(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년05월29일
(11) 등록번호 10-1741235
(24) 등록일자 2017년05월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 279/20 (2006.01) *A61K 31/495* (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 279/20 (2013.01)
A61K 31/495 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7005820
(22) 출원일자(국제) 2014년08월15일
심사청구일자 2016년08월16일
(85) 번역문제출일자 2016년03월03일
(65) 공개번호 10-2016-0042929
(43) 공개일자 2016년04월20일
(86) 국제출원번호 PCT/AU2014/000807
(87) 국제공개번호 WO 2015/021500
국제공개일자 2015년02월19일
(30) 우선권주장
2013903099 2013년08월15일 오스트레일리아(AU)
(56) 선행기술조사문헌
WO2008007074 A2*
J AOAC Int,. 1997., Vol.80, No.1., pp 31-35*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
유파마 피티와이 엘티디
오스트레일리아 2063 엔에스더블유 노스브리지 로드 커랄리 16
(72) 발명자
유틱 말빈
오스트레일리아 뉴싸우스웨일스 2063 노쓰브리지 커랄리 로드 16
(74) 대리인
리앤목특허법인

전체 청구항 수 : 총 18 항 심사관 : 송호선

(54) 발명의 명칭 **디아미노페노티아지니움 화합물을 정제하는 방법**

(57) 요 약

디아미노페노티아지니움 화합물, 특히 메틸렌 블루의 정제를 위한 방법이 기술된다. 상기 방법은 포스트 합성(post-systhesis), 상업적으로 입수 가능한 디아미노티아지니움 화합물의 환원에 의해 그의 환원된 복합체를 형성하는 것에 의해 단순하고 효과적인 정제를 제공한다. 이후에 이것은 예를 들면, 디아미노페노티아지니움 화합물로 다시 산화되게 하기 전의 재결정화에 의한 원래의 화합물 보다 더 간단한 방법으로 정제될 수 있다.

(52) CPC특허분류
A61K 49/001 (2013.01)
A61K 49/006 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

메틸렌 블루 또는 루코메틸렌 블루, 또는 그 염을 정제하는 방법으로서,

(i) 메틸렌 블루 또는 루코메틸렌 블루, 또는 그 염을 무금속(metal-free) 환원제와 접촉시켜 양성자화된 루코메틸렌 블루(leucomethylene blue) 복합체를 형성하는 단계;

(ii) 상기 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 정제하는 단계; 및

(iii) 상기 정제된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 무금속 산화제와 접촉시켜 메틸렌 블루를 형성하는 단계

를 포함하고, 그에 의해 메틸렌 블루를 정제하는 방법.

청구항 6

삭제

청구항 7

청구항 5에 있어서, 상기 무금속 환원제가 아스코르브산, 디티온산나트륨(sodium dithionite), 수소, 포름산, 옥살산, 디티오트레이톨(dithiothreitol), 나트륨 아말감(sodium amalgam), 소듐 보로히드리드(sodium borohydride), 히드라진, 아인산염(phosphite), 차아인산염(hypophosphite) 및 아인산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 무금속 환원제가 아스코르브산인 방법.

청구항 9

청구항 5에 있어서, 상기 메틸렌 블루 또는 루코메틸렌 블루, 또는 그 염을 산성 pH에서 상기 무금속 환원제와 접촉시키는 방법.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 산성 pH가 pH 3 미만인 것인 방법.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 산성 pH가 pH 1 미만인 것인 방법.

청구항 12

청구항 5에 있어서, 상기 무금속 환원제가 1염기(monoprotic) 또는 2염기(diprotic)의 무기산(mineral acid)로부터 선택된 산으로 산성화된 용액 중에 있는 방법.

청구항 13

청구항 12에 있어서, 상기 산이 염산, 황산, 질산, 인산, 붕산, 불화 수소산, 브롬화 수소산, 및 과염소산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 14

청구항 5에 있어서, 상기 무금속 환원제와의 접촉이 유기 용매 중에서 일어나는 방법.

청구항 15

청구항 14에 있어서, 상기 유기 용매가 C1 내지 C8 알코올인 방법.

청구항 16

청구항 5에 있어서, 상기 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체의 정제가 크로마토그래피, 이온 교환, 여과, 세척 및 재결정화로 이루어진 군으로부터 선택된 방법에 의한 것인 방법.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 상기 정제가 재결정화에 의한 것인 방법.

청구항 18

청구항 17에 있어서, 상기 재결정화가 물, 알코올 및 에테르로 이루어진 군으로부터 선택된 용매로부터 이루어지는 방법.

청구항 19

삭제

청구항 20

청구항 5에 있어서, 상기 무금속 산화제가 산소, 오존, 염소, 불소, 브롬, 요오드, 과산화수소, 질산 및 질산염 화합물, 인산, 과산화이황산(peroxydisulphuric acid), 과산화일황산(peroxymonosulphuric acid), 황산 및 설퍼산(sulphurous acid), 아염소산염(chlorite), 염소산염, 과염소산염, 및 다른 유사한 할로겐-함유 화합물, 차아염소산염, 및 다른 하이포할라이트(hypohalite) 화합물, 과망간산염, 아산화질소, 및 퀴논(quinones)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 21

청구항 5에 있어서, 상기 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 염 또는 다른 이온 복합체인 방법.

청구항 22

청구항 21에 있어서, 상기 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체인 방법.

청구항 23

청구항 5에 있어서, 상기 단계 (i) 전에, 산성 용액으로부터 상기 메틸렌 블루를 재결정화하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 24

청구항 5에 있어서, 상기 단계 (iii) 이후에, 산성 용액으로부터 상기 정제된 메틸렌 블루를 재결정화하는 단계

를 추가로 포함하는 방법.

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 디아미노페노티아지니움 화합물의 정제 및 정제 과정 동안 형성된 신규한 디아미노페노티아지니움 화

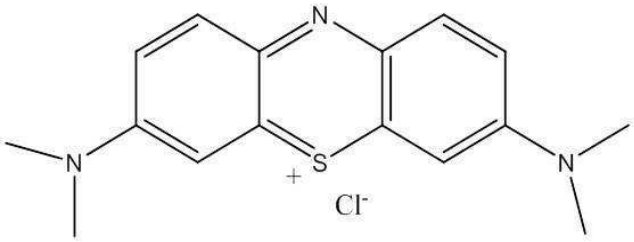
합물에 관한 것이다. 특히 본 발명은 신규한 중간 복합체를 사용하여 그에 한정되지 않는, 메틸렌 블루 및 가깝게 관련된 화합물의 정제에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 본 명세서의 배경 기술에 대한 참고문헌은 호주 또는 그 외의 지역에서 일반적인 지식을 구성하는 기술로서 시인하는 것으로 해석되지 않는다.

[0003] 디아미노페노티아지니움 염료는 잘 알려져 있다. 특히 의료 염료, 또는 해독제(antidote), 통상적으로 "메틸렌 블루"로 알려진, 메틸티오니니움 클로리드(methylthioninium chloride)(3, 7-비스 (디메틸아미노) 페노티아진-5-일리움 클로리드)는 그의 과거의 용도를 넘어서 다수의 의학적 적용으로 그의 용도가 상대적으로 최근에 확장되고 있다. 이 염료에 대한 다른 일반적인 이름은 테트라메틸티오닌 클로리드(tetramethylthionine chloride), C.I.용매 블루(Solvent Blue), 스위스 블루(Swiss Blue), C.I.베이식 블루(Basic Blue) 8, 아닐린 바이올렛(Aniline Violet) 및 우롤렌 블루(Urolene Blue)를 포함한다. 이것은 다음의 구조식(화학식 1)을 가지나, 기술 분야의 통상의 당업자는 특정 공명 구조 및 토토머 형태(tautomeric form)의 존재를 인식할 것이다:

[0004] 화학식 I



[0005]

[0006] 메틸렌 블루는 다양한 용도의 긴 역사를 가진다. 산업적 적용은 착색제, 산화 환원 지시약, 및 염료, 면역학적 또는 미생물학적 염색, 광전자 이미징, 환경 금속 이온 봉쇄제(metal sequestrant), 가죽 염료 및 소독제로서의 그의 용도를 포함한다.

[0007] 임상 분야에 있어서, 이는 두 개의 주요 확립된 용도를 가진다: 첫째, 메트헤모글로빈혈증(methaemoglobinaemia), 때때로 시안화물 및 일산화탄소 중독을 위한 해독제, 및 둘째, 예를 들면, 바레트식도(Barret's esophagus), 및 내시경 용종절제술(Endoscopic polypectomy)에서의 세포 이형성 검사, 나팔관 개방(Fallopian tube patency), 및 누관 검출(fistula detection)과 같은 다양한 종류의 임상적 상태에 대한 색소 진단 또는 색소내시경(chromoendoscopic) 제제.

[0008] 1891년에 파울 에를리히(Paul Ehrlich)는 말라리아 치료로서의 메틸렌 블루를 확인하였다. 더욱 최근에는 그의 용도가 신경병증(또는 신경퇴행성 질환), 바이러스 감염, 조울증(bipolar disorder)의 치료, 및 림프절 및 림프 배액의 추적으로 확장될 수 있게 제안되었다. 치과학에 있어서, 용도는 치아에서 작은 금(crack)의 발견, 및 만성 치주염 치료를 위한 광역학 염료를 포함한다. 메틸렌 블루는 골 시멘트에 첨가되어 본래 및 합성 골 사이의 식별을 제공한다. 또한, 골 시멘트 강화를 위해, 골 시멘트가 효과적으로 적용될 수 있는 속도를 증가시키는 촉진제(accelerant)로서 사용된다. 인간 이외의 종에 있어서, 수족관 어류의 "지느러미 부식병(fin rot)" 치료부터 독성의 여우 미끼의 의도하지 않은 섭취에 의해 유발되는 농장견의 메트헤모글로빈혈증까지의 다양한 용도를 갖는다.

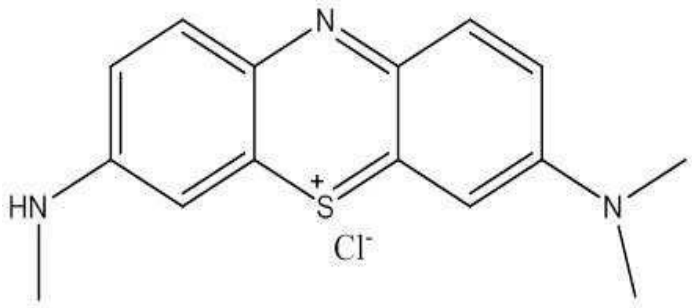
[0009] 메틸렌 블루의 원래의 합성은 1877년에 독일에서 개발되었고(Badische Anilin-und Soda Fabrik, 독일특허번호 제1886호), 이후부터 다수의 다른 방법론이 기술되었고 특허되었다. 모든 방법론에 대한 공통된 맥락은 촉매제로부터의 금속 이온 오염(metal ion contamination)에 대한 가능성이 남아 있는, 철, 망간, 구리, 크롬(크롬산염), 알루미늄 및 아연의 염(또는 금속 그 자체)를 포함하는 다수의 금속 촉매제의 사용이다. 또한, 금속 오염은 합성 과정에 대해 사용되는 금속 장치의 종류로부터 발생할 수 있다.

[0010] 금속 잔여물(metal residue) 외에, 메틸렌 블루의 화학은 생산 동안, 세 개의 다른 구조적으로 및 화학적으로 유사한 유기 독립체의 합성 또는 상호변환에 적합하다. 이들은 메틸렌 블루의 산업적 사용에 대해 적은 영향을 갖고, 또한 유사한 세포학적 염색 목적에 대해 사용될 수 있는 반면에, 임상적 사용에 있어서, 이들은 바람직하

지 않은 봉입체(inclusion)으로서 간주되고, 상세하게는 미국 약전(United States Pharmacopoeis: USP), 및 영국/유럽 약전(British/European Pharmacopoeia: BP/EP)에 오염물로서 기재된다.

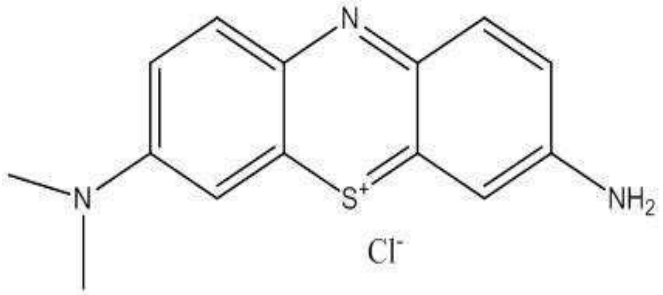
[0011] 이들 유기 오염물은 집합적으로 "아주르(Azure)"로 불리고, 메틸렌 블루의 고리 구조 상의 3번 및 5번 위치에서의 두 개의 디메틸아미노기의 일부 수준의 디메틸화로부터 발생한다. 상세하게는 이들은: 아주르 B(화학식 II)로 알려진 트리메틸 유도체; 아주르 A(화학식 III)로 알려진 디메틸 유도체, 및 아주르 C(화학식 IV)로 알려진 모노메틸 유도체이다.

[0012] 화학식 II



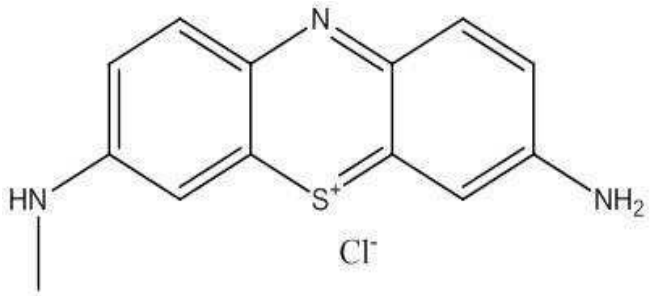
[0013]

[0014] 화학식 III



[0015]

[0016] 화학식 IV



[0017]

[0018] 메틸렌 블루에 대한 아주르의 구조적 및 화학적 유사성으로 인해, 이들 '오염물'은 표준 수단에 의해 혼합물로부터 분리하거나 제거하는 것이 어렵다. 또한 메틸렌 블루의 합성 동안 그들의 발생의 감소가 어렵다는 것이 입증되었다. 그럼에도 불구하고, 최종 메틸렌 블루 산물 자체의 재결정화를 포함하는 많은 수단에 의해 재-정제를 포함하는, 합성 과정 동안 아주르의 수준을 제거하거나 감소시키기 위한 다수의 시도가 이루어졌다. Marshall and Lewis(1975)는 사염화탄소로의 9.5의 고 pH에서의 용매 추출 및 뒤이은 재결정화에 의한 상업적인 메틸렌 블루 및 아주르 B의 정제를 기술한다. 그들은 또한 저온, 및 낮은 pH 재결정화에 의한 금속 이온 제거를 기술한다. Lohr et al(1975)는 상업적인 규모에서는 실용적이지 않은 컬럼 이온 크로마토그래피를 활용하는 정제 방법을 기술한다.

[0019] 더욱 최근에는, 2005년에 Storey et al. (WO 2006/032879)는 제어된 pH 및 온도 조건 하에서 단계별 과정 내에 촉매제로서 다수의 금속 이온(크롬산염(IV) 및 황산구리(II) 및 산화철(II) 포함)을 사용하는 메틸렌 블루 및 그의 유도체의 데 노보(*de novo*) 제조 및 정제 방법을 기술한다. 이 이후에 디클로로메탄, 1,2-디클로로에탄(1,2-dichloroethane), 클로로폼, 에틸 아세테이트, 디에틸 에테르, 클로로벤젠, 페트롤리움 에테르(petroleum

ether), 벤젠, 톨루엔, 및 메틸 아세테이트와 같은 유기 용매로 세척/용매 추출이 일어난다. 상기 방법의 최종 단계 중 주요 단계는 유기 용매, 예를 들면, 디클로로메탄 또는 테트라히드라퓨란의 존재 중 낮은 pH에서의 유기 용매 세척 및 재결정화 및 세척이 뒤이은, 유기 용매 세척 및 EDTA(에틸렌디아민테트라아세트산(ethylenediaminetetraacetic acid)의 첨가가 다시 뒤이은, 메틸디티오카르바메이트(dimethyldithiocarbamate: DT), 황화물(sulphide), 및 염화염, 예를 들면, 염화 나트륨, 탄산염, 예를 들면, 탄산 나트륨의 첨가이다.

[0020] 동일한 그룹에 의한 추가적인 연구(WO 2008/007074)는 N10 위치(또는 포화된 지방족 유도체를 포함하는 다수의 다른 유기 유도체)에서의 아실 유도체화(acyl derivatisaion) 및 정제(활성탄과 같은 제제로), 및 원래의 메틸렌 블루로의 산화에 의한 변환에 의한 메틸렌 블루의 정제를 기술한다. 상기 문헌은 또한 메틸렌 전구체의 아실화 및 동일한 과정을 통한 정제의 개념을 포함한다.

[0021] 다수의 저자는 유사한 방법으로 금속 및 유기 잔여물 제거가 아주르와 메틸렌 블루 사이의 화학적 차이를 증가시키고, 또한 금속 잔여물의 제거를 용이하게 하기 위한, 메틸렌 블루의 추가적인 유도체화, 포스트 제조(post manufacture)에 의해 달성될 수 있다고 가정하였다. Bue et al 1959(미국 특허번호 제2,909,520호)는 아실화된 루코메틸렌 블루, 상세하게는 벤조일 루코메틸렌 블루의 제조를 위한 방법을 기술한다.

[0022] Gensler et al, 1996은 N-벤조일 루코메틸렌 블루의 메틸렌 블루로의 단순한 산화 재-변환(oxidative re-conversion)을 기술한다. 사실 요구되는 모든 것은 자가 변환을 위한 산소의 존재이다.

[0023] Feraud et al(WO 2008/006979)는 디아미노페노티아지니움 화합물의 N10 위치에서의 N-C 결합을 형성하는 반응에 의해 메틸렌 블루의 큰 유기 유도체(organic derivative)의 형성에 근거하여 아주르 및 금속 수준 둘 모두가 감소되었다고 제기될 수 있는, 메틸렌 및 다른 유사 화합물의 산업적 정제를 위한 방법을 기술한다.

[0024] 메틸렌 블루(또는 그의 관련된 유도체)의 복잡한 다중-단계 유도체화는 결과로 초래된 아민의 특정 유도체 옵션과의 반응이 뒤이은 N의 환원으로 시작한다. 이후에, 그들은 금속을 보유하는 지지체를 통해 유도체화된 유기 물질의 여과를 통한 금속 이온 수준의 감소, 적절한 용매로부터의 재결정화 및 다른 알려진 방법을 포함하는 복잡한 유기 유도체의 정제를 위한 표준 방법 및/또는 컨셉을 기술하기 시작한다. 그들은 이 유도체 중 아주르 수준을 감소시키기 위한 용매 세척 또는 재결정화를 사용한다. 다시, 최종 과정은 퀴논, 질산, 과염소산, 요오드, 염산, 황산, 과산화 수소, 또는 UV 빛, 선호되는 2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논(DDQ)를 사용하는 메틸렌 블루로의 재변환 또는 산화이다.

[0025] 요약하여, 메틸렌 블루 시료 내에 발견되는 금속 및/또는 유기 불순물의 수준은 이러한 역사적 합성 접근법이 고려될 때, 예상치 못하고, 이들 잠재적인 잔여물이 사용에 영향을 미치지 않는 많은 산업적 및 세포적 목적을 위한 용도의 상업적 제품에 대해서 수용가능할 수 있다. 그러나, 약학적 목적을 위해 사용되는 메틸렌 블루 중 이들 불순물의 낮은 수준에 대한 최근의 요구에 대해, 효과적이고, 단순하고, 및 비용 효과적인 정제 과정으로 불순물의 제거를 다루는 것이 필요해지고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0026] 본 발명의 목적은 상기 기술된 단점 또는 문제의 하나 이상을 극복하거나, 개선하는, 또는 적어도 유용한 대안 또는 더 단순한 방법론을 제공하는 정제 방법 및 중간체를 제공하는 것이다.

[0027] 본 발명의 다른 바람직한 목적은 다음의 서술로부터 명백해질 것이다.

과제의 해결 수단

[0028] 본 발명의 제1 측면에 따라, 디아미노페노티아지니움 화합물을 정제하는 방법으로서,

[0029] (i) 디아미노페노티아지니움 화합물을 환원제와 접촉시켜 양성자화된(protonated) 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체를 형성하는 단계;

[0030] (ii) 상기 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체를 정제하는 단계; 및

[0031] (iii) 상기 정제된 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체를 산화제와 접촉시켜 디아미노페노티아지니움 화합물로 다시 전환하는 단계를 포함하고, 그에 의해 디아미노페노티아지니움 화합물을 정제하는 방법을 제공한다.

[0032] 디아미노페노티아지니움 화합물은 메틸렌 블루, 아주르 A, 아주르 B 및 아주르 C로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0033] 일 구체예에 있어서, 상기 환원제와의 접촉은 디아미노페노티아지니움 화합물로 뒤이어 정제되고 다시 산화되는 N-10 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체(protonated stabilised diaminophenothiazinium complex)를 형성할 수 있다.

[0034] 제1 측면의 바람직한 일 구체예에 있어서, 메틸렌 블루를 정제하는 방법으로서,

[0035] (i) 메틸렌 블루를 환원제와 접촉시켜 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루(leuco methylene blue) 복합체를 형성하는 단계;

[0036] (ii) 상기 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 정제하는 단계; 및

[0037] (iii) 상기 정제된 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 산화제와 접촉시켜 메틸렌 블루를 형성하는 단계를 포함하고, 그에 의해 메틸렌 블루를 정제하는 방법을 제공한다.

[0038] 제1 측면에 따른 환원제, 및 그의 바람직한 구체예는 무금속(metal-free) 환원제이다.

[0039] 일 구체예에 있어서, 제1 측면의 환원제 및 그의 바람직한 구체예는 아스코르브산, 디티온산나트륨(sodium dithionite), 수소, 포름산, 옥살산, 디티오트레이톨, 나트륨 아말감, 수소화붕소나트륨(sodium borohydride), 히드라진, 아인산염(phosphite), 차아인산염(hypophosphite) 및 아인산으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0040] 적합하게는, 제1 측면의 환원제, 및 그의 바람직한 구체예는 아스코르브산이다. 바람직하게는 이것은 L-아스코르브산이다.

[0041] 바람직하게는, 디아미노페노티아지니움 화합물 또는 메틸렌 블루는 산성 pH에서 환원제와 접촉된다. 더욱 바람직하게는 디아미노페노티아지니움 화합물 또는 메틸렌 블루는 pH 3 미만에서 환원제와 접촉된다. 더더욱 바람직하게는, 디아미노페노티아지니움 화합물 또는 메틸렌 블루는 pH 1 미만에서 환원제와 접촉된다.

[0042] 바람직하게는, 환원제는 1염기(monoprotic) 또는 2염기(diprotic)의 무기산(mineral acid)로부터 선택된 산으로 산성으로 만들어진 용액 중에 있다.

[0043] 적합하게는, 상기 산은 염산, 황산, 질산, 인산, 붕산, 불화 수소산, 브롬화 수소산, 및 과염소산으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0044] 일 구체예에 있어서, 상기 무기산은 염산 또는 황산이다.

[0045] 적합하게는, 상기 무기산은 염산이다.

[0046] 바람직하게는, 제1 측면의 상기 환원제와의 접촉 및 그의 바람직한 구체예는 유기 용매(organic solvent) 중 발생한다. 적합하게는, 상기 유기 용매는 C1 내지 C8 알코올 또는 C1 내지 C4 알코올이다. 바람직하게는, 상기 알코올은 메탄올 또는 에탄올이다.

[0047] 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체 (일 구체예에 있어서, N-10 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체일 수 있는) 또는 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체의 정제는 바람직하게는 재결정화(recrystallisation)에 의한 것이다.

[0048] 일 구체예에 있어서, 상기 재결정화는 물, 알코올 및 에테르로 이루어진 군으로부터 선택된 용매로부터이다.

[0049] 상기 재결정화 용매 중 적어도 하나가 알코올인 경우, 메탄올, 에탄올, n-프로판올, 및 이소-프로판올을 포함하는 C1 내지 C10 알코올로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0050] 상기 재결정화 용매 중 적어도 하나가 에테르인 경우, 테트라히드로퓨란 또는 디에틸 에테르일 수 있다.

[0051] 적합하게는, 제1 측면의 산화제, 및 그의 바람직한 구체예는 무금속 산화제이다.

[0052] 제1 측면의 바람직한 산화제, 및 그의 바람직한 구체예는 산소, 오존, 염소, 불소, 브롬, 요오드, 과산화수소, 질산 및 질산염 화합물, 인산, 과산화이황산(peroxydisulphuric acid), 과산화일황산(peroxymonosulphuric acid), 황산 및 설퍼산(sulphurous acid), 아염소산염(chlorite), 염소산염, 과염소산염, 및 다른 유사한 할로겐-함유 화합물, 차아염소산염, 및 다른 하이포할라이트(hypohalite) 화합물, 과망간산염, 아산화질소, 및 퀴논(quinones)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.

[0053] 일 구체예에 있어서, 제1 측면의 산화제, 및 그의 바람직한 구체예는 산소 및 퀴논으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0054] 바람직하게는, 제1 측면의 산화제, 및 그의 바람직한 구체예는 2, 3-디클로로-5, 6-디시아노-1, 4-벤조퀴논(DDQ) 또는 더욱 바람직하게는, *p*-벤조퀴논(benzoquinone)이다.

[0055] 상기 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 염 또는 다른 이온 복합체일 수 있다.

[0056] 일 구체예에 있어서, 상기 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체이다.

[0057] 본 발명의 제2 측면에 따라, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체(protonated stabilised diaminophenothiazinium:ascorbate complex)가 제공된다.

[0058] 제2 측면의 일 구체예에 있어서, 상기 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체는 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체이다.

[0059] 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체는 N-10 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체이다.

[0060] 본 발명의 제3 측면은 디아미노페노티아지니움 화합물을 아스코르브산과 접촉시켜 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체를 형성하는 방법에 의해 생산된 때의 제2 측면의 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체에 존재한다.

[0061] 제3 측면의 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체는 N-10 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체이다.

[0062] 제3 측면의 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체는 메틸렌 블루를 아스코르브산과 접촉시켜 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체를 형성하는 방법에 의해 생산된 때의 제2 측면의 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체이다.

[0063] 제3 측면의 방법을 위한 다양한 조건은 제1 측면에 대해 기술된 바와 같을 수 있다.

[0064] 본 발명의 제4 측면에 따라, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체의 디아미노페노티아지니움 화합물의 정제를 위한 용도가 제공된다.

[0065] 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체는 N-10 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체이다.

[0066] 제4 측면의 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체는 메틸렌 블루의 정제에 사용되는 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체이다.

[0067] 일 구체예에 있어서, 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루염이다.

[0068] 일 구체예에 있어서, 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 제2 측면의 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체이다.

[0069] 상기 부분에서 개별적으로 언급된, 본 발명의 다양한 특징 및 구체예는, 적절하게, 필요한 부분만 약간 수정하여(mutatis mutandis), 다른 부분에 적용된다. 결과적으로, 하나의 부분에서 서술된 특징은 다른 부분에서 서술된 특징과 적절하게 조합될 수 있다.

[0070] 본 발명의 추가적인 특징 및 이점은 다음의 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다.

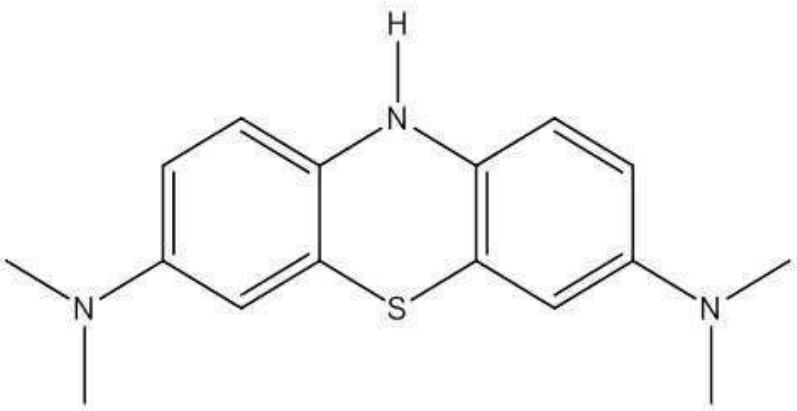
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0071] 본 발명은, 포스트-합성 또는 상업적으로 입수 가능한 시료를 환원하여, 메틸렌 블루로 다시 산화되게 하기 전에, 예를 들면, 재결정화에 의해 정제될 수 있는, 염 또는 다른 이온 복합체일 수 있는 환원된 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 형성하는 것에 의해 메틸렌 블루가 단순하고 효과적으로 정제될 수 있다는 놀라운 발견에 적어도 부분적으로 입각한다. 아주르 타입 불순물 및 금속 오염물 둘 모두를 제거하기 위한 정제 방법으로서, 메틸렌 블루 그 자체의 재결정화는 약학적 등급의 물질에 가깝게 달성하는데 그 자체로는 비효과적이

라는 것이 증명되었고, 그러므로, 여전히 남아있는 아주르와의 가까운 구조적 유사성에도, 환원된 루코메틸렌 블루 형태의 재결정화가 아주르 및 금속 오염물로부터 이 루코메틸렌 블루의 분리를 위한 효과적인 수단이라는 것은 특별히 놀랍다. 이후에 단순한 산화 단계가 고도로 정제된 형태로, 메틸렌 블루를 제공한다.

[0072] 다르게 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속한 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되어질 수 있는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0073] 본 명세서에서 사용된, 용어 "루코메틸렌 블루(leucomethylene blue)"(또한, 여기서 'LMB'로 언급됨)는 하기의 구조로 나타낸, 화학식 $C_{16}H_{19}N_3S$, CAS number 613-11-6을 갖는, N,N,N',N'-테트라메틸-10H-페노티아진-3,7-디아민을 또한 의미할 수 있는, 잘 알려진 메틸렌 블루의 N-10 양성자화된 환원된 형태를 의미한다.



[0074]

[0075] 본 명세서에서 사용된 용어 "복합체(complex)", "복합체들(complexes)", 및 "복합된(complexed)"는 이온 또는 전기적으로 중성인 분자와 화학적으로 연관된 루코메틸렌 블루를 일반적으로 의미한다. 복합체는 염일 수 있다. 특정 이론에 구속됨이 없이, 바람직한 구체예에 있어서, 복합체는 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체로 언급될 수 있는, 아스코르브산과 관련된 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루로 여겨진다. 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체의 성질은 염 형성에 영향을 줄 수 있는 pH 및 이온 강도(ionic strength)를 포함하는, 환원 단계에서 사용되는 공정 조건에 의해 영향을 받을 수 있다.

[0076] 본 명세서에서 사용된 용어 "재결정화(recrystallisation)" 및 "재결정화하는 것(recrystallising)" 및 "결정화(crystallisation)" 및 "결정화하는 것(crystallising)"은 호환적으로 사용되고, 본 발명의 방법의 환원 단계 동안 형성된 물질, 예를 들면, 메틸렌 블루, 또는 특히, 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체의 용해 및, 뒤이은 용액으로부터의 재결정화 과정을 의미한다.

[0077] 용어 "디아미노페노티아지니움 화합물(diaminophenothiazinium compound)" 및 디아미노페노티아지니움 화합물의 바람직한 구체예인, "메틸렌 블루(methylene blue)"는 정제 방법의 요소를 기술할 때, 본 명세서에서 호환적으로 사용될 수 있다.

[0078] 본 발명의 제1 측면에 따라, 디아미노페노티아지니움 화합물을 정제하는 방법으로서,

[0079] (i) 디아미노페노티아지니움 화합물을 환원제와 접촉시켜 양성자화된(protonated) 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체를 형성하는 단계;

[0080] (ii) 상기 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체를 정제하는 단계; 및

[0081] (iii) 상기 정제된 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체를 산화제와 접촉시켜 디아미노페노티아지니움 화합물로 다시 전환하는 단계를 포함하고, 그에 의해 디아미노페노티아지니움 화합물을 정제하는 방법을 제공한다.

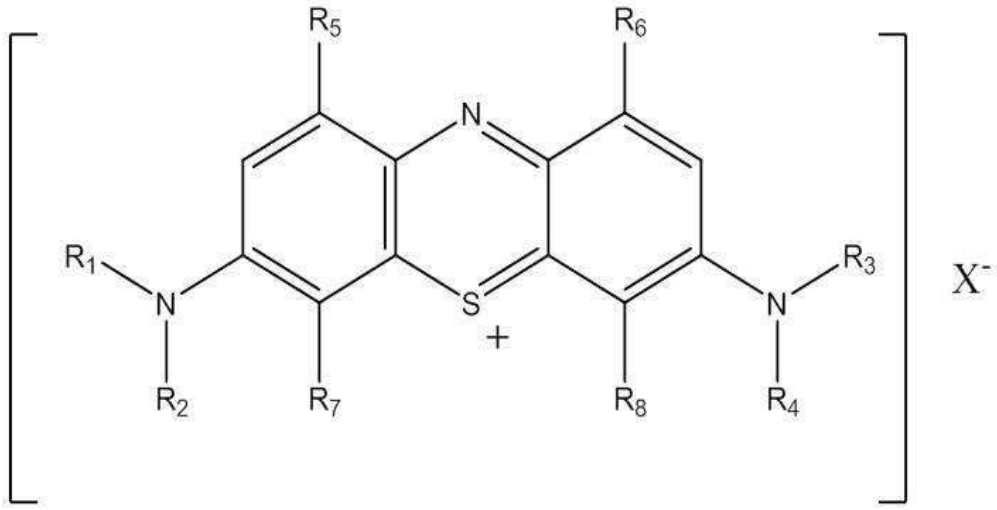
[0082] 디아미노페노티아지니움 화합물은 메틸렌 블루, 아주르 A, 아주르 B 및 아주르 C로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0083] 일 구체예에 있어서, 상기 환원제와의 접촉은 디아미노페노티아지니움 화합물로 뒤이어 정제되고 다시 산화되는 N-10 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체를 형성할 수 있다. 이것은 상기 화합물이 메틸렌 블루일 때의 경우이고, 환원제와의 접촉 후의 N-10 질소의 양성자화를 허용하는 치환기를 갖는 대부분의 디아미노페노티아지니움 화합물을 위한 경우일 수 있다.

[0084] 정제되고, 및 최종 바람직한 화합물인 디아미노페노티아지니움 화합물이 다를 수 있다는 것이 인식될 것이다. 예를 들면, 아주르 B와 같은 디아미노페노티아지니움 화합물을 정제하는 것이 바람직할 수 있고, 정제가 완료되어 이것을 메틸화에 의해 메틸렌 블루로 변환된다. 그러므로, 제1 측면은 단계 (iii)에 뒤이은, 또는 단계 (i)과 (ii) 사이, 또는 단계 (ii)와 (iii)의 상이한 디아미노페노티아지니움 화합물 사이의 상호변환을 명백하게 고려한다.

[0085] 그러므로, 일 구체예에 있어서, 상기 방법은 디아미노페노티아지니움 화합물을 제2, 관련된 디아미노페노티아지니움 화합물로 변환하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0086] 일 구체예에 있어서, 제1 측면의 디아미노페노티아지니움 화합물은 하기, 화학식 V의 화합물이다:

[0087] 

[0088] 화학식 V

[0089] 식 중 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 독립적으로 수소, C_1-C_6 알킬 및 C_1-C_6 알케닐로부터 선택되고, 상기 각 알킬 또는 알케닐기는 수산화기, 할로, 또는 알콕시로 치환될 수 있고;

[0090] R_5, R_6, R_7 및 R_8 는 독립적으로 수소, 질소, 할로, 할로알킬, C_1-C_6 알킬 및 C_1-C_6 알케닐로부터 선택되고; 및

[0091] X는 음이온성 반대 이온(anionic counterion)이다.

[0092] 일 구체예에 있어서, 상기 알킬 또는 알케닐기가 치환된 경우, 상기 알킬 또는 알케닐기는 클로로, 플로로, 브로모, 또는 아이오도로 치환된다.

[0093] 바람직하게는, R_1, R_2, R_3 및 R_4는 독립적으로 메틸, 에틸, 프로필(n-프로필 및 이소프로필 포함), 부틸(n-부틸, 이소부틸, sec-부틸 및 tert-부틸 포함), 펜틸, 이소-아밀 및 헥실로부터 선택된다.

[0094] 바람직하게는, R_5, R_6, R_7 및 R_8 는 독립적으로 수소, 니트로, 할로알킬 및 C_1-C_4 알킬로부터 선택된다.

[0095] 바람직하게는 X는 할로겐화물 음이온(halide anion), 또는 무기산, 예를 들면, 황산, 질산, 염산, 및 인산의 짝염기(conjugate base)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0096] 화학식 V에 의해 포함된 구조는 다수의 관련된 공명 구조 및 토토머 형태(tautomeric form) 표시에 의해 나타내질 수 있다는 것이 인식되고, 기술분야의 통상의 당업자에 의해 이해될 것이다. 예를 들면, 이중 결합은 황(sulphur)의 옆에 존재하지 않고, 대신에 질소 중 하나의 고리에의 연결로 표시될 수 있다. 이 경우에 있어서, 양 전하는 황에 있지 않고, 이중으로 결합된 질소 원자에 나타날 것이다. 모든 이러한 공명 및 토토머 구조는 화학식 V의 화합물에 의해 포함되는 것으로 명백하게 간주된다.

[0097] 제1 측면의 바람직한 일 구체예에 있어서, 메틸렌 블루를 정제하는 방법으로서,

[0098] (i) 메틸렌 블루를 환원제와 접촉시켜 안정화된 양성자화된 루코 메틸렌 블루(leucomethylene blue) 복합체를 형성하는 단계;

[0099] (ii) 상기 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 정제하는 단계; 및

[0100] (iii) 상기 정제된 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 산화제와 접촉시켜 메틸렌 블루를 형성하는 단계를 포함하고, 그에 의해 메틸렌 블루를 정제하는 방법을 제공한다.

[0101] 제1 측면에 따른 환원제, 및 그의 바람직한 구체예는 무금속 환원제이다.

[0102] 메틸렌 블루를 LMB로 환원시키기에 충분한 환원력을 갖는 것으로 기술 분야에 알려진 환원제가 적합할 수 있다.

[0103] 일 구체예에 있어서, 제1 측면의 환원제 및 그의 바람직한 구체예는 아스코르브산, 디티온산나트륨, 수소, 포름산, 옥살산, 디티오트레이톨, 나트륨 아말감, 수소화붕소나트륨, 히드라진, 아인산염, 차아인산염 및 아인산으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 적합하게는, 상기 아스코르브산은 L-아스코르브산이다.

[0104] 환원제는 아스코르브산인 것이 매우 바람직하고, 가장 바람직하게는 L-아스코르브산인데, 이는 L-아스코르브산을 사용한 메틸렌 블루의 환원은 특히 안정하고, 및 단순한 재결정화 수단에 의한 정제를 가능하게 하는 양성자화된 LMB:아스코르브산염 복합체를 형성하는 것으로 가정되었기 때문이다.

[0105] 바람직하게는, 디아미노페노티아지니움 화합물은 산성 pH에서 환원제와 접촉된다. 더욱 바람직하게는 디아미노페노티아지니움 화합물은 pH 3 미만에서 환원제와 접촉된다. 더더욱 바람직하게는, 디아미노페노티아지니움 화합물은 pH 1 미만에서 환원제와 접촉된다.

[0106] 환원된 디아미노페노티아지니움 복합체는 염일 수 있다. 환원제가 아스코르브산이고, 디아미노페노티아지니움 화합물이 메틸렌 블루일 때, 환원된 디아미노페노티아지니움 화합물은 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체이다. 환원된 디아미노페노티아지니움 화합물의 정제는 기술 분야에 알려진 다수의 기법, 예를 들면, 실리카 또는 변형된 실리가의 컬럼을 통한, 또는 HPLC를 사용한, 예를 들면, 크로마토그래피, 이온-교환 기법, 여과, 세척, 재결정화 및 다른 것들에 의해 달성될 수 있다. 그러나, 매우 바람직한 구체예에 있어서, 환원된 디아미노페노디아지니움 복합체의 정제는 재결정화에 의한다.

[0107] 여과는 특히 금속 이온을 제거하기 위해, 재결정화 이외에 사용될 수 있고, 금속 결합 필터, 예를 들면, 실리카 겔, 활성탄, 중성, 염기성, 또는 산성 알루미나 겔, 마이크로 다공성 막, 금속-포획 작용기가 그래프트된 레진(resin) 및 금속-포획 작용기가 그래프트된 섬유(fiber)를 포함하는 여과 지지체(filtration support)를 통한 여과에 의해 영향을 받을 수 있다. 금속 이온은 또한 알려진 금속 결합 흡착제(absorbent), 예를 들면, 실리카, 또는 규조토, 또는 금속의 결합 또는 제거의 목적을 위해 제작된 다른 상업적인 기질을 통한 또는, 이에 대한 통과에 의해 제거될 수 있다.

[0108] 일 구체예에 있어서, 재결정화는 물, 알코올, 및 에테르로 이루어진 군으로부터 선택된 용매로부터 유래한다. LMB 복합체의 재결정화를 위해, 모든 3개의 용매 클래스가 다양한 정도로 사용되는 것이 바람직할 수 있다. 일 구체예에 있어서, 모든 3개의 용매 클래스가 재결정화에 적용될 때, 이들은 부피 기준으로, 1:2-4:6-10, 바람직하게는 약 1:3:8의 비율의 물:알코올:에테르로 사용될 수 있다.

[0109] 상기 재결정화 용매 중 적어도 하나가 알코올인 경우, 메탄올, 에탄올, n-프로판올, 및 이소-프로판올을 포함하는 C_1 내지 C_{10} 알코올, 또는 C_1 내지 C_4 알코올로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0110] 상기 재결정화 용매 중 적어도 하나가 에테르인 경우, 테트라히드로퓨란 또는 디에틸 에테르일 수 있다.

[0111] 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 염 또는 다른 이온 복합체일 수 있다.

[0112] 일 구체예에 잇어서, 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체일 수 있다.

[0113] 바람직하게는, 디아미노페노디아지니움 화합물 또는 메틸렌 블루는 산성 pH에서 환원제와 접촉된다. 산성 조건은 유용한 속도로 진행하기 위해, 및 메틸렌 블루의 LMB로의 최적의 변환을 생산하기 위해 환원 반응에 대하여 요구된다. 더욱 바람직하게는, 메틸렌 블루는 pH3 미만에서 환원제와 접촉된다. 더더욱 바람직하게는, 메틸렌 블루는 pH1 미만에서 환원제와 접촉된다.

[0114] 산성 조건은 다양한 종류의 산, 예를 들면, 비-간섭 유기산(non-interfering organic acid) 또는 무기산 중 하나의 첨가에 의해 달성될 수 있다. 바람직하게는, 환원 용액(reduction solution)은 1염기 또는 2염기의 무기산, 예를 들면, 염산, 황산, 질산, 인산, 붕산, 불화 수소산, 브롬화 수소산, 및 과염소산으로부터 선택된 산으로 산성으로 만들어진다. 더욱 바람직하게는, 무기산은 염산, 또는 황산이다. 가장 바람직하게는, 무기산은

염산이다.

[0115] 정제된 LMB 복합체를 다시 메틸렌 블루로 변환하는데 사용되는 산화제는 특별히 제한되지 않고, 다양한 알려진, 및 상업적으로 입수 가능한 산화제가 사용에 적합할 수 있다. 사실, 환원제가 제거되고 나면, LMB 복합체는 공기와의 접촉에 의해 경시적으로(on standing) 메틸렌 블루로 다시 산화될 것이다.

[0116] 적합하게는, 산화제는 무금속 산화제이다.

[0117] 바람직한 산화제는 산소, 오존, 염소, 불소, 브롬, 요오드, 과산화수소, 질산 및 질산염 화합물, 인산, 과산화이황산, 과산화일황산(peroxymonosulphuric acid), 황산 및 설퍼산, 아염소산염, 염소산염, 과염소산염, 및 다른 유사한 할로겐-함유 화합물, 차아염소산염, 및 다른 하이포할라이트(hypohalite) 화합물, 과망간산염, 아산화질소, 및 퀴논으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.

[0118] 일 구체예에 있어서 산화제는 산소 및 퀴논으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0119] 바람직하게는, 산화제는 2, 3-디클로로-5, 6-디시아노-1, 4-벤조퀴논 (DDQ) 또는 더욱 바람직하게는, *p*-벤조퀴논이다.

[0120] 재결정화 단계 이외에, 다른 정제 방법이 환원된 안정화된 양성자화된 LMB 복합체를 더 정제하는데 사용될 수 있다. 여과는, 특히 금속 이온을 제거하기 위해 사용될 수 있고, 금속 결합 필터, 예를 들면, 실리카 겔, 활성탄, 중성, 염기성, 또는 산성 알루미나 겔, 마이크로 다공성 막, 금속-포획 작용기가 그래프트된 레진 및 금속-포획 작용기가 그래프트된 섬유를 포함하는 여과 지지체를 통한 여과에 의해 영향을 받을 수 있다. 금속 이온은 또한 알려진 금속 결합 흡착제(absorbent), 예를 들면, 실리카, 또는 규조토, 또는 금속의 결합 또는 제거의 목적을 위해 제작된 다른 상업적인 기질을 통한 또는, 이에 대한 통과에 의해 제거될 수 있다.

[0121] 바람직하게는, 본 발명의 정제 방법에 있어서, 하나 이상의 단계는 제어된 및 단계별(stepped) 온도 조건 하에서 수행될 수 있다. 반응은 또한 바람직하게는 불활성 대기(inert atmosphere) 하에서 수행될 수 있다. 방법에서 사용되는 용매, 산 및 신약은 바람직하게는 가스가 제거되고, 매우 낮은 수준의 금속 이온만을 함유하는 초순수(ultra pure)한 것이다. 모든 이들 조치는 환원된 안정화된 양성자화된 LMB 복합체를 포함하는 중간체, 및 최종 메틸렌 블루의 산물, 및 반응 단계의 산물을 안정화하는데 도움을 줄 수 있다. 특히, 전체 반응의 기간 동안 15 내지 30 ℃, 더욱 바람직하게는 20 내지 25 ℃의 제어된 온도 조건 하에서 환원된 안정화된 양성자화된 LMB 복합체를 형성하는 것이 유리하다. 반응의 액체 부피는 35 내지 45 ℃, 바람직하게는 약 40 ℃에서 진공 증류(vacuum distillation)하에서 나중에 감소된다.

[0122] 또한, 환원된 안정화된 양성자화된 LMB 복합체의 정제 및 건조는 바람직하게는 질소 대기 및 15 내지 30 ℃, 바람직하게는 20 내지 25 ℃의 제어된 온도 조건 하에서 발생한다. 또한, 메틸렌 블루로 다시 전환하기 위한 안정화된 양성자화된 LMB 복합체의 산화는 바람직하게는 초기에는 5 내지 20 ℃, 바람직하게는 10 내지 15 ℃, 및 나중에 15 내지 30 ℃, 바람직하게는 20 내지 25 ℃ 사이의 단계별 온도 조건 하에서, 및 질소 대기 하에서 수행된다.

[0123] 그렇게 형성된 메틸렌 블루의 재결정화에 의한 최종 정제는 선택적으로 수행될 수 있고, 만약 적용된다면, 30 내지 50 ℃, 바람직하게는 40 내지 45 ℃로의 냉각이 뒤이은, 55 내지 60 ℃로의 온도의 감소가 뒤이은, 초기 50 내지 75 ℃, 바람직하게는 60 내지 65 ℃, 및 최종 0 내지 5 ℃로의 냉 조건의 제어된 계획된(staged) 온도 조건 하에서 수행될 수 있다. 다양한 공정 단계에 대해 상기 기술된 제안 내에서의 온도의 제어는 다양한 불순물의 형성을 감소시키고, 예를 들면, 디메틸화의 가능성을 감소시키고, 또한 수율을 최적화한다.

[0124] 일 구체예에 있어서, 메틸렌 블루 시작 물질은 환원 전에 정제 단계를 처음 통과한다. 이것은 상업적으로 입수 가능한 시작 물질의 순도에 의존하여 바람직할 수 있다. 산성 용액으로부터의 재결정화가 적합할 수 있다.

[0125] 그러므로, 제1 측면의 일 구체예에 있어서, 메틸렌 블루를 정제하는 방법으로서,

[0126] (i) 산성 용액으로부터 메틸렌 블루를 재결정화하는 단계;

[0127] (ii) 상기 재결정화된 메틸렌 블루를 환원제와 접촉시켜 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 형성하는 단계;

[0128] (iii) 상기 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 재결정화에 의해 정제하는 단계; 및

[0129] (iv) 상기 정제된 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 산화제와 접촉시켜 정제된 메틸렌 블루를 형

성하는 단계; 및

[0130] (v) 상기 정제된 메틸렌 블루를 산성 용액으로부터 재결정화하는 단계를 포함하고, 그에 의해 메틸렌 블루를 정제하는 방법을 제공한다.

[0131] 이 구체예를 위한 다양한 구성 요소 및 조건은 제1 측면에 대하여 필요한 부분만 약간 수정하여(mutatis mutandis), 앞서서 기술된 바와 같다.

[0132] 바람직하게는, 본 발명의 정제 방법에 있어서, 하나 이상의 단계는 불활성 대기, 예를 들면 질소 중 수행될 수 있다. 이것은 중간체, 특히 환원된 안정화된 양성자화된 LMB 복합체, 및 반응 단계의 산물을 안정화하는데 도움을 줄 수 있다.

[0133] 메틸렌 블루, 아주르 A, B, 및 C(및 금속과 같은 다른 오염물)의 시작 혼합물에 있어서, 본 발명의 방법 중 메틸렌 블루의 안정화된 양성자화된 LMB 복합체로의 환원은, 안정화된 양성자화된 LMB 복합체와 아주르 사이의 화학적 특성의 차이가 일부 방식으로 확대됨에 따라, 환원된 형태로, 아주르로부터 단순화된 분리를 가능하게 한다. 안정화된 양성자화된 LMB 복합체의 정제는 금속 오염물의 단순화된 제거를 가능하게 한다.

[0134] 기술된 방법은 존재하는 금속 이온을 유의적으로 감소시키나, 시작 물질이 금속 오염물을 많이 갖는 경우, 안정화된 양성자화된 LMB 복합체는 많은 알려진 방법에 의해 메탈 금속물의 청소가 더 이루어질 수 있고, 정제된 및 농축된 복합체는 용이하게 메틸렌 블루로 다시 변환될 수 있다.

[0135] 알려진 방법에 대하여 본 발명의 방법의 이점 중 하나는, 부가적인 합성 및 탈보호 단계에 의해 종종 잔여 오염물이 첨가되는 메틸렌 블루의 복잡한 유기 유도체의 제조에 대한 필요가 없이 정제를 가능하게 하는, 주요 정제 단계가 뒤이어 수행되는, 안정화된 양성자화된 LMB복합체의 합성에 따른 단순함이다.

[0136] 본 발명의 방법은 실질적으로 요구되는 만큼 금속 및 유기 오염물을 감소시키는, 어느 제조사의 "가공되지 않은(raw)" 물질, 예를 들면, 메틸렌 블루에 적용될 수 있는 확실하고 일관된 방법이고, 산업적 규모로 적용될 수 있는 경제적으로 실행가능한 방법으로 고도의 화학적 순도를 제공한다. 대부분의 금속의 환원은 본 발명의 방법을 사용하여 3배 더 크고, 최종 메틸렌 블루 산물은 3% 미만의 아주르 B를 함유하고, 바람직한 구체예에 있어서, 최종 산물 중 2.5 중량% 미만의 아주르 B를 제공한다. 부가적인 재결정화 단계의 도입은 아주르의 수준을 2% 미만으로 감소시킬 수 있다.

[0137] 재결정화 및 세척 단계의 반복은 오염물의 더 낮은 수준을 유도할 수 있고, 특정 금속 흡착제 기술의 도입도 방법 내에서 부가적인 단계로 가능하다. 매우 유사하게는, 이 단계에서 사용되는 물의 양의 증가는 또한 실질적으로 아주르 수준을 감소시킬 수 있다.

[0138] 본 발명의 방법에 대하여, 실용적인 장치가 사용될 수 있다. 바람직하게는 비-금속 용기 및 장치, 예를 들면, 유리 또는 세라믹 또는 플라스틱 라인 장치가 부가적인 금속 오염물이 도입되지 않도록 하기 위해 사용될 수 있다.

[0139] 안정화된 양성자화된 LMB 복합체의 산화 후의 결과 정제된 메틸렌 블루 산물은 여과, 재결정화 또는 상기 논의된 다른 방법에 의해 더 정제될 수 있다. 본 발명의 일 구체예에 있어서, (i) 약 2-5 수화수(water of hydration); (ii) 약 2%까지의 물 중 가용성; 및 (iii) 유럽 약전 5.0에서 서술된 수준 보다 낮은 금속 수준을 포함하는 메틸렌 블루 산물이 제공된다. 메틸린 블루 산물은 약 5-25% 수분 함량을 더 포함할 수 있다.

[0140] 본 발명의 제2 측면에 따라, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체가 제공된다.

[0141] 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체는 N-10 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체이다.

[0142] 제2 측면의 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체는 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체이다.

[0143] 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체는 본 명세서에서 기술된 정제의 방법에의 사용을 위해 특히 유리한 특성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체는 상당한 안정성을 나타내고, 아주르와 놀랍도록 좋은 구별성을 가져, 단일의 단순한 재결정화 단계로 상당한 정제를 가능하게 하는 안정화된 양성자화된 LMB 복합체의 형태를 나타냄이 밝혀졌다. 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체는 또한 시료 내에서 추가적인 불순물에 대한 기여 없이 뒤이어 용이하게 제거되는 시료 시약만을 사용하여 메틸렌 블루로 형성되고, 다시 변환된다.

[0144] 본 발명의 제3 측면은 디아미노페노티아지니움 화합물을 아스코르브산과 접촉시켜 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체를 형성하는 방법에 의해 생산된 때의 제2 측면의 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체에 존재한다.

[0145] 제3 측면의 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체는 N-10 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체이다.

[0146] 제3 측면의 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움:아스코르브산염 복합체는 메틸렌 블루를 아스코르브산과 접촉시켜 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체를 형성하는 방법에 의해 생산된 때의 제2 측면의 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체이다.

[0147] 제3 측면의 방법을 위한 다양한 조건은 제1 측면에 대해 기술된 바와 같을 수 있다.

[0148] 본 발명의 제4 측면에 따라, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체의 디아미노페노티아지니움 화합물의 정제를 위한 용도가 제공된다.

[0149] 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체는 N-10 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체이다.

[0150] 제4 측면의 일 구체예에 있어서, 양성자화된 안정화된 디아미노페노티아지니움 복합체는 메틸렌 블루의 정제에 사용되는 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체이다.

[0151] 일 구체예에 있어서, 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루염이다.

[0152] 일 구체예에 있어서, 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체는 제2 측면의 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루:아스코르브산염 복합체이다.

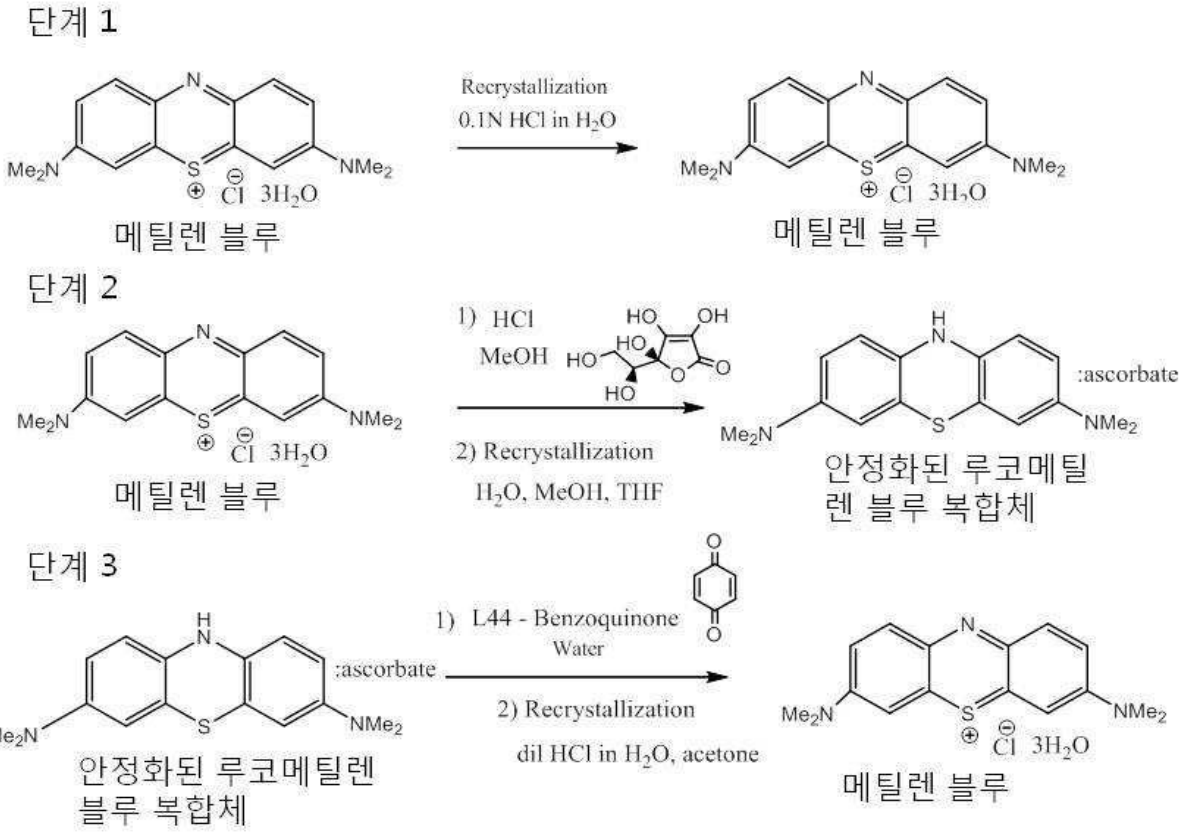
[0153] 본 명세서에서 예시화된 구체예는 메틸렌 블루의 정제에 관한 것일 지라도, 본 발명의 광범위한 형태에 대하여 기술된 바와 같이, 기술된 본 발명의 개념은 다른 디아미노페노티아지니움 화합물로 확정될 수 있다는 것이 인식될 것이다.

[0154] 다음의 실시예는 본 발명의 설명의 방법으로서 제공되는 것이고, 본 발명의 범위의 한정를 한정하는 것이 아니다.

[0155] 실험

[0156] 본 실시예에 있어서, 상업적으로 입수 가능한 메틸렌 블루는 다음의 단계와 일치하게 정제되었다:

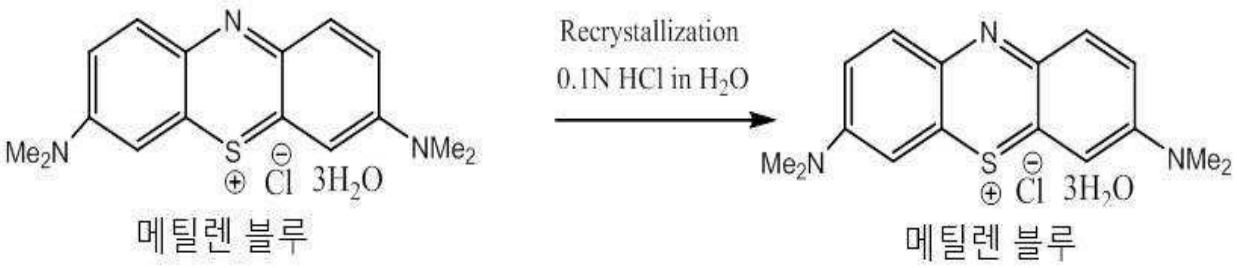
[0157] **전반적인 제조 과정 계획**



[0158]

[0159] **단계 1: 상업적으로 입수 가능한 메틸렌 블루 시작 물질의 재결정화**

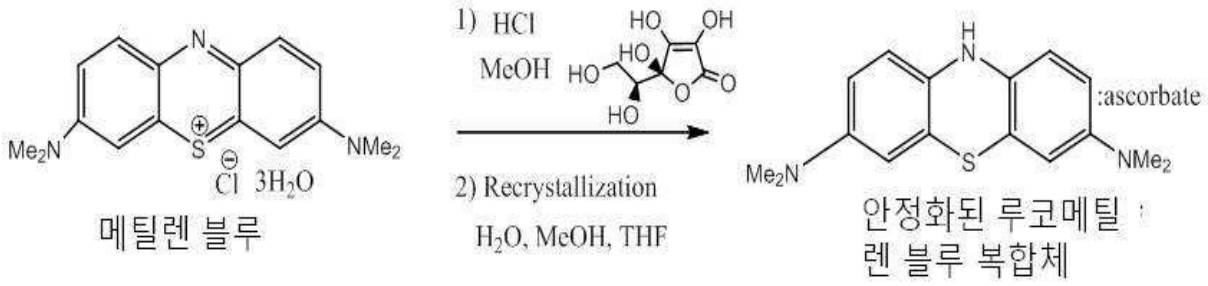
[0160] 이 초기 재결정화 단계는 선택적이고, 그것의 용도는 상업적으로 입수 가능한 시작 물질의 순도 수준에 의존할 수 있다는 것이 이해될 것이다. 그의 용도는 시작 물질이 불순물의 유의적 수준을 함유하고 있을 때 최적의 결과를 제공한다.



[0161]

[0162] 유리 라인, 폐쇄된 및 장착된 반응기에 메틸렌 블루(5.5 kg, 1.0 eq.) 및 멸균된 정제 물(54 kg)을 채워 넣었다. 이후에, 0.6 kg의 31% HCl 용액을 채워 넣었다. 배치를 60 내지 65 ℃의 온도조 조절하였고, 용해(dissolution)될 때까지 교반하였다. 다음으로, 배치를 최소 9시간 동안 0 내지 5 ℃로 냉각하였다. 현탁액을 0 내지 5 ℃에서 여과하였고, 여과케이크(filtercake)를 3.8 kg의 차가운 물(0 내지 5 ℃)로 세척하고, 7.3 kg의 차가운 아세톤(0 내지 5 ℃)으로 씻어 내었다. 여과케이크를 질소의 흐름하에서 건조하여 5.16 kg의 산물을 생산하였다.

[0163] **단계 2: 메틸렌 블루의 루코메틸렌 블루로의 환원을 위한 방법**

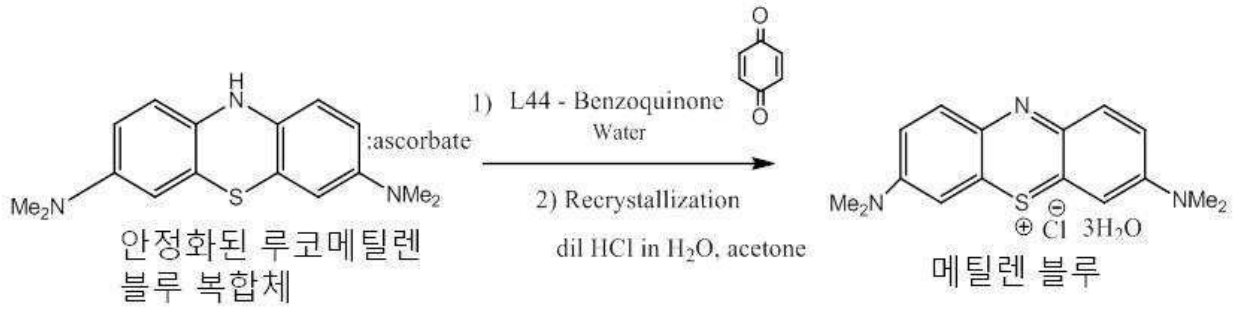


[0164]

[0165] 50 L 유리-라인 반응기에 단계 1로부터의 2.8 kg의 정제된 메틸렌 블루, 1.3 kg의 L-아스코르브산 및 32.7 kg의 메탄올을 채워 넣었다. 1 kg의 31% 염산을 교반과 함께 N_2 하에서 배치에 채워 넣었다. 완전한 이동(transfer)을 위해 채워진 장치에 대하여 0.5 kg의 메탄올의 세척을 수행하였다. 배치를 최소 15분 동안 20 내지 25 ℃에서 교반하였다. pH를 확인하였고(1 미만), 배치를 최소 18시간 동안 교반하였다. IPC 시료를 취하였고, 배치 중 안정화된 양성자화된 메틸렌 블루 복합체에 대하여 잔여 메틸렌 블루는 2% 미만이었다. 이후에, NMT 40 ℃의 외부 온도를 적용하면서, 배치를 시작 메틸렌 블루에 대하여 5.0 내지 5.5 부(part) (14 내지 15 L)로 진공하에서 증류하였다. 교반과 함께, 2.2 kg의 물을 첨가하였고, 이후에 배치의 온도를 20 내지 25 ℃로 조절하였다. 배치의 온도를 20 내지 25 ℃로 유지하면서, 19.5 kg의 THF를 교반과 함께 1.5 시간 동안 첨가하였다. 배치(현탁액)를 최소 16시간 동안 20 내지 25 ℃에서 교반하였다. 현탁액을 일정한 질소의 흐름 하에서 여과하였다. 0.4 kg의 메탄올 및 4.4 kg의 THF의 혼합물(10% MeOH/THF)을 여과케이크 세척을 위해 사용하였고, 2.5 kg의 THF로의 씻어냈다. 케이크를 질소의 흐름 하에서 건조하여 1.805 kg의 정제되지 않은(crude) 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 생산하였다. 제2 루프(loop)를 유사한 규모로 수행하였고, 제1 및 제2 루프로부터의 산물을 재결정화 단계에 사용하였다.

[0166] 50 L 유리 반응기에 3.3 kg의 정제되지 않은 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체, 및 3.7 kg의 가스가 제거된 SP 물을 채워 넣었고, 혼합물을 10 내지 15분 동안 20 내지 25 ℃에서 교반하였다. 이후에, 8.8 kg의 가스가 제거된 메탄올을 첨가하였고, 배치를 10 내지 15분 동안 20 내지 25 ℃에서 저어주었고, 용액을 확인하였다. 다음으로, 26.1 kg의 가스가 제거된 THF를 최소 1.5 시간 동안 첨가하였다. 완전한 재결정화를 위해 배치를 20 내지 25 ℃에서 최소 24시간 동안 교반하였다. 현탁액을 질소 대기 하에서 여과하였다. 0.6 kg의 메탄올 및 5.9 kg의 THF의 혼합물(10% MeOH/THF)을 여과케이크의 세척을 위해 사용하였고, 3.2 kg의 THF의 세척을 수행하였다. 케이크를 질소의 흐름 하에서 건조하였고, 3.2 kg의 옅은 청색 내지 하얀색(light blue to white) 교체의 정제된 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체를 생산하였다.

[0167] **단계 3: 정제된 안정화된 양성자화된 루코메틸렌 블루 복합체의 메틸렌 블루로의 산화**



[0168]

[0169] 50 L 유리 반응기에 3.2 kg 정제된 루코메틸렌 블루 및 16.1 kg의 SP 물을 채워 넣었다. 배치를 10 내지 15 ℃로 냉각하였다. 10 내지 15 ℃에서 온도를 유지하면서, 카보이(carboy)를 통해, 1kg의 p-벤조퀴논 및 4.1 kg의 아세톤 용액을 배치에 첨가하였다. 카보이를 완전한 이동을 위해 0.9 kg의 아세톤으로 씻어 냈다. 배치를 35분 동안 10 내지 15℃에서 교반하였고, 이후에 20 내지 25 ℃로 가온하게 하였고, 이 온도에서 5시간 동안 더 교반하였다. HPLC에 의한 반응의 완료를 위해 배치를 시험하였다(전형적으로 아주 작은 또는 없는 루코메틸렌이 검출되었다). 격렬한 교반과 함께, 20.2 kg의 아세톤을 혼합물에 첨가하였고, 현탁액을 5시간 동안 20 내지 25 ℃에서 저어주었다. 현탁액을 여과하였고, 여과케이크를 20 내지 25 ℃에서 6.8 kg의 아세톤으로 세척하였다. 여과케이크를 이동가능(transferrable)할 때까지 질소의 흐름 하에서 건조하였다. 교체를 다시 50 L 반응기에 이

동시켰고, 25.3 kg의 아세톤을 첨가하고, 온도를 20 내지 25 ℃로 조절하고, 배치를 3시간 동안 교반하였다. 현탁액을 여과하였고, 여과케이크를 20 내지 25 ℃에서 7.8 kg의 아세톤으로 세척하였다. 여과케이크를 이동가능할 때까지 질소의 흐름 하에서 건조하였다.

[0170] 재결정화

[0171] 50 L 반응기에 전부의 상기 메틸렌 블루, 43.1 kg의 SP 물 및 34.5 kg의 염산 용액을 채워 넣었다. 배치를 60 내지 65 ℃로 조절하였고, 10 내지 15 분 동안 교반하였다. 이후에 배치 온도를 55 내지 60 ℃로 조절하였고, 이 온도에서 배치에 제2 50 L 반응기로의 최종 정화 여과(clarification filtration)를 수행하였다. 완전한 여과를 위해 3.4 kg의 HCl 용액의 세척을 55 내지 60 ℃에서 수행하였다. 교반과 함께, 배치를 40 내지 45 ℃로 냉각하였고, 16.3 kg의 아세톤을 30분 동안 반응기에 채워 넣었다. 이후에 배치를 40 내지 45 ℃에서 20분 동안 교반하였다. 교반과 함께, 배치를 최소 8시간 동안 0 내지 5 ℃로 냉각하였다. 배치를 3시간 동안 0 내지 5 ℃에서 더 교반하였다. 현탁액을 0 내지 5 ℃에서 차갑게 여과하였고, 여과케이크를 2.1 kg의 차가운 물(0 내지 5 ℃)로 세척하였고, 190 kg의 차가운 아세톤(0 내지 5 ℃)의 세척을 수행하였다. 여과케이크를 가열된 질소의 흐름 하에서 건조하여 3.1 kg의 정제된 메틸렌 블루를 생산하였다.

[0172] 예시된 방법은 표 1에 열거된 아주르 대비 순도 수준으로, 본 방법에 따라 정제된, 메틸렌 블루 산물의 3 배치의 시리즈에 대한 순도 데이터를 제공한다. 하기 표 2는 이 산물을 상업적으로 입수 가능한 메틸렌 블루 시작 물질 및 유럽 약전에 의해 요구되는 금속 불순물 수준과 비교한다.

표 1

[0173] 본 방법에 의해 제조된 메틸렌 블루의 3개의 대표적 배치 중 아주르 오염물의 수준

	배치 1 1305308	배치 1 1305309	배치 1 1305310
아주르 A & C	0.2%	0.2%	0.1%
아주르B	2.3%	2.3%	2.4%

표 2

[0174] 메틸렌 블루에 대한 금속 오염물 한도(유럽 약전)

금속	유럽 약전 한도 (ppm)	본 산물(ppm)	메틸렌 블루의 상업적 시료 (ppm)
알루미늄	100	5.1	18
구리	300	0.14	7.4
철	200	3.6	46
아연	100	0.69	91
니켈	10	0.09	2.5
크롬	100	0.91	5.0
몰리브덴	10	0.81	3.5
망간	10	0.09	0.81
주석	10	0.04	0.11
납	10	0.13	0.2
카드뮴	1.0	<0.02	<0.1
수은	1.0	0.35	1.0

[0175] 모든 경우에 있어서, 금속 불순물의 수준이 유럽 약전 5.0에 의해 허용가능하게 규정된 것보다 유의적으로 낮은 수준이고, 일부 경우에 있어서, 금속의 수준은 표준 방법에 의한 검출 한도에 근접한다는 것을 알 수 있다. 3개의 아주르 염료 불순물의 조합 수준은 약 2.5 중량% 또는 그 미만이다.

[0176] 본 발명의 다양한 구체예의 상기 서술은 관련된 기술 분야의 통상의 기술자에 대한 서술의 목적을 위해 제공된다. 이것은 단일 개시된 구체예로 발명이 소모되고 제한되고자 하는 의도가 아니다. 상기 언급된 바와 같이, 본 발명에 대한 다수의 대안 및 변화가 상기 개시의 기술 분야의 당업자에게 명백할 것이다. 따라서, 일부 대안적 구체예가 상세하게 논의되고, 다른 구체예는 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 명백하거나 상대적으로 용이하

게 개발될 것이다. 따라서, 이 특허 명세서는 본 명세서에서 논의된 본 발명의 모든 대안, 변형 및 변화, 및 상기 기술된 발명의 사상 및 범위 내에 들어가는 다른 구체예를 포함한다.

[0177] 다음에 이어지는 청구항 및 본 발명의 앞선 기술에 있어서, 명시된 언어 또는 필요한 암시에 의해 문맥에 명확하게 요구되지 않는 것을 제외하고는, 단어 "포함한다(comprise)" 또는 "포함한다(comprises)" 또는 "포함하는(comprising)"을 포함하는 그의 변형은 발명의 하나 이상의 구체예에서 추가적인 정수(integer)의 존재 또는 첨가를 못하게 함이 없이, 서술된 정수의 존재를 명시하기 위한 포괄적 의미로 사용된다.