$  °C).

15 21. Adición de 10 g de coadyuvante de filtración de celulosa (BW SCAR-O-FLOC).

#### Etapa v

22. Adición de sulfato de cobre (2,0 g, 8,03°mmol).

20 23. La reacción se calienta a 85 °C y se agita durante 1 h. *La reacción se volverá de color púrpura metálico, después de color azul.*

24. Los compuestos insolubles se recogen por filtración mientras todavía se encuentran a 85 °C.

25 25. La torta del filtro se lava con agua precalentada (60 °C) (100°cm<sup>3</sup>, 4 veces). Cada filtrado de un lavado se combina con el filtrado de reacción. [Un tiempo de reposo, de al menos 2 minutos, entre la adición del lavado en el filtro y el lavado a través de la torta del filtro, permite que la torta se empape por completo.]

26. El filtrado combinado se enfría a 20 °C.

27. El filtrado se ajusta a pH 1 usando ácido clorhídrico (32 %) (aprox. 12°cm<sup>3</sup>).

28. El filtrado se agita durante 18 horas adicionales para garantizar una cristalización completa.

30 29. El cloruro de metiltioninio cristalino se recoge por filtración al vacío.

30. La torta del filtro se lava con agua (20°cm<sup>3</sup>, 2 veces) preenfriada (5 °C); acidificada (pH 1).

31. Después, el cloruro de metiltioninio cristalino se seca en un horno a 40 °C durante 18 horas.

**Rendimiento = 48 % ( $\pm 3$  %) \***

35 \* (Rendimiento teniendo en cuenta las sales, las impurezas orgánicas y el contenido de agua)

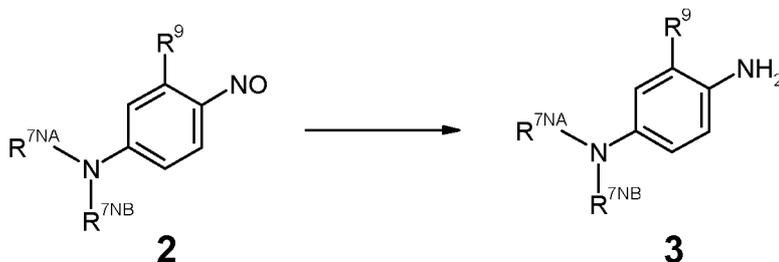
Lo anterior ha descrito los principios, las realizaciones preferidas y los modos de operación de la presente invención. Sin embargo, la invención no debe interpretarse limitada a las realizaciones particulares analizadas. En su lugar, las realizaciones descritas anteriormente deben considerarse ilustrativas en lugar de restrictivas, y debe apreciarse que los expertos en la materia pueden realizar variaciones en esas realizaciones sin apartarse del alcance de la presente invención como se describe en el presente documento.

40

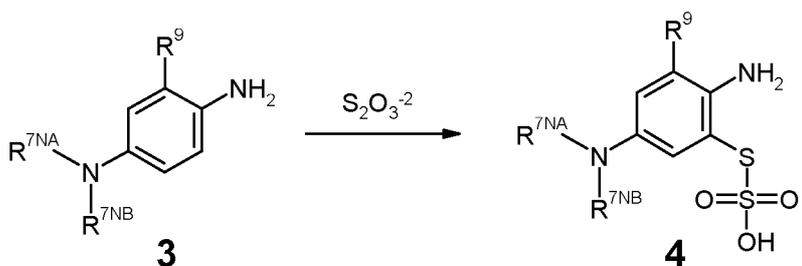
## REIVINDICACIONES

1. Un método de síntesis que comprende las etapas de, en orden:

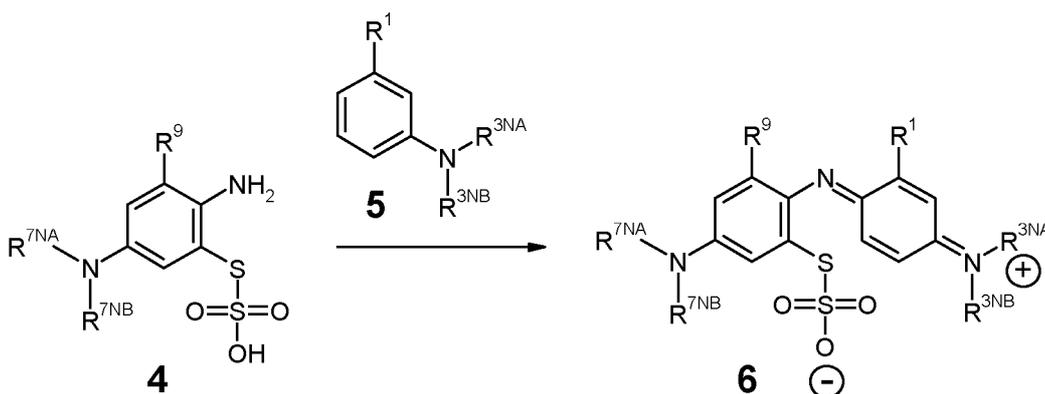
- 5 reducción de nitrosilo (NR), en la que una *N,N*-disustituida-3-opcionalmente sustituida-4-nitrosil anilina, **2**, se reduce para formar dicho *N,N*-disustituido-1,4-diamino-5-opcionalmente sustituido benceno, **3**:



- 10 formación de ácido tiosulfónico (TSAF), en la que un benceno *N,N*-disustituido-1,4-diamino-5-opcionalmente sustituido, **3**, es oxidado en presencia de un tiosulfato, preferentemente un tiosulfato, que es o que comprende  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , para proporcionar dicho S-{2-(amino)-3-(opcionalmente sustituido)-5-(amino disustituido)-fenil}-éster de ácido tiosulfúrico, **4**:



- 15 acoplamiento oxidativo (OC), en el que un S-{2-(amino)-3-(opcionalmente sustituido)-5-(amino disustituido)-fenil}-éster del ácido tiosulfúrico, **4**, está acoplado oxidativamente a una *N,N*-disustituida-3-opcionalmente sustituida-anilina, **5**, usando un agente oxidante que es o que comprende Cr(VI), para proporcionar un amonio [4-{2-(tiosulfato)-4-(amino disustituido)-6-(opcionalmente sustituido)-fenil-imino}-3-(opcionalmente sustituido)-ciclohexa-2,5-dieniliden]-*N,N*-disustituido, **6**:



25 en el que;

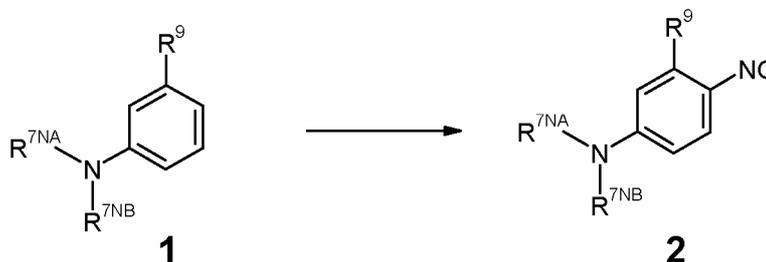
- 30 cada uno de  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^9$  es seleccionado independientemente entre: -H; alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; alquenilo  $\text{C}_{2-4}$ ; y alquilo  $\text{C}_{1-4}$  halogenado;  
 cada uno de  $\text{R}^{3\text{NA}}$  y  $\text{R}^{3\text{NB}}$  es seleccionado independientemente entre: alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; alquenilo  $\text{C}_{2-4}$ ; y alquilo  $\text{C}_{1-4}$  halogenado;  
 cada uno de  $\text{R}^{7\text{NA}}$  y  $\text{R}^{7\text{NB}}$  es seleccionado independientemente entre: alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; alquenilo  $\text{C}_{2-4}$ ; y alquilo  $\text{C}_{1-4}$  halogenado; y,  
 en el que las etapas de reducción de nitrosilo (NR), de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) y de acoplamiento oxidativo (OC) se completan en un solo recipiente de reacción; y,

en el que dicha reducción en dicha etapa de reducción de nitrosilo (NR) es por reacción con un agente reductor que es o que comprende Fe(O).

2. Un método de síntesis de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha oxidación en dicha etapa de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) es por reacción con un agente oxidante, que es o que comprende Cr(VI) preferentemente un agente oxidante, que es o que comprende Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

3. Un método de síntesis de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho agente reductor, que es o que comprende Fe(O), es un agente reductor, que es o que comprende hierro metálico, en el que dicho hierro metálico se usa preferentemente en exceso, y en el que el exceso de hierro metálico no se retira de la mezcla de reacción después de completarse la reacción, y/o, en el que dicha reducción en dicha etapa de reducción de nitrosilo (NR) se realiza preferentemente en condiciones ácidas.

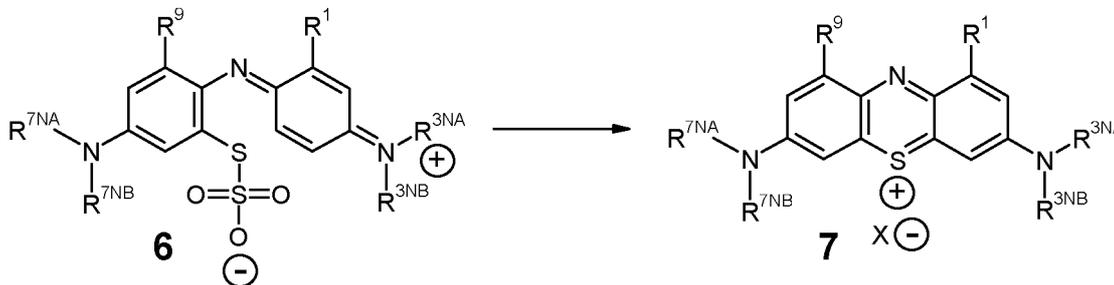
4. Un método de síntesis de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende adicionalmente, antes de dicha etapa de reducción de nitrosilo (NR), la etapa adicional de: nitrosilación (NOS), en la que una anilina *N,N*-disustituida-3-opcionalmente sustituida, **1**, se 4-nitrosila para proporcionar dicha *N,N*-disustituida-3-opcionalmente sustituida-4-nitrosil anilina, **2**:



en la que dicha nitrosilación se realiza preferentemente usando un nitrito, por ejemplo, nitrito de sodio, y/o en la que dicha nitrosilación se realiza preferentemente en condiciones ácidas.

5. Un método de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la etapa de nitrosilación (NOS) se completa en el mismo recipiente de reacción que las etapas de reducción de nitrosilo (NR), de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) y de acoplamiento oxidativo (OC).

6. Un método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende adicionalmente, después de la etapa de acoplamiento oxidativo (OC), la etapa de cierre de anillo (RC), en la que dicho amonio [4-{2-(tiosulfato)-4-(amino disustituido)-6-(opcionalmente sustituido)-fenil-imino}-3-(opcionalmente sustituido)-ciclohexa-2,5-dieniliden]-*N,N*-disustituido, **6**, es sometido a un cierre de anillo para proporcionar una sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**:

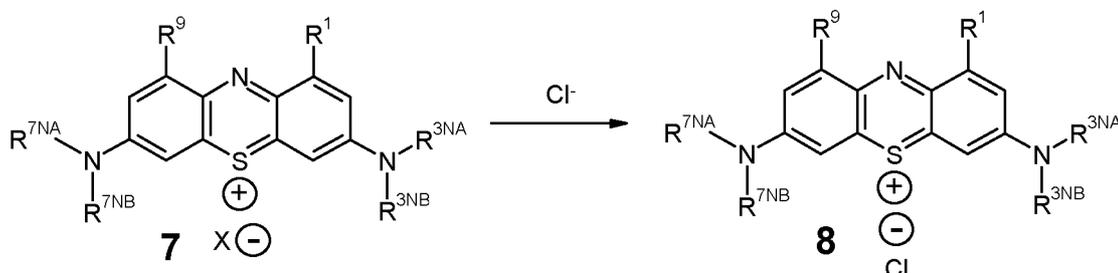


en la que X es uno o más contraiones aniónicos para conseguir neutralidad eléctrica, en donde la etapa de cierre de anillo (RC) se completa preferentemente en el mismo recipiente de reacción que las etapas de reducción de nitrosilo (NR), de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) y de acoplamiento oxidativo (OC).

7. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende adicionalmente, después de la etapa de acoplamiento oxidativo (OC), y antes de la etapa de cierre de anillo (RC), si está presente, la etapa de: aislamiento y purificación del intermedio zwitteriónico (IAPOZI), en la que dicho amonio [4-{2-(tiosulfato)-4-(amino disustituido)-6-(opcionalmente sustituido)-fenil-imino}-3-(opcionalmente sustituido)-ciclohexa-2,5-dieniliden]-*N,N*-disustituido, **6**, es aislado y es purificado, siendo el aislamiento y la purificación preferentemente por filtración seguida de lavado.

8. Un método de síntesis de acuerdo con la reivindicación 6 o con la reivindicación 7, que comprende dicha etapa de cierre del anillo (RC) y la siguiente etapa adicional de:

5 formación de sal de cloruro (CSF), en la que dicha sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**, se hace reaccionar con cloruro, para proporcionar una sal de cloruro de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **8**:



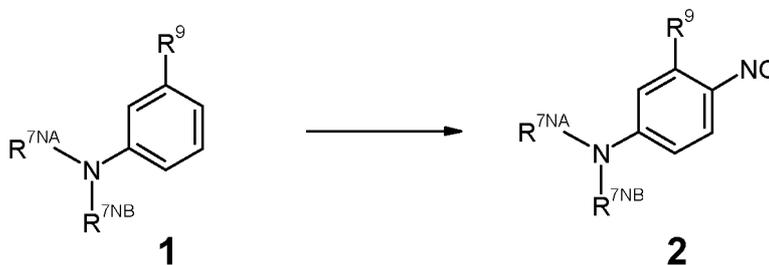
10 9. Un método de síntesis de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el cloruro es ácido clorhídrico, y en el que la formación de sal de cloruro (CSF) se realiza preferentemente a un pH relativamente bajo de 0 a 2, más preferentemente de aproximadamente 1.

15 10. Un método de síntesis de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la formación de sal de cloruro (CSF) se realiza a una temperatura relativamente fría de 20 a 30 °C, preferentemente a aproximadamente 25 °C.

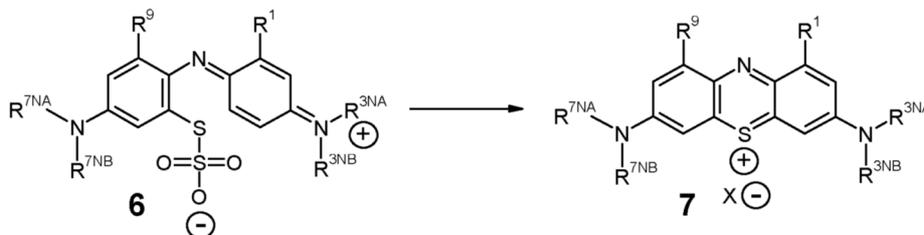
11. Un método de síntesis de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicho cloruro es cloruro de sodio.

20 12. Un método de síntesis de la reivindicación 1 que comprende adicionalmente las etapas de:

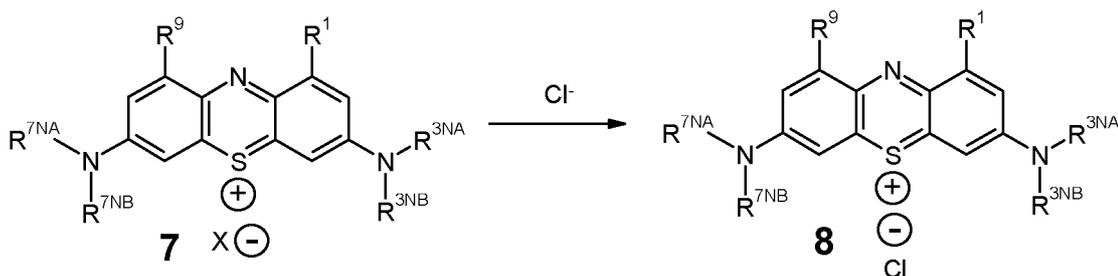
nitrosilación (NOS) antes de la etapa de reducción de nitrosilo (NR), en la que una anilina *N,N*-disustituida-3- opcionalmente sustituida, **1**, se 4-nitrosila para proporcionar dicha *N,N*-disustituida-3-opcionalmente sustituida-4-nitrosil anilina, **2**:



25 en el que las etapas de nitrosilación (NOC), de reducción de nitrosilo (NR), de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) y de acoplamiento oxidativo (OC) se completan en un solo recipiente de reacción, y el cierre de anillo (RC), después del acoplamiento oxidativo (OC), en el que dicho amonio [4-{2-(tiosulfato)-4-(amino disustituido)-6-(opcionalmente sustituido)-fenilimino}-3-(opcionalmente sustituido)-ciclohexa-2,5-dieniliden]-*N,N*-disustituido aislado y purificado, **6**, es sometido a un cierre de anillo, para proporcionar una sal de 3,7-bis(amino-disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**:



35 formación de sal de cloruro (CSF), después del cierre de anillo (RC), en la que dicha sal de 3,7-bis(amino disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**, se hace reaccionar con cloruro para proporcionar una sal de cloruro de 3,7-bis(amino-disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **8**:

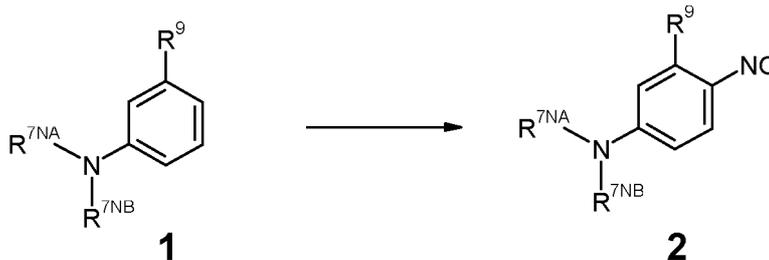


5 en la que cada uno de  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^9$  es seleccionado independientemente entre: -H; alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; alqueno  $\text{C}_{2-4}$ ; y alquilo  $\text{C}_{1-4}$  halogenado, cada uno de  $\text{R}^{3\text{NA}}$  y  $\text{R}^{3\text{NB}}$  es seleccionado independientemente entre: alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; alqueno  $\text{C}_{2-4}$ ; y alquilo  $\text{C}_{1-4}$  halogenado; y cada uno de  $\text{R}^{7\text{NA}}$  y  $\text{R}^{7\text{NB}}$  es seleccionado independientemente entre: alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; alqueno  $\text{C}_{2-4}$ ; y alquilo  $\text{C}_{1-4}$  halogenado.

10 13. Un método de síntesis de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente las etapas de:

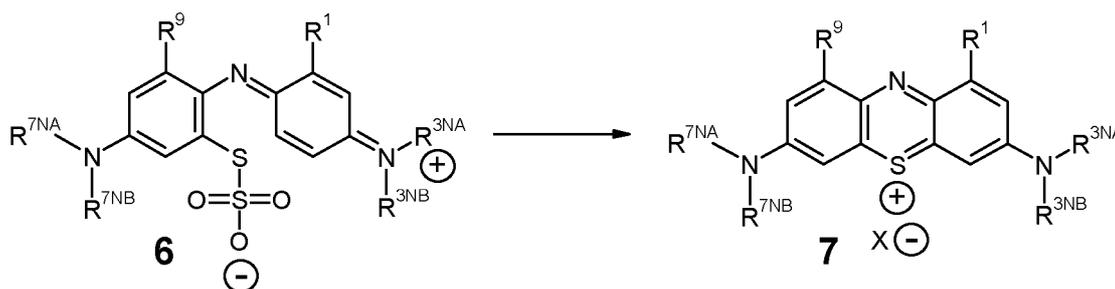
nitrosilación (NOS), antes de la reducción de nitrosilo (NR), en la que una anilina *N,N*-disustituida-3- opcionalmente sustituida, **1**, se 4-nitrosila para proporcionar dicha *N,N*-disustituida-3- opcionalmente sustituida-4-nitrosil anilina, **2**:

15



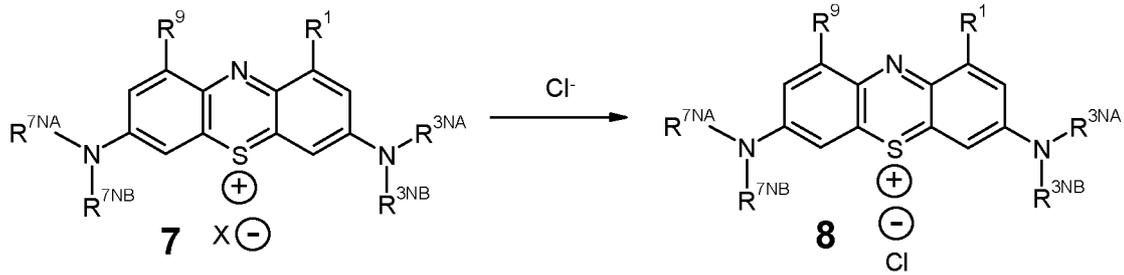
20 cierre de anillo (RC), después del acoplamiento oxidativo (OC), en el que el amonio [4-{2-(tiosulfato)-4-(amino disustituido)-6-(opcionalmente sustituido)-fenil-imino}-3-(opcionalmente sustituido)-ciclohexa-2,5-dienilidén]-*N,N*-disustituido, **6**, es sometido a un cierre de anillo para proporcionar una sal de 3,7-bis(amino-disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7**:

20



25 en la que la nitrosilación (NOC), la reducción de nitrosilo (NR), la formación de ácido tiosulfónico (TSAF), el acoplamiento oxidativo (OC) y las etapas de cierre de anillo (RC) se completan en un solo recipiente de reacción, formación de sal de cloruro (CSF), en la que se hace reaccionar dicha sal de 3,7-bis(amino-disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **7** con cloruro, para proporcionar una sal de cloruro de 3,7-bis(amino-disustituido)-1,9-(opcionalmente sustituido)-fenotiazin-5-io, **8**:

30



- 5 en la que cada uno de  $R^1$  y  $R^9$  es seleccionado independientemente entre: -H; alquilo  $C_{1-4}$ ; alqueno  $C_{2-4}$ ; y alquilo  $C_{1-4}$  halogenado;  
 cada uno de  $R^{3NA}$  y  $R^{3NB}$  es seleccionado independientemente entre: alquilo  $C_{1-4}$ ; alqueno  $C_{2-4}$ ; y alquilo  $C_{1-4}$  halogenado;  
 y cada uno de  $R^{7NA}$  y  $R^{7NB}$  es seleccionado independientemente entre: alquilo  $C_{1-4}$ ; alqueno  $C_{2-4}$ ; y alquilo  $C_{1-4}$  halogenado.
- 10 14. Un método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende adicionalmente la adición de un agente activador antes o durante la etapa de formación de ácido tiosulfónico (TSAF), en el que el agente activador comprende preferentemente sulfato de aluminio.
- 15 15. Un método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que se añade un agente de filtración al recipiente de reacción, en el que se completan las etapas de reducción de nitrosilo (NR), de formación de ácido tiosulfónico (TSAF) y de acoplamiento oxidativo (OC), siendo el agente de filtración preferentemente un agente de filtración que es o que comprende celulosa.