

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 985 414**

51 Int. Cl.:

C07C 303/22 (2006.01)

C09B 11/10 (2006.01)

C07C 213/08 (2006.01)

C07C 303/06 (2006.01)

C07C 309/49 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.04.2021** **PCT/EP2021/058771**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.10.2021** **WO21204711**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2021** **E 21715909 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2024** **EP 4132905**

54 Título: **Procedimiento de síntesis de compuestos de triarilmetano sulfonados**

30 Prioridad:

10.04.2020 FR 2003638

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.11.2024

73 Titular/es:

PROVEPHARM LIFE SOLUTIONS (100.0%)
Les Baronnie22 rue Marc Donadille
13013 Marseille, FR

72 Inventor/es:

QUERU, STÉPHANE;
SAYAH, BABAK;
DRILLAUD, NICOLAS y
LOPEZ, NICOLAS

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 985 414 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

Procedimiento de síntesis de compuestos de triarilmetano sulfonados

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a un nuevo procedimiento de síntesis de compuestos que comprenden una estructura de triarilmetano sustituida con grupos sulfonados, específicamente un nuevo procedimiento de síntesis de colorantes de la familia de los compuestos de triarilmetano sulfonados, en particular del azul patente.

Estado de la técnica anterior

- 10 El azul patente (sal del 4-[[4-(dietilamino)fenil]-(4-dietilazaniolidenciclohexa-2,5-dien-1-iliden)metil]-6-hidroxibenceno-1,3-disulfonato) es un colorante que comprende una estructura de triarilmetano que existe en dos formas: la sal de sodio [CAS 20262-76-4] y la sal de calcio [CAS 3536-49-0]. Este colorante fue mencionado por primera vez en 1897 por Ernst Erdmann y Hugo Erdmann, Justus Liebigs Annalen der Chemie, Vol. 294 (3), 376-392.

En las publicaciones al respecto, existe cierta confusión entre el azul patente y el azul de isosulfán (sal de sodio del 2-[[4-(dietilamino)fenil]-(4-dietilazaniolidenciclohexa-2,5-dien-1-iliden)metil]-benceno-1,4-disulfonato, CAS 68238-36-8 y 748080-29-7), aunque estas moléculas tengan estructuras distintas.

- 15 El azul patente está disponible comercialmente, aunque los productos que se pueden encontrar en el mercado se caracterizan por tener un contenido elevado de impurezas. Específicamente, se han encontrado grandes cantidades de compuesto monodesetilado que son difíciles de separar del azul patente mediante métodos de purificación convencionales. Igualmente, estos se caracterizan por una cantidad significativa de NaCl residual.

- 20 El azul patente y el azul de isosulfán son colorantes de los tejidos biológicos usados específicamente como agentes de contraste para la delimitación de vasos linfáticos y son particularmente útiles como agentes de diagnóstico del cáncer. Se usan habitualmente en un procedimiento de diagnóstico denominado "mapeo de ganglios linfáticos centinela". Este método constituye un complemento de la linfografía para visualizar el sistema linfático drenando el área de inyección. Una aplicación importante consiste en localizar los ganglios linfáticos centinela en los pacientes con cáncer de mama. Igualmente, se efectúa la extirpación quirúrgica de tejidos cancerosos guiada con azul patente o azul de isosulfán.

- 25 Pocos autores se han interesado por la síntesis del azul patente desde la publicación de 1897 por Ernst y Hugo Erdmann. Entre estos autores se pueden citar Hagenbach, Revue des colorants bleus, Helvetica, volumen 6, número 1, 1923, páginas 134-186; Paul Fritsch, Euric, volumen 29, número 2, mayo-agosto 1896, páginas 2290-2301. A partir de las reacciones de base que se enseñan en estos documentos, se puede producir una gran diversidad de colorantes, específicamente compuestos caracterizados por una estructura de triarilmetano sulfonada.

- 30 Los documentos US 1531507, US7534911, US8969616, WO2017118882, WO2017218764 y WO2018008040 exponen diferentes procedimientos de síntesis del azul de isosulfán.

- 35 La mayoría de los métodos de síntesis de la técnica anterior para la fabricación de colorantes de triarilmetano sulfonados comprenden una etapa de condensación de un benzaldehído sulfonado con la *N,N*-dietilanilina, etapa que implica ácidos fuertes y que lleva a la formación de un compuesto leuco. Esta etapa va seguida generalmente de una etapa de oxidación con agentes oxidantes conocidos, algunos de los cuales son considerados peligrosos (óxido de plomo, ftalocianina de hierro, / oxona), para efectuar la conversión en un colorante de triarilmetano.

- 40 El documento DE46384 describe un procedimiento de síntesis de colorantes del tipo triarilmetano sulfonado por medio de un procedimiento que utiliza una sulfonación de una estructura de triarilmetano mediante tratamiento con ácido sulfónico fumante, seguido de una oxidación con óxido de plomo en presencia de ácido sulfúrico. No se han caracterizado ni el producto ni su pureza. Se ignora qué sustituciones se han efectuado en los ciclos aromáticos. Los inventores de la presente solicitud han constatado que el tratamiento con ácido sulfónico fumante (SO₃ gaseoso a saturación en una solución concentrada de H₂SO₄) degrada la estructura de triarilmetano muy rápidamente. Las condiciones que se enseñan en este documento no permiten, por tanto, formar la estructura buscada con unos rendimientos y una pureza satisfactorios.

- 45 El documento A.M. Montagut et al., Chem. Eur. J. 2017, 23, 3810-3814, describe una síntesis de compuestos de triarilmetano de carácter hidrófobo para el tratamiento de textiles. Después de la formación de la estructura de triarilmetano sustituida con grupos de cadena larga, la última etapa consiste en una oxidación con una quinona, la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ). Las estructuras correspondientes son significativamente diferentes de las moléculas colorantes convencionales tales como el azul patente o el azul de isosulfán, cuyos núcleos de arilo están sustituidos con grupos de cadena corta y llevan funciones sulfonadas.

Entre las impurezas que se forman durante la síntesis de estos compuestos dialquilaminotriarilmetilsulfonados, los derivados desalquilados son particularmente irritantes. En el caso del azul patente y el azul de isosulfán, las impurezas se refieren a impurezas de desetilo. En efecto, estas moléculas solo se diferencian de las moléculas objetivo en la

ausencia de uno o más grupos alquilo (etilo) en los átomos de nitrógeno. Como su estructura es muy similar a la de los compuestos objetivo, es difícil eliminarlos mediante técnicas de purificación convencionales.

El documento WO2017/118882 reivindica la síntesis de azul de isosulfán con una pureza > 99.8 % y una cantidad de impureza desetilada < 0.15 %. Sin embargo, el procedimiento descrito lleva a cabo una etapa de oxidación con permanganato potásico que lleva a una contaminación por manganeso. Este método, cuando se intenta aplicar a la síntesis del azul patente plantea dificultades ya que la materia prima 1-cloro-2- hidroxibenzaldehído no está disponible comercialmente, y el tratamiento con ácido sulfónico de esta molécula no lleva a una sulfonación en las posiciones adecuadas.

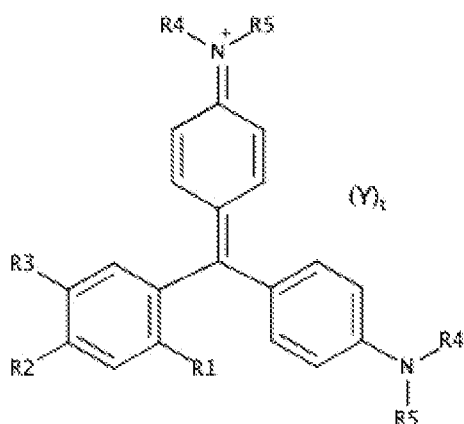
Sigue existiendo, por tanto, la necesidad de un procedimiento de síntesis de compuestos de triarilmetano sulfonados que permita obtener el azul patente aunque también otras estructuras derivadas. En particular, se ha buscado desarrollar un procedimiento que sea reproducible, aplicable a escala industrial, con buenos rendimientos y que proporcione productos de pureza elevada. En particular, sigue existiendo la necesidad de un procedimiento que produzca una composición en la que el compuesto objetivo esté sustancialmente desprovisto de derivados desalquilados, en particular derivados desetilados en el caso del azul patente, pero también que no requiera el uso de metales pesados.

Sigue existiendo también la necesidad de un método de preparación del azul patente que lleve a un producto sustancialmente desprovisto de sales.

De manera sorprendente, el presente solicitante ha descubierto un procedimiento que permite acceder a compuestos de estructura de triarilmetano sulfonado a partir de moléculas sencillas y fácilmente disponibles, en tres etapas y con unos rendimientos y una pureza elevados. El procedimiento de la invención permite obtener productos que tienen a la vez una pureza orgánica y una pureza con respecto a los metales pesados satisfactorias, teniendo al mismo tiempo buenos rendimientos.

Sumario de la invención

La invención se refiere a un procedimiento de síntesis de un compuesto que responde a la fórmula (I)



en la que

R1, R2 representan, de manera independiente entre sí, un grupo seleccionado entre: $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_3^-$,

R3 representa un grupo seleccionado entre: $-\text{OH}$, $-\text{OR}'$, $-\text{OCOOR}'$,

con R' que representa un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquenilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, fenilo, bencilo

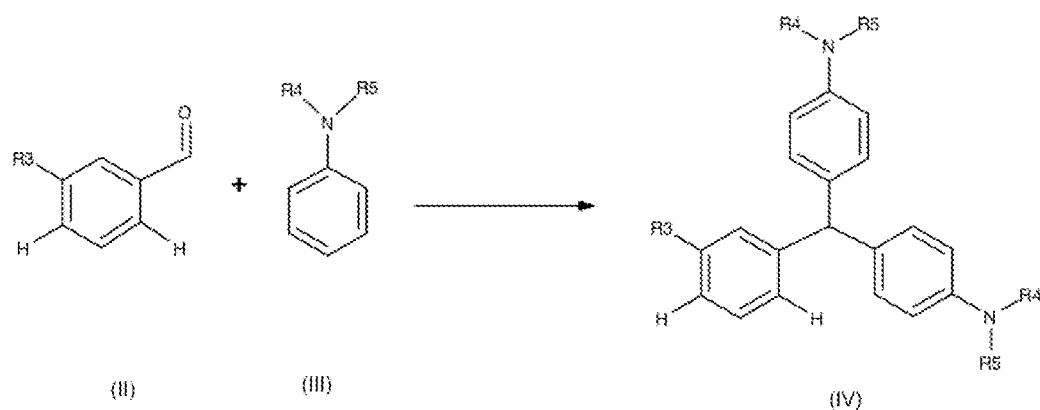
R4, R5, idénticos o diferentes, representan un grupo seleccionado entre: alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquenilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, fenilo, bencilo, entendiéndose que dos grupos R4, R5 en el mismo átomo de nitrógeno pueden formar juntos un anillo que incluye este átomo de nitrógeno,

Y representa un catión orgánico o inorgánico seleccionado entre las sales farmacéuticamente aceptables;

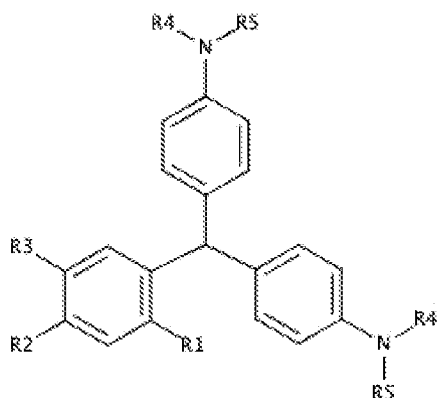
t representa un número $t = 0; 1/2; 1$;

comprendiendo este procedimiento al menos las etapas siguientes:

a) condensación del compuesto benzaldehído de fórmula (II) con la dialquilanilina de fórmula (III) para dar el trifenilmetano de fórmula (IV),



b) tratamiento del trifenilmetano de fórmula (IV) con ácido sulfúrico para formar el trifenilmetano sulfonado de fórmula (V),

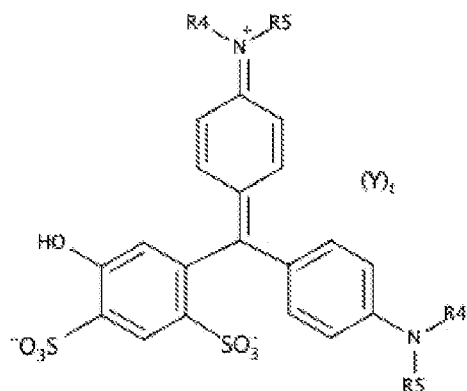


5 en la que R1, R2, R3, R4 y R5 tienen la misma definición que en la fórmula (I)

c) oxidación del trifenilmetano sulfonado de fórmula (V) con una quinona.

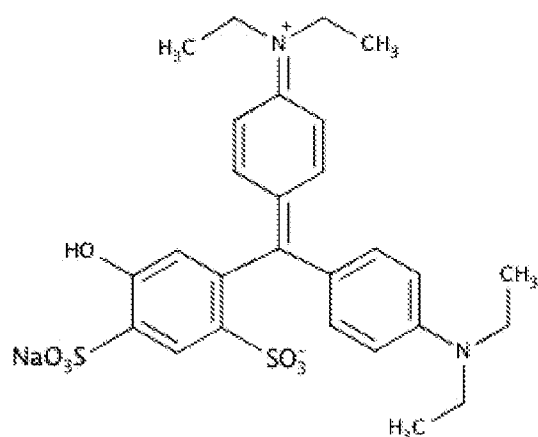
De acuerdo con una realización preferente, el procedimiento comprende, después de la etapa c), una etapa d) de salificación.

10 De acuerdo con una realización preferente, el compuesto que responde a la fórmula (I) se selecciona entre aquellos que responden a la fórmula (IA)



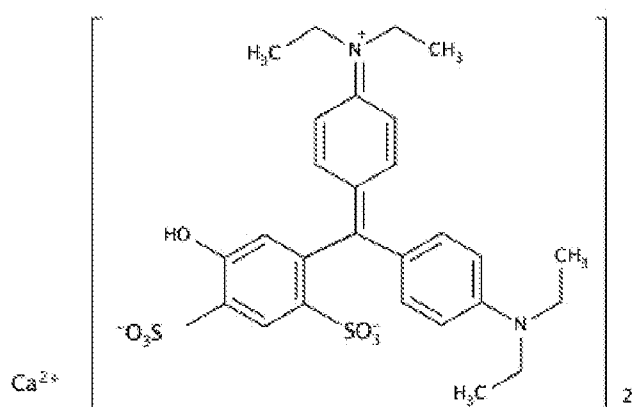
De acuerdo con una realización preferente, el compuesto que responde a la fórmula (IA) se selecciona entre:

(VI)



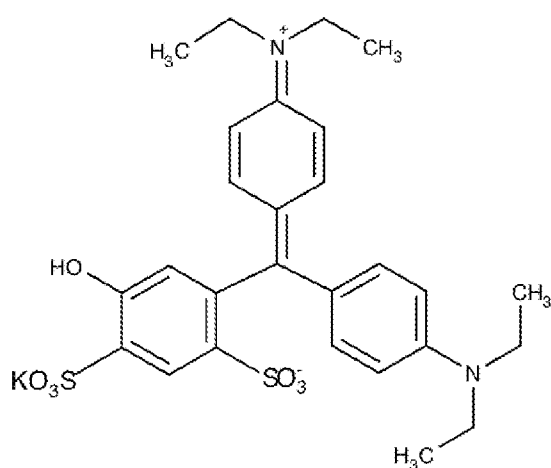
azul patente, sal de sodio

(VII)



5 azul patente, sal de calcio

(VIII)



azul patente, sal de potasio

10 De acuerdo con una realización preferente del procedimiento, en la etapa b) el medio de reacción se lleva a una temperatura que varía de 70 °C a 120 °C durante un periodo que varía de 1 a 5 h.

De acuerdo con una realización preferente del procedimiento, al final de la etapa b) se precipita el trifenilmetano sulfonado de fórmula (V).

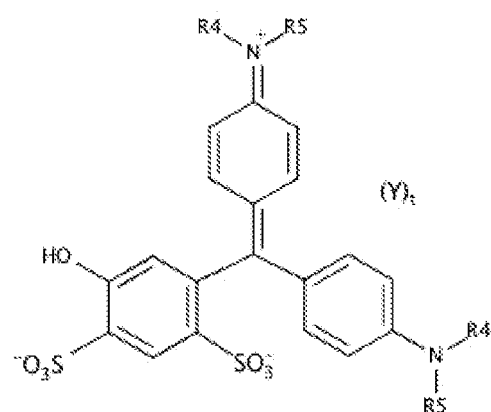
De acuerdo con una realización preferente del procedimiento, en la etapa c) la quinona se selecciona entre 1,4-benzoquinona, 1,2-benzoquinona, dialquil(C₁-C₄) 1,4-benzoquinona, dialquil(C₁-C₄) 1,2-benzoquinona, monoalquil(C₁-C₄) 1,4-benzoquinona, monoalquil(C₁-C₄) 1,2-benzoquinona, preferentemente 1,4-benzoquinona.

- 5 De acuerdo con una realización preferente del procedimiento, en la etapa c) el tratamiento se lleva a cabo en un disolvente prótico apolar, a una temperatura que varía de 40 a 120 °C.

La invención se refiere además al uso del procedimiento tal como se ha definido anteriormente y como se define con más detalle a continuación, para obtener una composición que comprende al menos un 99.0 % del compuesto que responde a la fórmula (I), habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con una detección a 230 nm.

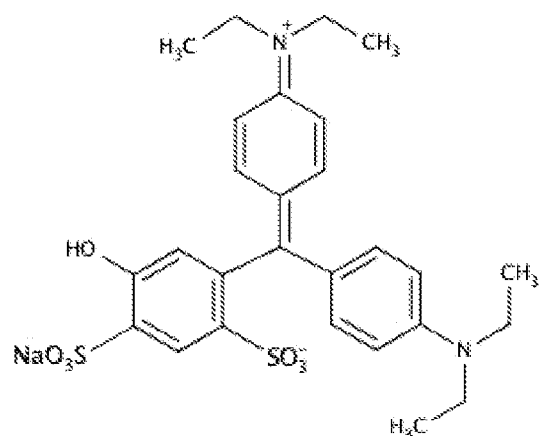
- 10 La invención se refiere además al uso del procedimiento tal como se ha definido anteriormente y como se define con más detalle a continuación, para obtener una composición que comprende al menos un 99.0 % del compuesto que responde a la fórmula (IA), habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm

(IA)



- 15 De manera ventajosa, el procedimiento está dirigido a producir una composición en la que no hay presente ninguna impureza aparte del derivado monodesalquilado en una cantidad superior al 0.1 %, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

- 20 La invención se refiere además al uso del procedimiento tal como se ha definido anteriormente y como se define con más detalle a continuación, para obtener una forma cristalina del compuesto azul patente, sal de sodio, que responde a la fórmula (VI),



- 25 caracterizada por el diagrama de difracción de rayos X de polvo siguiente, medido en un difractómetro y expresado en términos de las distancias inter-reticulares d, el ángulo de Bragg 2-theta, la intensidad y la intensidad relativa (expresada en porcentaje con respecto a la línea más intensa):

Ángulo 2-theta (°)	Distancia inter-reticular d (Å)	I (cuentas)	I rel (%)
5.6	15.80	500	61.5
6.2	14.29	375	46.2
9.4	9.39	187.5	23.1
10.9	8.12	62.5	7.7
11.5	7.71	125	15.4
12.1	7.33	156.25	19.2
14.4	6.14	343.75	42.3
15.6	5.68	250	30.8
16.5	5.38	375	46.2
17.6	5.02	187.5	23.1
18.2	4.86	375	46.2
19.4	4.57	812.5	100.0
20.0	4.43	500	61.5
22.9	3.87	187.5	23.1
24.7	3.60	250	30.8

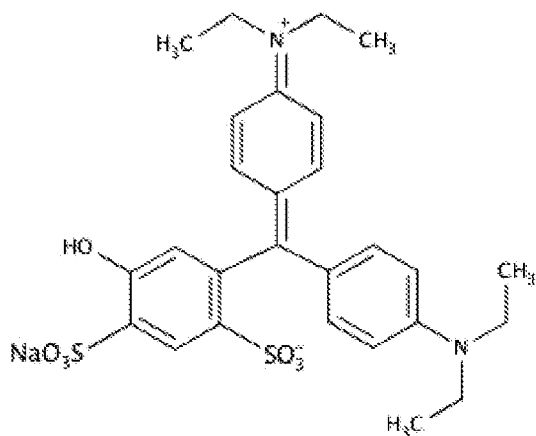
entendiéndose que los valores de la intensidad (I) y de la intensidad relativa (I rel) de los picos anteriores pueden variar en +/- un 15 %.

De manera ventajosa, la estructura cristalina está sustancialmente desprovista de NaCl, preferentemente totalmente desprovista de NaCl.

- 5 La invención se refiere además a un procedimiento de fabricación de un medicamento o de un producto de diagnóstico que comprende a) la fabricación del compuesto que responde a la fórmula (I), preferentemente del azul patente, mediante el procedimiento tal como se ha definido anteriormente y como se define con más detalle a continuación, y b) la introducción del compuesto que responde a la fórmula (I), en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

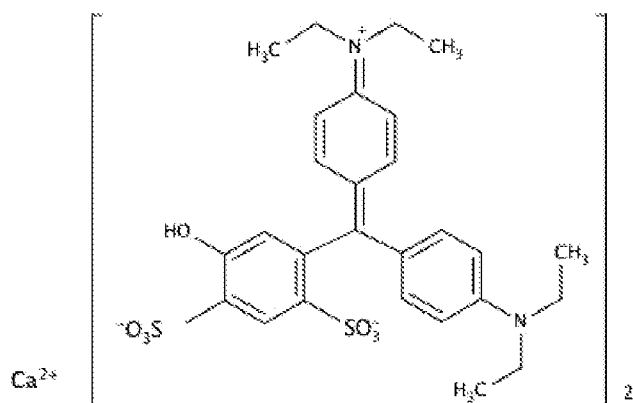
- 10 La invención se refiere también a una composición que comprende al menos un 99.0 % del compuesto que responde a la fórmula (VI) o a la fórmula (VII) o a la fórmula (VIII), habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm:

(VI)



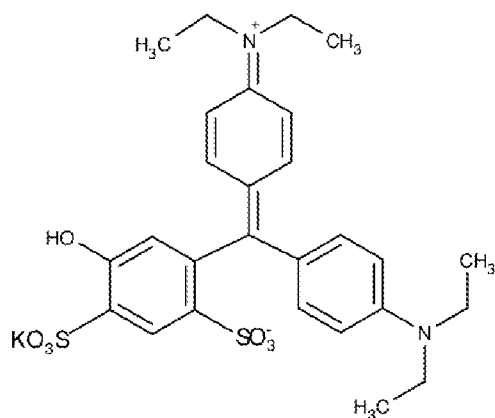
azul patente, sal de sodio

- 15 (VII)



azul patente, sal de calcio.

(VIII)



5 azul patente, sal de potasio

De manera ventajosa, en esta composición no hay presente ninguna impureza aparte del derivado monodesalquilado en una cantidad superior al 0.1 %, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

10 El procedimiento de la invención presenta la ventaja de que permite obtener una composición sustancialmente desprovista de NaCl, preferentemente totalmente desprovista de NaCl residual.

La invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende al menos una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), en particular un compuesto que responde a la fórmula (VI) o a la fórmula (VII) o a la fórmula (VIII), tal como se ha definido anteriormente y como se define con más detalle a continuación, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos una composición que comprende un compuesto que responde a la fórmula (VI) o a la fórmula (VII).

Descripción detallada

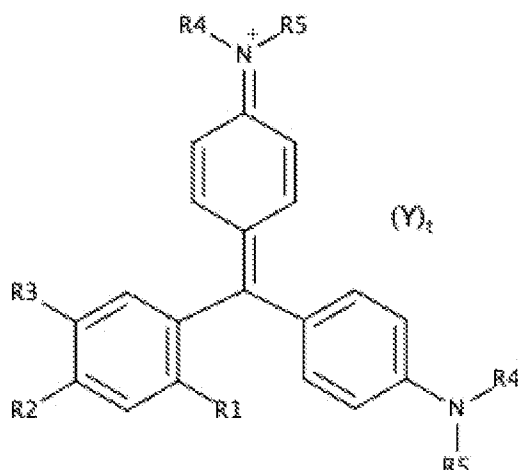
La expresión "consiste esencialmente en" seguida de una o varias características, significa que pueden estar incluidos en el procedimiento o en el material de la invención, además de los compuestos o etapas explícitamente enumerados, compuestos o etapas que no modifican significativamente las propiedades y características de la invención.

20 La expresión "comprendido entre X e Y" incluye los extremos, a menos que se indique explícitamente lo contrario. Esta expresión significa, por tanto, que el intervalo buscado comprende los valores X, Y y cualquier valor que va de X a Y.

Compuestos obtenidos mediante el procedimiento de la invención

25 La presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de compuestos que responden a la fórmula (I) siguiente:

(I)



en la que

R1, R2 representan, de manera independiente entre sí, un grupo seleccionado entre: -SO₃H, -SO₃⁻,

R3 representa un grupo seleccionado entre: -OH, -OR', -OCOOR',

5 con R' que representa un grupo alquilo C₁-C₈, alquenilo C₁-C₈, fenilo, bencilo

R4, R5, idénticos o diferentes, representan un grupo seleccionado entre: alquilo C₁-C₈, alquenilo C₁-C₈, fenilo, bencilo, y dos grupos R4, R5 en el mismo átomo de nitrógeno pueden formar juntos un anillo que incluye este átomo de nitrógeno,

Y representa un catión orgánico o inorgánico seleccionado entre las sales farmacéuticamente aceptables;

10 t representa un número t = 0; 1/2; 1.

De manera preferente, en la fórmula (I):

R1 = -SO₃H o -SO₃⁻; R2 = -SO₃H o -SO₃⁻; R3 = -OH.

Cuando dos grupos R4, R5 en el mismo átomo de nitrógeno forman juntos un anillo, estos grupos pueden consistir en una sola cadena de alquilo o alquenilo que forma un anillo que incluye el átomo de nitrógeno.

15 De manera ventajosa, R4, R5, idénticos o diferentes, representan un grupo seleccionado entre: alquilo C₁-C₈, fenilo, bencilo, y dos grupos R4, R5 en el mismo átomo de nitrógeno pueden formar juntos una cadena -(CH₂)_p-, con p que es un número entero, p = 2 a 5.

De manera aún más ventajosa, R4, R5, idénticos o diferentes, representan un grupo seleccionado entre: alquilo C₁-C₃, preferentemente entre metilo y etilo. De manera preferente, (R4; R5) se selecciona entre (CH₃; CH₃), (C₂H₅; C₂H₅), (CH₃; C₂H₅).

20 De acuerdo con una realización preferente, R4 = R5.

De manera aún más ventajosa, (R4; R5) se selecciona entre (CH₃; CH₃) y (C₂H₅; C₂H₅).

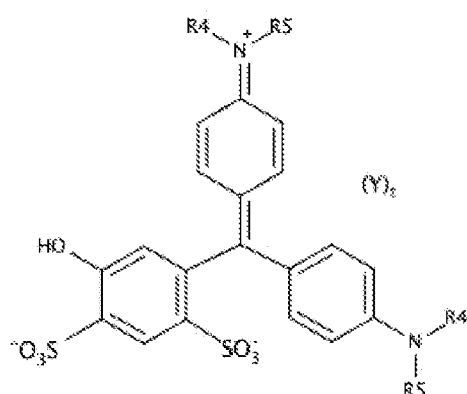
De acuerdo con una variante preferente, (R4; R5) representa (C₂H₅; C₂H₅).

25 De manera ventajosa, las sales farmacéuticamente aceptables se refieren a sales no tóxicas, en las que el catión se selecciona entre iones de metales alcalinos, de metales alcalino-térreos, o un ion amonio. De manera aún más ventajosa, Y representa un grupo seleccionado entre: Na⁺, Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺, un grupo amonio NH₄⁺.

De manera aún más preferente, Y representa un grupo seleccionado entre: Na⁺, Ca²⁺.

De acuerdo con una variante preferente, el procedimiento de la invención se refiere a la obtención de compuestos que responden a la fórmula (IA) siguiente:

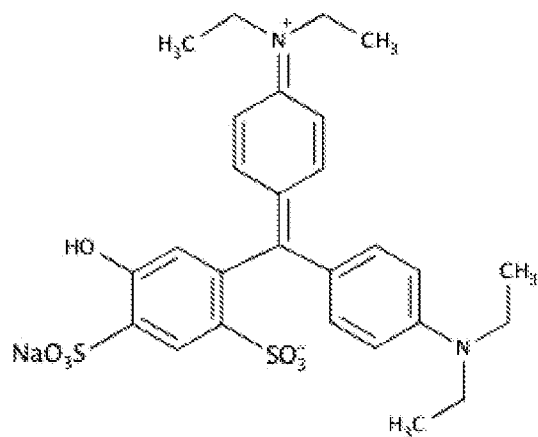
30 (IA)



en la que R₄, R₅, Y y t tienen la misma definición que en la fórmula (I). Las preferencias expresadas anteriormente para la selección de estas variables en el contexto de la fórmula (I) se aplican también a la fórmula (IA).

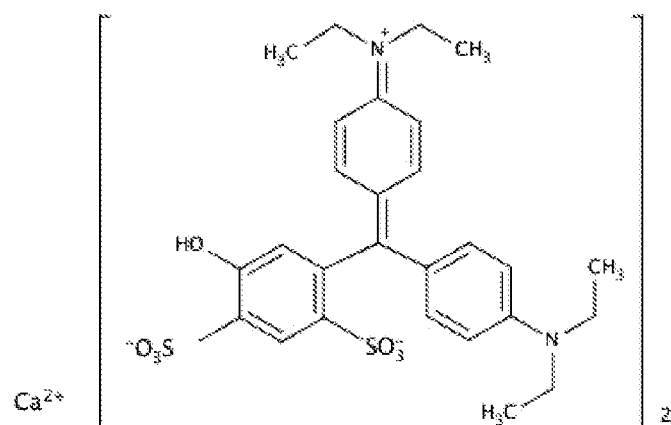
En particular, la invención se refiere a los compuestos siguientes:

5 (VI)



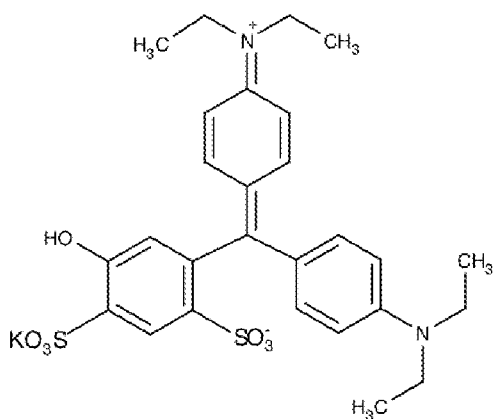
azul patente, sal de sodio

(VII)



10 azul patente, sal de calcio

(VIII)



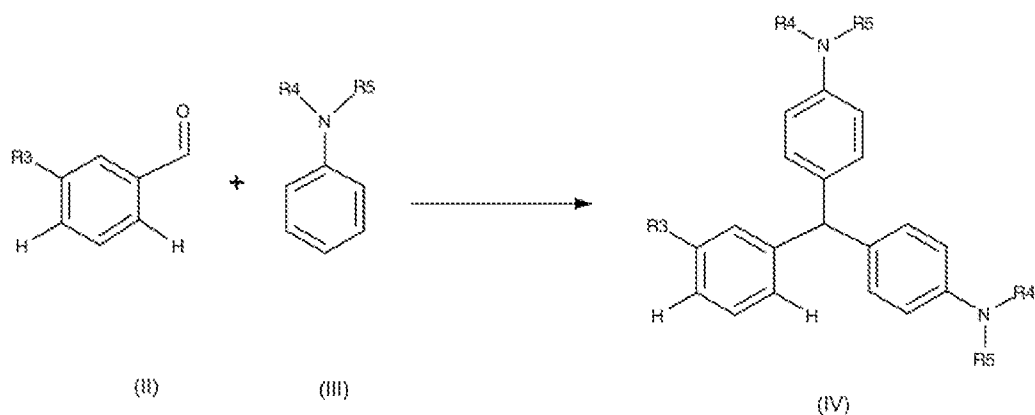
azul patente, sal de potasio

En toda la solicitud, cuando se menciona el azul patente se entiende un compuesto que responde a la fórmula (VI) o a la fórmula (VII) o a la fórmula (VIII).

5 Procedimiento de preparación de un compuesto de acuerdo con la invención

La invención se refiere a un procedimiento de síntesis de un compuesto que responde a la fórmula (I), comprendiendo este procedimiento al menos las etapas siguientes:

a) condensación del compuesto benzaldehído de fórmula (II) con la dialquilanilina de fórmula (III) para dar el trifenilmetano de fórmula (IV),



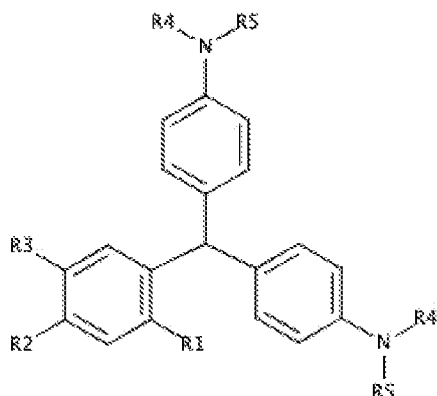
en las que

R3 representa un grupo seleccionado entre: -OH, -OR', -OCOOR',

R4, R5 tienen la misma definición que en la fórmula (I).

b) tratamiento del trifenilmetano de fórmula (IV) con ácido sulfúrico para formar el trifenilmetano sulfonado de fórmula (V)

(V)



en la que R1, R2, R3, R4 y R5 tienen la misma definición que en la fórmula (I)

c) oxidación del trifenilmetano sulfonado de fórmula (V) mediante tratamiento con una quinona.

5 Las preferencias expresadas anteriormente para la selección de las variables R4 y R5 en el contexto de la fórmula (I) se aplican también a las fórmulas (II), (III), (IV) y (V).

Tal como se deduce de los esquemas anteriores y posteriores, en la etapa b) se efectúa la sustitución de dos átomos de hidrógeno con una función entre $\text{SO}_3\text{H}/\text{SO}_3^-$.

Etapas a):

10 La etapa a) consiste en condensar el compuesto benzaldehído de fórmula (II) con la dialquilanilina de fórmula (III) para dar el trifenilmetano de fórmula (IV). De manera preferente, en las fórmulas (II) y (IV):

R3 = OH.

De manera ventajosa, en el procedimiento de preparación definido anteriormente, la etapa a) se lleva a cabo con de 1,95 a 3 equivalentes molares de dialquilanilina de fórmula (III) con respecto a la cantidad de benzaldehído de fórmula (II).

15 De manera ventajosa, en el procedimiento de preparación definido anteriormente, la etapa a) se lleva a cabo en presencia de urea y en medio ácido. Preferentemente, el medio de reacción se acidifica con ácido clorhídrico. De manera más ventajosa, el medio de reacción se acidifica con de 1,2, a 3 equivalentes molares de ácido clorhídrico con respecto a la cantidad de benzaldehído de fórmula (II). Preferentemente, la etapa a) se lleva a cabo en presencia de 0,25 a 1,5 equivalentes molares de urea con respecto a la cantidad de benzaldehído de fórmula (II).

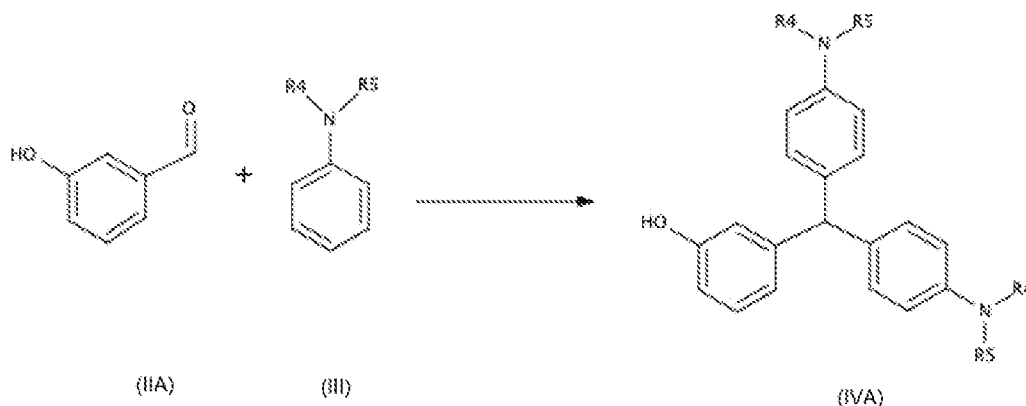
20 De manera ventajosa, en el procedimiento de preparación definido anteriormente, la etapa a) se lleva a cabo en un disolvente seleccionado entre disolventes próticos, en particular alcoholes. Preferentemente, se lleva a cabo en etanol. Preferentemente, el etanol se introduce en el medio de reacción en una cantidad que varía de 1 a 6 volúmenes en comparación con la masa de aldehído de fórmula (II).

25 De manera ventajosa, la reacción de la etapa a) se lleva a cabo mediante calentamiento a una temperatura que varía de 60 °C a 120 °C durante un periodo de 5 a 30 horas, de manera aún más ventajosa a una temperatura que varía de 75 °C a 100 °C durante un periodo de 10 a 25 horas.

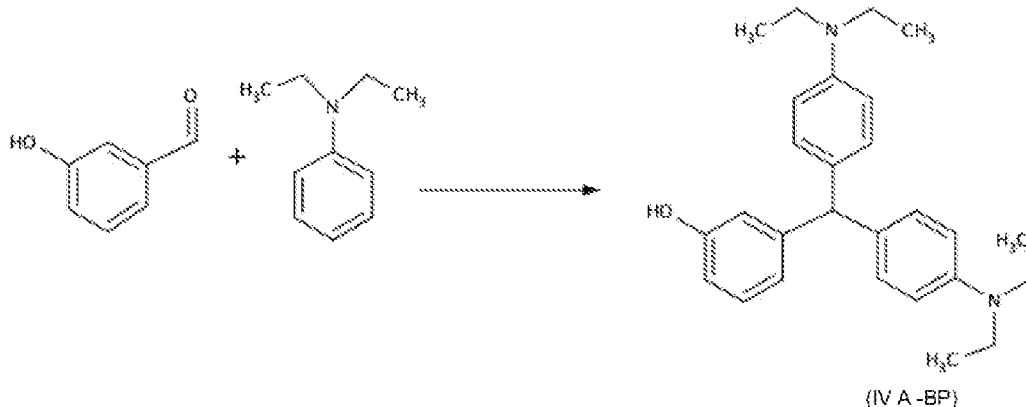
30 De manera ventajosa, al final de la reacción de condensación de la etapa a), el medio de reacción se trata para precipitar el compuesto de fórmula (IV). Preferentemente, esta precipitación es provocada por la adición al medio de reacción de un disolvente seleccionado entre una solución acuosa ácida, acetona y mezclas de estas. De manera ventajosa, el compuesto de fórmula (IV) se aísla del medio de reacción mediante filtración y se purifica mediante lavado. De manera ventajosa, el lavado se efectúa con un disolvente seleccionado entre una solución acuosa ácida, acetona y mezclas de estas.

35 De manera alternativa, se podría contemplar el aislamiento del compuesto de fórmula (IV) del medio de reacción mediante otras técnicas de purificación tales como la extracción con disolventes o la cromatografía, específicamente la cromatografía sobre columna de sílice.

En el caso en el que el compuesto (I) es el compuesto (IA), la etapa a) se puede sintetizar en el esquema siguiente:



En particular, en el caso de la síntesis del azul patente (BP, *bleu patenté*), la etapa a) se puede sintetizar en el esquema



siguiente:

5 Etapa b):

De manera ventajosa, en el procedimiento de preparación definido anteriormente, la etapa b) se lleva a cabo mediante un tratamiento con ácido sulfúrico concentrado. Por ejemplo, se usa una solución de ácido sulfúrico de concentración superior o igual al 90 % en volumen, preferentemente una solución de ácido sulfúrico de concentración superior o igual al 95 % en volumen.

- 10 Preferentemente, el tratamiento comprende la adición del compuesto de fórmula (IV) a de 1 a 5 volúmenes de ácido sulfúrico.

De manera ventajosa, la solución del compuesto de fórmula (IV) en ácido sulfúrico se lleva a una temperatura que varía de 60 a 120 °C durante un periodo que varía de 30 min a 10 h, preferentemente a una temperatura que varía de 80 a 100 °C durante un periodo que varía de 1 h a 5 h.

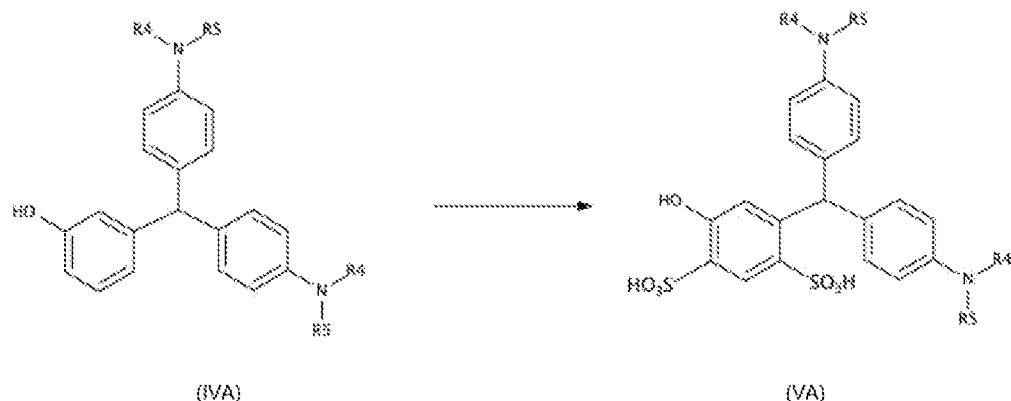
- 15 De manera ventajosa, al final de la etapa b) el trifenilmetano sulfonado de fórmula (V) se separa del medio de reacción mediante precipitación. Preferentemente, esta precipitación es provocada por la adición de un disolvente o una mezcla de disolventes seleccionados entre: alcoholes, éteres, agua, acetona y mezclas de estos; aún más preferentemente, por la adición de alcohol (etanol, isopropanol,...), una mezcla de agua/alcohol, de agua/acetona o una mezcla de alcohol/éter (isopropanol/éter isopropílico, etanol/éter isopropílico,...).

- 20 De manera alternativa, se podría contemplar el aislamiento del compuesto de fórmula (V) del medio de reacción mediante otras técnicas de purificación tales como la extracción con disolventes o la cromatografía, específicamente la cromatografía sobre columna de sílice.

De manera sorprendente, se ha constatado que, en las condiciones descritas anteriormente, la sulfonación del anillo aromático que lleva la función hidroxilo en la fórmula (IVa) se efectúa de manera selectiva en posición *orto* o *para* del anillo cuando este comprende un grupo -OH en posición *meta*.

- 25

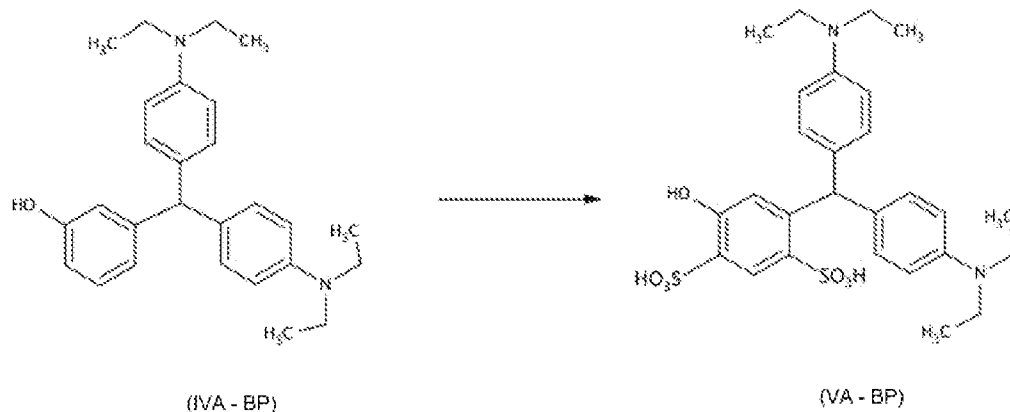
En el caso en el que el compuesto (I) es el compuesto (IA), la etapa b) se puede sintetizar en el esquema siguiente:



La etapa b), por tanto, es particularmente ventajosa para la síntesis de compuestos que responden a la fórmula (IA) que se ha definido anteriormente. Específicamente, esta permite obtener el azul patente con una selectividad elevada en cuanto a la sustitución del anillo que lleva las funciones sulfonadas.

Por otro lado, contrariamente a lo observado en otras condiciones de sulfonación, el tratamiento anterior conlleva poca formación de productos secundarios debidos a la degradación de la estructura de triarilmetano o a la desalquilación de las funciones alquilamina.

En el caso del azul patente, la etapa b) se puede sintetizar en el esquema siguiente:



Etapa c):

En la etapa c) el trifenilmetano sulfonado de fórmula (V) se oxida en el compuesto objetivo de fórmula (I) mediante tratamiento con una quinona. En esta etapa, si se busca la obtención de un producto de pureza elevada y rendimientos de conversión elevados, es importante evitar la degradación de la estructura de triarilmetano y la desalquilación, es decir, la sustitución de uno o varios grupos R4, R5 con átomos de hidrógeno.

La quinona se selecciona de manera ventajosa entre las benzoquinonas como, por ejemplo, 1,4-benzoquinona, 1,2-benzoquinona, 3,5-di-*tert*-butil-1,2-benzoquinona, 2,5-dimetil-1,4-benzoquinona, 2-cloro-1,4-benzoquinona, tetracloro-1,4-benzoquinona.

Preferentemente la quinona se selecciona entre 1,4-benzoquinona, 1,2-benzoquinona, dialquil(C₁-C₄) 1,4-benzoquinona, dialquil(C₁-C₄) 1,2-benzoquinona, monoalquil(C₁-C₄) 1,4-benzoquinona, monoalquil(C₁-C₄) 1,2-benzoquinona.

Por "dialquil(C₁-C₄) 1,4-benzoquinona" y "dialquil(C₁-C₄) 1,2-benzoquinona" se entiende una quinona que lleva dos grupos alquilo C₁-C₄ idénticos o diferentes, preferentemente idénticos, como, por ejemplo, 3,5-di-*tert*-butil-1,2-benzoquinona o 2,5-dimetil-1,4-benzoquinona. Por "monoalquil(C₁-C₄) 1,4-benzoquinona" y "monoalquil(C₁-C₄) 1,2-benzoquinona" se entiende una quinona que lleva un grupo alquilo C₁-C₄ como, por ejemplo, 2-metil-1,4-benzoquinona.

Preferentemente, la quinona es 1,4-benzoquinona.

De manera sorprendente, se ha constatado que estas quinonas dan una elevada tasa de conversión y una baja degradación en impurezas de tipo desalquilo, en particular, en impurezas desetilo en el caso del azul patente.

Preferentemente, en la etapa c), el tratamiento se lleva a cabo en un disolvente prótico apolar. Por ejemplo, el disolvente se puede seleccionar entre dimetilsulfóxido (DMSO), N-metilpirrolidona (NMP) y dimetilformamida (DMF).

Preferentemente, en la etapa c), el tratamiento se lleva a cabo a una temperatura que varía de 40 a 130 °C, de manera ventajosa a una temperatura que varía de 60 a 120 °C, de manera aún más ventajosa a una temperatura que varía de 70 a 110 °C.

De manera ventajosa, al final de la etapa c) el compuesto objetivo de fórmula (I) se separa del medio de reacción mediante precipitación. Preferentemente, esta precipitación es provocada por la adición de un disolvente o una mezcla de disolventes seleccionados entre: alcoholes, éteres, agua, acetona y mezclas de estos.

De manera alternativa, se podría contemplar el aislamiento del compuesto de fórmula (I) del medio de reacción mediante otras técnicas de purificación tales como la extracción con disolventes o la cromatografía, específicamente la cromatografía sobre columna de sílice.

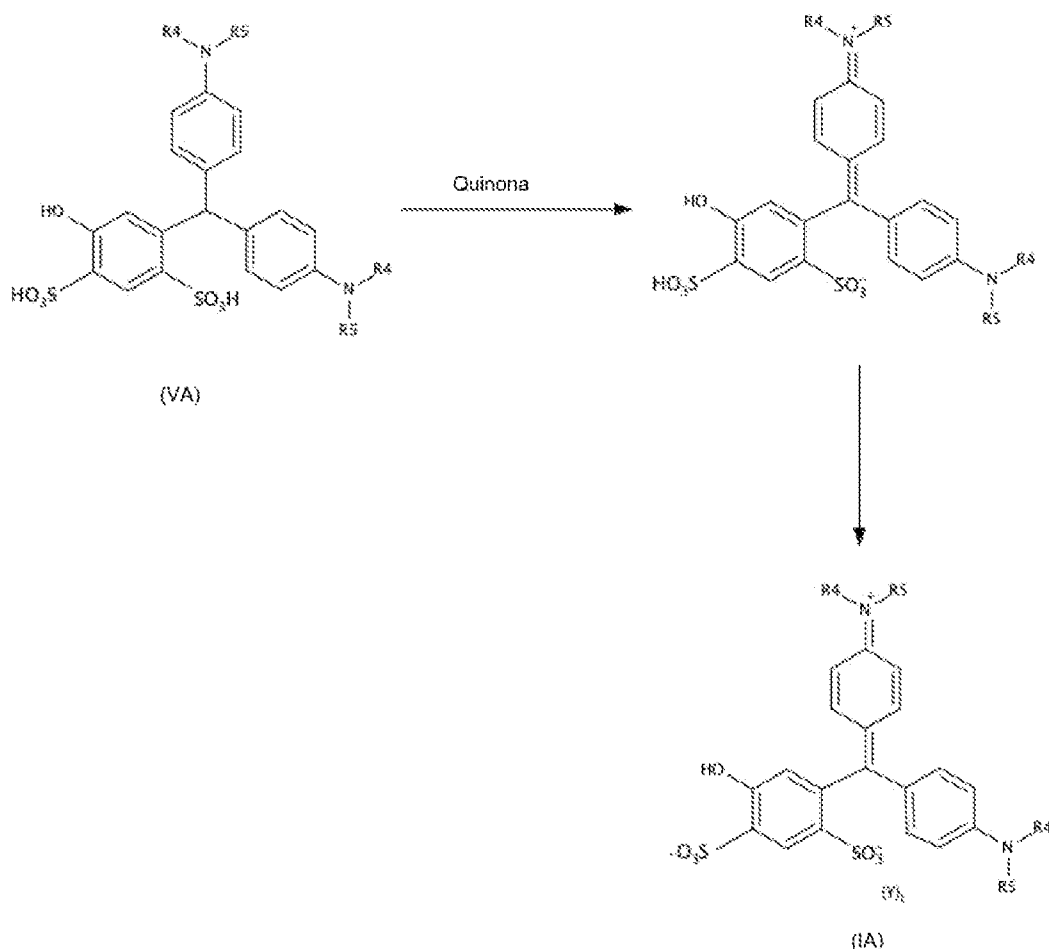
Etapas d):

Cuando t es distinto de 0, el procedimiento comprende, después de la etapa c), una etapa d) de salificación. De una manera bien conocida, esta etapa se lleva a cabo introduciendo el compuesto objetivo de fórmula (I) obtenido en la etapa c) ($t = 0$) en un disolvente con el contraión seleccionado.

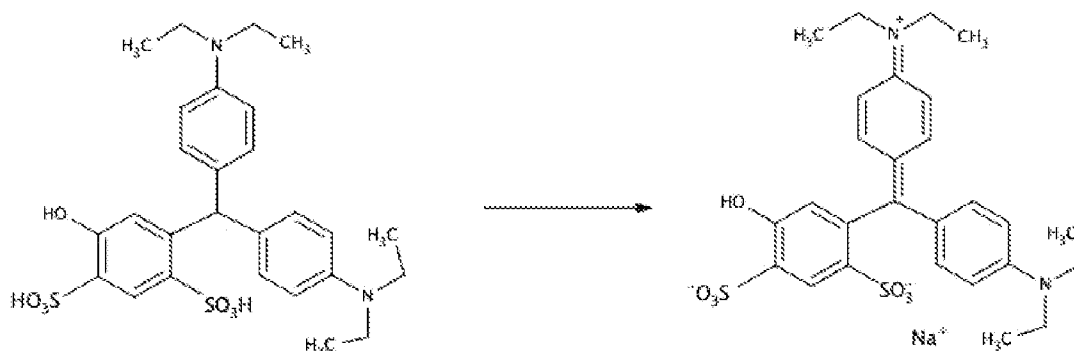
En el caso particular del azul patente, el contraión se selecciona de manera ventajosa entre Na^+ , Ca^{2+} y K^+ , aún más preferentemente entre Na^+ y Ca^{2+} . Aunque se pueden obtener derivados del azul patente, correspondiente al compuesto objetivo de fórmula (IA), con otro contraión Y mediante el procedimiento de la invención.

De manera opcional, el procedimiento puede ir seguido de una o varias etapas de purificación convencionales tales como precipitación, cristalización, extracción con disolventes o cromatografía.

En el caso del compuesto (IA), las etapas c) y d) se pueden sintetizar en el esquema siguiente:



En el caso del azul patente (sal de sodio), la combinación de las etapas c) y d) se puede sintetizar en el esquema siguiente:



De manera sorprendente, se ha constatado que la combinación de las dos etapas anteriores permite obtener directamente una forma cristalina del azul patente, en particular del azul patente, sal de sodio, que no era conocida en la técnica anterior. La obtención directa de una forma cristalina proporciona numerosas ventajas en términos de rendimiento y de pureza, aunque también de eficacia y de reducción de costes para una aplicación del procedimiento a escala industrial. El producto obtenido presenta características cristalinas que le confieren una buena estabilidad. El procedimiento de la invención proporciona una mayor facilidad de elaboración en la medida en que lleva de manera reproducible a un producto cristalino, de polimorfismo único, que se requiere en la mayoría de las fórmulas galénicas (secas en particular). La ausencia de NaCl favorece la solubilidad del azul patente en solución acuosa.

Características de los compuestos obtenidos

El procedimiento de la invención permite obtener composiciones que comprenden el compuesto objetivo de fórmula (I), en particular los compuestos (IA) y (IB), más en particular los compuestos de fórmulas (VI), (VII) y (VIII), con rendimientos elevados y una tasa de impurezas muy baja.

En la práctica, la impureza mono-desalquilada (una sola función alquilo entre los grupos R4, R5 está sustituida con un átomo de hidrógeno y las otras tres son alquilo) es la impureza principal observada durante la síntesis de los compuestos de fórmula (I). Las otras impurezas desalquiladas que tienen una estructura menos similar tienen propiedades diferentes y, si se forman, son eliminadas en el transcurso del procedimiento.

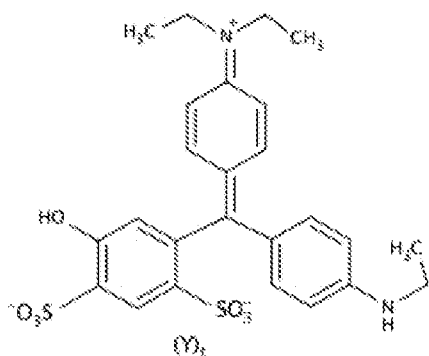
En particular, el procedimiento de la invención permite obtener una composición que comprende al menos un 98.0 % del compuesto que responde a la fórmula (I) y menos de un 1 % de impureza monodesalquilada (compuesto de fórmula (I) en el que uno de los grupos R4 y R5 representa H), habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

Aún más preferentemente, el procedimiento de la invención permite obtener una composición que comprende al menos un 99.0 % del compuesto que responde a la fórmula (I) y menos de un 0,5 % de impureza monodesalquilada, no estando presente ninguna otra impureza en una cantidad superior al 0.15 %.

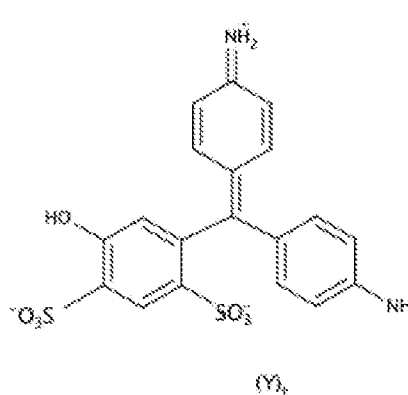
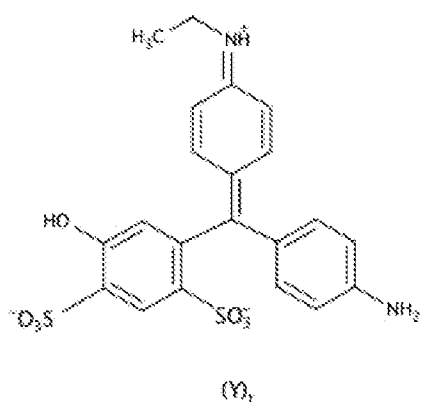
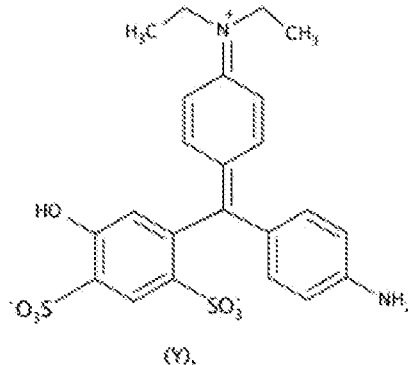
En particular, el procedimiento de la invención permite obtener una composición que comprende al menos un 98.0 % del compuesto que responde a la fórmula (IA) y menos de un 1 % de impureza monodesalquilada (compuesto en el que uno de los grupos R4 y R5 representa H), habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm. Aún más preferentemente, el procedimiento de la invención permite obtener una composición que comprende al menos un 99.0 % del compuesto que responde a la fórmula (IA) y menos de un 0,5 % de impureza monodesalquilada, no estando presente ninguna otra impureza en una cantidad superior al 0.15 %.

De manera ventajosa, el procedimiento permite obtener una composición en la que no hay presente ninguna impureza aparte del derivado monodesalquilado en una cantidad superior al 0.1 %, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

En el caso del azul patente, las impurezas de tipo desetilado se representan mediante las fórmulas siguientes en las que Y y t tienen la misma definición que antes (en particular $Y = Na^+$ y $t = 1$; $Y = Ca^{2+}$ y $t = \frac{1}{2}$):



Impureza mono desetilada



En la práctica, la impureza mono-desetilada (una sola función etilo sustituida con un átomo de hidrógeno) es la principal impureza observada durante la síntesis del azul patente. Las otras impurezas desetiladas que tienen una estructura menos similar tienen propiedades diferentes y, si se forman, son eliminadas en el transcurso del procedimiento.

- 5 En particular, el procedimiento de la invención permite obtener una composición que comprende al menos un 98.0 % del compuesto sal del 4-[[4-(dietilamino)fenil]-(4-dietilazaniolidenciclohexa-2,5-dien-1-iliden)metil]-6-hidroxibenceno-1,3-disulfonato (azul patente) y menos de un 1 % de impureza monodesetilada, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

- 10 Aún más preferentemente, el procedimiento de la invención permite obtener una composición que comprende al menos un 99.0 % del compuesto sal del 4-[[4-(dietilamino)fenil]-(4-dietilazaniolidenciclohexa-2,5-dien-1-iliden)metil]-6-hidroxibenceno-1,3-disulfonato y menos de un 0.5 % de impureza monodesetilada, no estando presente ninguna otra impureza en una cantidad superior al 0.15 %, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

- 15 De manera ventajosa, el procedimiento permite obtener una composición en la que no hay presente ninguna impureza aparte del derivado monodesetilado en una cantidad superior al 0.1 %, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

- 20 En particular, el procedimiento de la invención permite obtener una composición que comprende al menos un 98.0 % del compuesto sal de sodio del 2-[[4-(dietilamino)fenil]-(4-dietilazaniolidenciclohexa-2,5-dien-1-iliden)metil]benceno-1,4-disulfonato (azul de isosulfán) y menos de un 1 % de impureza monodesetilada, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

Aún más preferentemente, el procedimiento de la invención permite obtener una composición que comprende al menos un 99.0 % del compuesto sal del N-[4-[[4-(dietilamino)fenil](2,5-disulfofenil)metilen]-2,5-ciclohexadien-1-iliden)]-N-etiletanaminio y menos de un 0.5 % de impureza monodesetilada, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

- 25 De manera ventajosa, el procedimiento de la invención permite obtener una composición en la que no hay presente ninguna impureza aparte del derivado monodesetilado en una cantidad superior al 0.1 %, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

El procedimiento de la invención permite obtener igualmente composiciones que comprenden un compuesto que responde a la fórmula (I), en particular los compuestos (IA), más en particular los compuestos de fórmulas (VI), (VII) y (VIII), que comprenden muy poco o nada de impurezas metálicas. Ni que decir tiene que las sales de metales alcalinos y alcalino-térreos que pueden corresponder a Y no se consideran impurezas metálicas en el sentido de la invención.

5 Específicamente, el procedimiento de la invención permite obtener composiciones que comprenden un compuesto que responde a la fórmula (I), en particular los compuestos (IA), más en particular los compuestos de fórmulas (VI), (VII) y (VIII), y que comprenden menos de 200 ppm de contaminantes metálicos, de manera ventajosa menos de 100 ppm de contaminantes metálicos, aún mejor, menos de 50 ppm de contaminantes metálicos y, de manera aún más ventajosa, menos de 20 ppm de contaminantes metálicos.

10 El contenido de contaminantes metálicos se refiere al contenido de metales medido siguiendo el método ICP/MS (Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo).

Por "contaminantes metálicos" se entiende todos los metales de la clasificación periódica de los elementos, con exclusión de los metales alcalinos y alcalino-térreos así como sus derivados orgánicos e inorgánicos. Más en particular, por "contaminantes metálicos" se entiende los metales denominados "pesados" y, en particular: Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Sn, Mn, Hg, Mo, Ni, Pb, Zn, así como sus derivados orgánicos e inorgánicos.

15

El procedimiento de la invención permite obtener igualmente una forma cristalina del azul patente, sal de sodio, de fórmula (VI), caracterizada por el diagrama de difracción de rayos X de polvo siguiente, medido en un difractómetro (ánodo de cobre) y expresado en términos de las distancias inter-reticulares d, el ángulo de Bragg 2-theta, la intensidad y la intensidad relativa (expresada en porcentaje con respecto a la línea más intensa):

Ángulo 2-theta (°)	Distancia inter-reticular d (Å)	I (cuentas)	I rel (%)
5.6	15.80	500	61.5
6.2	14.29	375	46.2
9.4	9.39	187.5	23.1
10.9	8.12	62.5	7.7
11.5	7.71	125	15.4
12.1	7.33	156.25	19.2
14.4	6.14	343.75	42.3
15.6	5.68	250	30.8
16.5	5.38	375	46.2
17.6	5.02	187.5	23.1
18.2	4.86	375	46.2
19.4	4.57	812.5	100.0
20.0	4.43	500	61.5
22.9	3.87	187.5	23.1
24.7	3.60	250	30.8

20 Debe entenderse que los valores de la intensidad (I) y la intensidad relativa (I rel) de los picos anteriores pueden variar en +/- un 15 %.

En la tabla anterior, todas las líneas se suponen de orden 1 (n = 1 en la ley de Bragg).

Medicamento:

25 La invención se refiere también a un procedimiento de fabricación de un medicamento o de un producto de diagnóstico que comprende la fabricación del compuesto que responde a la fórmula (I), en particular los compuestos (IA), más en particular los compuestos de fórmulas (VI), (VII) y (VIII), preferentemente el azul patente, sal de sodio, mediante el procedimiento descrito anteriormente y la introducción del compuesto que responde a la fórmula (I) en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Dicho medicamento puede estar en cualquier forma adecuada para su uso en las aplicaciones buscadas.

En particular, se pueden mencionar: una forma de comprimido o de cápsula que comprende de 1 a 500 mg del compuesto que responde a la fórmula (I), una forma de solución acuosa que comprende el compuesto que responde a la fórmula (I), preferentemente el azul patente, en particular el azul patente, sal de sodio, en una concentración que varía de un 0.05 % a un 2 % en g/l. Específicamente, una formulación preferente consiste en una solución acuosa inyectable.

Tales composiciones comprenden, además del compuesto que responde a la fórmula (I), excipientes bien conocidos por el experto en la técnica tales como, por ejemplo, ácido cítrico y/o citratos, un tampón fosfato, polímeros, derivados de celulosa o lípidos.

En las aplicaciones médicas, el compuesto que responde a la fórmula (I), preferentemente el azul patente, cuando se obtiene mediante el procedimiento de la invención, presenta la ventaja de una pureza elevada, lo que evita introducir en el organismo materiales sin utilidad para la aplicación.

La eficacia del procedimiento de la invención permite acceder a un producto de pureza elevada con costes reducidos siguiendo un método fácilmente reproducible y aplicable a escala industrial.

Además, el procedimiento de la invención permite acceder a un producto de estructura cristalina dotado, por tanto, de una buena estabilidad.

Tal composición es particularmente interesante para un uso como agente de contraste para la detección de vasos linfáticos y regiones arteriales y como agente de diagnóstico del cáncer. Específicamente, la composición de la invención se puede usar en un procedimiento denominado "mapeo de ganglios linfáticos centinela". Este procedimiento se refiere muy particularmente al cáncer de mama, al cáncer de colon y al melanoma.

En particular, la composición es particularmente interesante para la detección del ganglio centinela antes de la biopsia en pacientes con un cáncer de mama operable y en el mapeo preoperatorio de ganglios linfáticos centinela en pacientes que padecen cáncer de colon. Se usa también en la linfoscintigrafía preoperatoria para la biopsia de ganglios linfáticos centinela del melanoma.

Las diferentes realizaciones, variantes, preferencias y ventajas descritas anteriormente para cada uno de los objetos de la invención se aplican a todos los objetos de la invención y pueden considerarse por separado o combinados.

La invención viene ilustrada por los ejemplos dados a título no limitante.

Figuras

Figura 1: la figura 1 es un gráfico que representa los diagramas de difracción de rayos X de tres muestras de azul patente, sal de sodio, obtenidas de acuerdo con el procedimiento de la invención (designadas como Inv 1, Inv 2 e Inv 3). Son muestras obtenidas de tres lotes de producción distintos. En abscisas: el ángulo 2-theta en grados; en ordenadas: la intensidad en unidades arbitrarias de intensidad.

Figura 2: la figura 2 es un gráfico que representa los diagramas de difracción de rayos X de seis muestras de azul patente, sal de sodio, disponibles comercialmente (designadas como C 1 a C 6). En esta figura se dan igualmente los diagramas de difracción de rayos X de tres muestras de azul patente, sal de sodio, obtenidas de acuerdo con el procedimiento de la invención (designadas como Inv 1 a Inv 3) e ilustradas en la figura 1. En abscisas: el ángulo 2-theta en grados; en ordenadas: la intensidad en unidades arbitrarias de intensidad

Ejemplos:

En estos ejemplos, las partes y los porcentajes se expresan en peso, a menos que se indique lo contrario.

Material y métodos

Análisis HPLC:

Columna: AGILENT Poroshell 120 SB-C18 150 x 4.6 - 2.7 μ (Ref. 683975-902)

Fase móvil A: Tampón de formiato de amonio/ácido fórmico 10 mM (pH = 4.1 $\pm$ 0.1)

Fase móvil B: Acetonitrilo

Caudal: 1 ml/min

Temperatura: 30 °C

Volumen de inyección: 5 μ l

Gradiente: Tiempo de análisis de 40 min + 7 min de estabilización tras la operación

[Tabla 1]

Tiempo	A %	B %
0.0	90	10
4.0	90	10
12	85	15
30	10	90
40.0	10	90
40.1	90	10
47.0	90	10

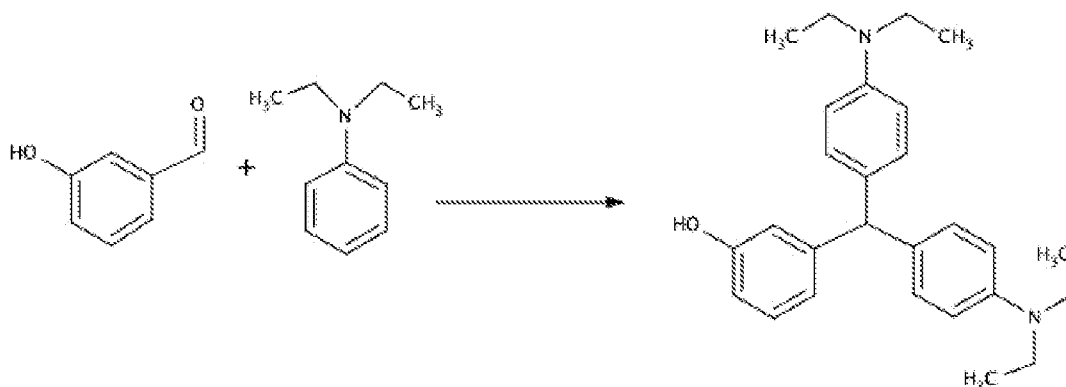
Detector: UV-VIS 230 nm y MS Electropulverización (modo negativo)

Diagrama de difracción de rayos X de polvo: El diagrama de difracción de rayos X de polvo se efectuó en las condiciones experimentales siguientes:

- 5 - Difractómetro X'Pert Pro MPD Panalytical (DY2764),
 Ánodo de cobre ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$), voltaje: 40 kV, intensidad: 40 mA
 - Montaje θ - θ
 - Dominio de medición: 2° a 50°
 - Incremento entre cada medición: 0.026°
- 10 - Tiempo de medición por paso: 20.40 s,
 - Detector PIXcel RTMS (PHD 25.5-7 %, longitud activa 3.347°)

Síntesis del azul patente:

Etapas 1: Preparación del clorhidrato de 3-(bis(4-(dietilamino)fenil)metil)fenol:



- 15 Se añade *N,N*-dietilanilina (254.0 ml, 1.597 mol, 1.95 eq) a una mezcla de 3-hidroxibenzaldehído (100 g, 0.819 mol, 1.00 eq) y urea (24.6 g, 0.409 mol, 0.50 eq) en 100 ml de etanol.
 Se enfría el medio de reacción a 0°C y se vierte una solución acuosa de HCl al 37 % (136.5 ml, 1.638 mol, 2.00 eq) manteniendo el medio a una temperatura inferior a 20°C .
 A continuación, se calienta el medio de reacción a reflujo durante 20 h.
- 20 Se enfría el medio de reacción a 60°C y después se vierten 800 ml de una solución acuosa de HCl 2 N.

Se enfría el medio de reacción a 0 °C y se mantiene en agitación durante 5 horas.

Se filtra el precipitado obtenido y el sólido se lava con 500 ml de una mezcla acetona/HCl acuoso 2 N (9/1) y después con 500 ml de acetona.

El sólido se seca en estufa ventilada (50 °C).

- 5 Se obtienen 303 g de diclorhidrato de 3-(bis(4-(dietilamino)fenil)metil)fenol en forma de un sólido blanco.

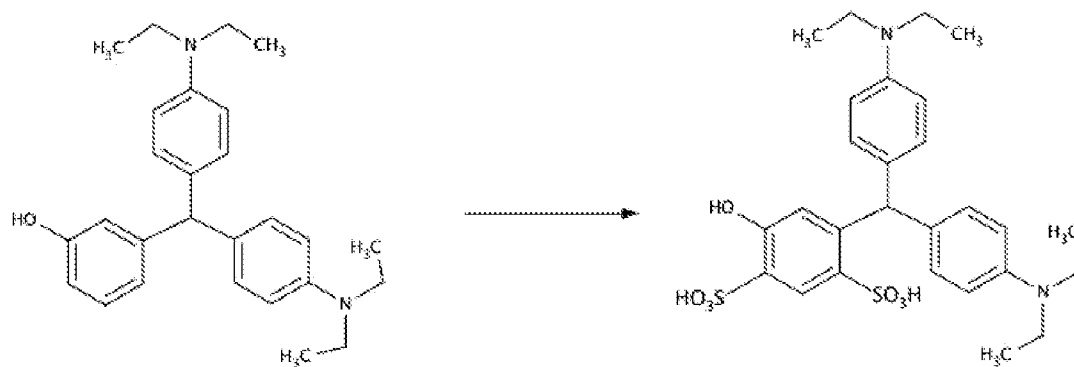
Pureza HPLC: 97.2 %

Rendimiento: 78 %

¹H RMN (300 MHz, D₂O) : δ 7.39 (4H, dd, J=8.7 Hz), 7.33 (4H, dd, J=8.7 Hz), 7.22 (1H, t, J=7.9 Hz), 6.80 (1H, ddd), 6.71 (1H, dd, J=7.8 Hz), 6.67 (1H, t, J=2.0 Hz), 5.67 (1H, s), 3.60 (8H, q, J=6.9 Hz), 1.06 (12H, t, J=7.2 Hz)

- 10 ¹³C RMN (75 MHz, D₂O) : δ 156.0, 145.5, 144.3, 135.1, 131.2, 130.3, 122.4, 121.4, 116.2, 114.0, 54.9, 53.7, 9.7

Etapa 2: Preparación del ácido 4-(bis(4-(dietilamino)fenil)metil)-6-hidroxibenceno-1,3-disulfónico:



Se añade el diclorhidrato de 3-(bis(4-(dietilamino)fenil)metil)fenol (150 g, 0.315 mol, 1 eq.) en 600 ml de H₂SO₄.

Se calienta a 90 °C durante 3 h y después se deja 16 h en agitación a temperatura ambiente.

- 15 Se diluye el medio de reacción con 15 l de una mezcla de etanol/éter isopropílico (75/25) manteniendo una temperatura inferior a 20 °C.

Se filtra el precipitado obtenido y se lava el sólido con 2 x 600 ml de éter isopropílico.

El sólido se seca en estufa ventilada (50 °C).

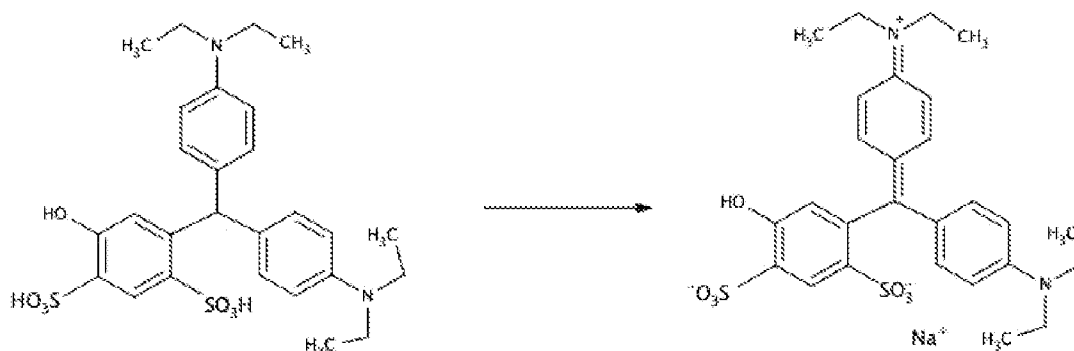
- 20 Se obtienen 183 g de ácido 4-(bis(4-(dietilamino)fenil)metil)-6-hidroxibenceno-1,3-disulfónico en forma de un sólido blanco.

Pureza HPLC: 98.8 %

Rendimiento: cuantitativo

¹H RMN (300 MHz, DMSO) : δ 10.91 (2H, s a), 8.08 (1H, s), 7.52 (4H, dd, J=8.5 Hz), 7.38 (4H, dd, J=8.6 Hz), 6.95 (1H, s), 6.54 (1H, s), 4.75 (1H, s a), 3.54 (8H, q, J=7.1 Hz), 0.92 (12H, t, J=6.7 Hz)

- 25 ¹³C RMN (75 MHz, DMSO) : δ 153.6, 145.2, 143.0, 137.1, 135.5, 130.8, 128.0, 126.7, 122.3, 118.4, 52.5, 49.2, 10.1

Etapas 3: Preparación del azul patente:

Se añade ácido 4-(bis(4-(diethylamino)fenil)metil)-6-hidroxibenceno-1,3-disulfónico (1.2 kg, 2.1 mol, 1 eq.) en 6 l de *N*-metilpirrolidona.

- 5 Se calienta el medio de reacción a 95 °C y se vierte 1,4-benzoquinona (346 g, 3.2 mol, 1.5 eq.) en solución en 1.2 l de *N*-metilpirrolidona.

El calentamiento se continúa durante 3 horas y después se deja enfriar a temperatura ambiente.

Se diluye el medio de reacción con 18 l de acetona.

El precipitado obtenido se filtra y se lava el sólido con 2 x 6 l de acetona.

Se recoge el sólido en 6 l de una mezcla H₂O/metanol (80/20).

- 10 Se calienta 1 h a reflujo y después se deja enfriar a temperatura ambiente.

Se filtra el sólido y se lava con 2 x 6 l de acetona. Se recoge el sólido en 15 l de metanol en agitación y se vierte una solución acuosa de carbonato de sodio al 22 % (256 ml).

Se deja en agitación durante 3 horas y después se concentra.

Se recoge en 10 l de isopropanol.

- 15 Se recupera el sólido mediante filtración y se lava con 2 x 4 l de acetona

El sólido se seca en estufa ventilada (50 °C).

Se obtienen 766 g de la sal de sodio del 4-[[4-(diethylamino)fenil]-(4-diethylazaniolidenciclohexa-2,5-dien-1-iliden)metil]-6-hidroxibenceno-1,3-disulfonato (azul patente) en forma de un sólido violeta.

Pureza HPLC: 99.3 %

- 20 Rendimiento: 61 %

¹H RMN (300 MHz, D₂O) : δ 8.29 (1H, s), 7.24 (4H, dd, J=8.8 Hz), 6.72 (4H, dd, J=8.9 Hz), 6.41 (1H, s), 3.49 (8H, q, J=5.8 Hz), 1.12 (12H, t, J=5.9 Hz)

¹³C RMN (75 MHz, D₂O) : δ 170.1, 156.6, 154.9, 141.6, 139.7, 133.2, 128.9, 128.2, 125.6, 121.2, 113.5, 45.8, 12.2

Variante de la etapa 3:

- 25 Para la etapa 3, se siguió el protocolo descrito anteriormente variando el compuesto oxidante. Este compuesto oxidante podía ser otra quinona u otro reactivo oxidante.

Los resultados obtenidos se dan en las tablas 2 y 3 siguientes

[Tabla 2]

Quinona (de acuerdo con la invención)	Tasa de conversión etapa 3 (*)	Compuesto monodesetilado % (*)
1,4-benzoquinona	93%	<1%
3,5-di- <i>tert</i> -butil-1,2-benzoquinona	93%	2.6%

2,5-dimetil-1,4-benzoquinona	70%	1.7%
2-metil-1,4-benzoquinona	52%	2.1%
2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona	31%	2.4%
Tetracloro-1,4-benzoquinona	90%	6.8%
Tetracloro-1,2-benzoquinona	65%	4%
2-cloro-1,4-benzoquinona	92%	3.7%

(*) medido de acuerdo con el método de HPLC descrito anteriormente

Se constata que determinadas quinonas permiten obtener tasas de conversión elevadas y llevan al mismo tiempo a un producto que comprende poca impureza monodesetilada.

[Tabla 3]

Oxidante (comparativo)	Tasa de conversión etapa 3 (*)	Compuesto monodesetilado % (*)
KMnO ₄	95%	5%
NaMnO ₄	78%	7%
Nitrato de amonio y cerio(IV)	41%	4%
MnO ₂	38%	5%
FeCl ₃	-	-

5 (*) medido de acuerdo con el método de HPLC descrito anteriormente

Se constata que solo algunos reactivos oxidantes distintos a las quinonas permiten transformar el compuesto de fórmula (V) en azul patente. Son pocos los que permiten obtener un contenido de desetilo inferior al 5 % o con una tasa de conversión poco elevada. Además, estos reactivos son a base de metales pesados, cuyo uso es poco recomendado, tanto por razones ecológicas como por el deseo de evitar una contaminación del producto final.

10 **Difractograma de rayos X de polvo:**

El perfil de difracción de rayos X de polvo (ángulos de difracción) del azul patente, sal de sodio, obtenido en el ejemplo 3 viene dado por las líneas significativas dadas en la tabla 4 con su intensidad y su intensidad relativa (expresada como porcentaje con respecto a la línea más intensa).

15 La medición se llevó a cabo en tres lotes distintos que presentan todos sustancialmente el mismo perfil que el representado en la figura 1. Los lotes Inv 1, Inv 2 e Inv 3 se prepararon a escala piloto (cantidad preparada de 3 a 6 kg). Esta medición confirma que las características cristalinas del producto son constantes al final del procedimiento de preparación. Igualmente confirma la ausencia de NaCl (véanse los picos característicos en la figura 2).

Ángulo 2-theta (°)	Distancia inter-reticular d (Å)	I (cuentas)	I rel (%)
5.6	15.80	500	61.5
6.2	14.29	375	46.2
9.4	9.39	187.5	23.1
10.9	8.12	62.5	7.7
11.5	7.71	125	15.4
12.1	7.33	156.25	19.2
14.4	6.14	343.75	42.3
15.6	5.68	250	30.8
16.5	5.38	375	46.2

17.6	5.02	187.5	23.1
18.2	4.86	375	46.2
19.4	4.57	812.5	100.0
20.0	4.43	500	61.5
22.9	3.87	187.5	23.1
24.7	3.60	250	30.8

Tabla 4

Comparación con productos azul patente, sal de sodio, comercializados:

Se analizaron los productos comerciales de los siguientes productores (Tabla 5) mediante el mismo método de difracción de rayos X:

Productor	Referencia comercial	Referencia en la figura 2
ACROS	339330050	C1
Santa Cruz Biotechnology	SC250653	C2
TCI	A1242	C3
Combi Blocks	HA8936	C4
Biosynth	FC1571	C5
Colorey	FG18191327	C6

5 Tabla 5: azul patente, sal de sodio, comercializado

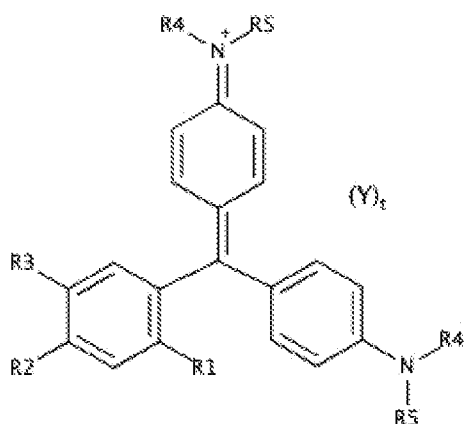
Los resultados se dan en la figura 2. Se constata que la mayoría de los picos no se corresponden con los del azul patente, sal de sodio, de la invención que se dan en la tabla 4 y en la figura 1. Esta constatación permite concluir que el azul patente, sal de sodio, de la invención es una forma cristalina nueva con respecto a las formas cristalinas ya conocidas. En la figura 2 se observa igualmente la presencia de picos característicos del NaCl, específicamente los picos en los ángulos 2-theta = 32 y 45.5, lo que permite constatar la presencia de NaCl en todas las muestras de azul patente disponibles comercialmente, pero no en el azul patente, sal de sodio, de acuerdo con la invención.

10

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.

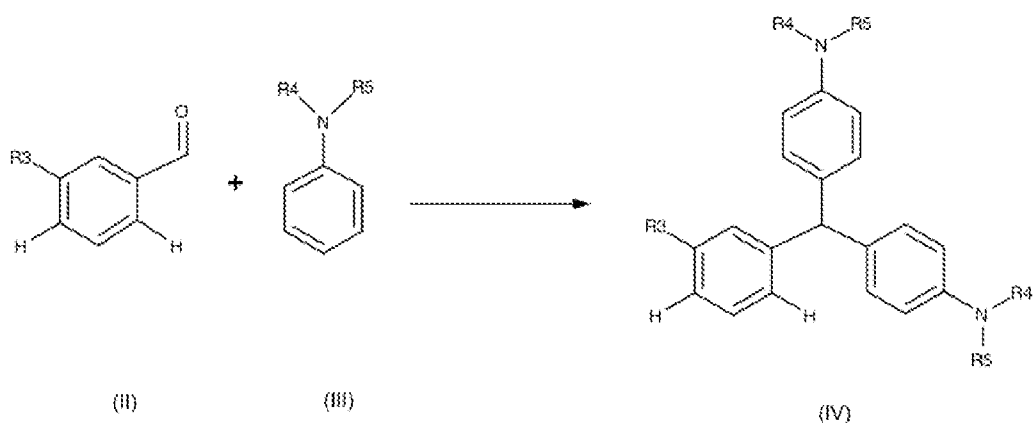
REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de síntesis de un compuesto que responde a la fórmula (I)



en la que

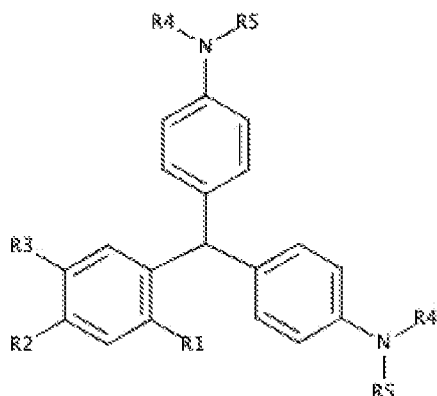
- 5 R1, R2 representan, de manera independiente entre sí, un grupo seleccionado entre: $-SO_3H$, $-SO_3^-$,
R3 representa un grupo seleccionado entre: $-OH$, $-OR'$, $-OCOOR'$, con R' que representa un grupo alquilo C_1 - C_8 , alquenilo C_1 - C_8 , fenilo, bencilo,
R4, R5, idénticos o diferentes, representan un grupo seleccionado entre: alquilo C_1 - C_8 , alquenilo C_1 - C_8 , fenilo, bencilo, entendiéndose que dos grupos R4, R5 en el mismo átomo de nitrógeno pueden formar juntos un
10 anillo que incluye este átomo de nitrógeno,
Y representa un catión orgánico o inorgánico seleccionado entre las sales farmacéuticamente aceptables;
t representa un número $t = 0; 1/2; 1$;
comprendiendo este procedimiento al menos las etapas siguientes:
15 a) condensación del compuesto benzaldehído de fórmula (II) con la dialquilanilina de fórmula (III) para dar el trifenilmetano de fórmula (IV),



en las que

R3, R4 R5 tienen la misma definición que en la fórmula (I)

- b) tratamiento del trifenilmetano de fórmula (IV) con ácido sulfúrico para formar el trifenilmetano sulfonado de fórmula (V)



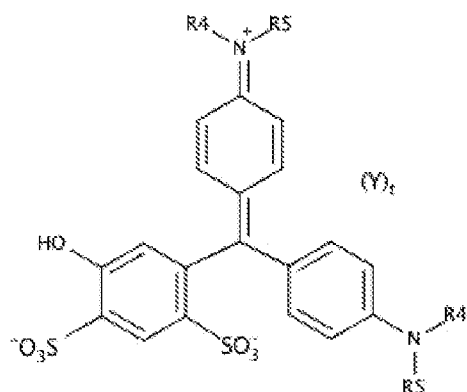
en la que R1, R2, R3, R4 y R5 tienen la misma definición que en la fórmula (I)

c) oxidación del triphenilmetano sulfonado de fórmula (V) con una quinona.

5

2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende, después de la etapa c), una etapa d) de salificación.

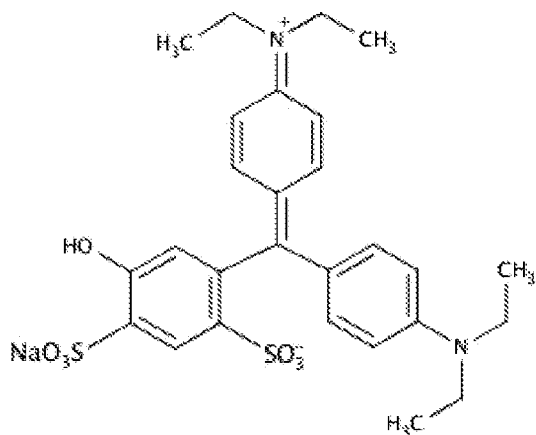
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el compuesto que responde a la fórmula (I) se selecciona entre los que responden a la fórmula (IA)



10

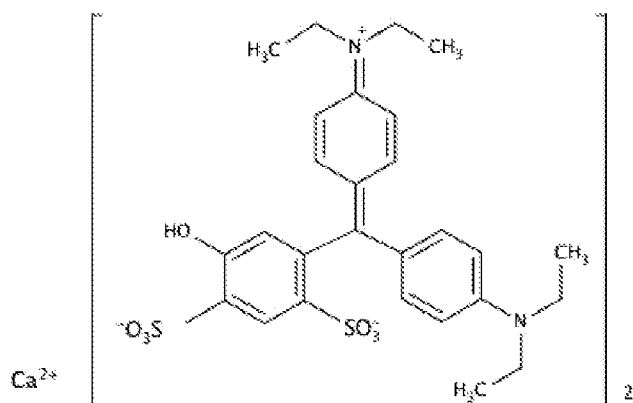
4. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el compuesto que responde a la fórmula (IA) se selecciona entre:

(VI)



azul patente, sal de sodio

(VII)



azul patente, sal de calcio.

5. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa b) el medio de reacción se lleva a una temperatura que varía de 70 °C a 120 °C durante un periodo que varía de 1 a 5 h.

5 6. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al final de la etapa b) se precipita el trifenilmetano sulfonado de fórmula (V).

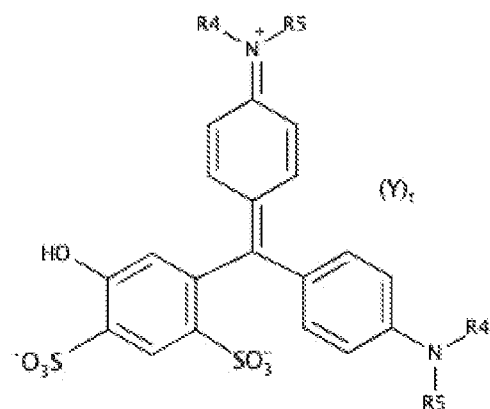
7. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa c) la quinona se selecciona entre 1,4-benzoquinona, 1,2-benzoquinona, dialquil(C₁-C₄) 1,4-benzoquinona, dialquil(C₁-C₄) 1,2-benzoquinona, monoalquil(C₁-C₄) 1,4-benzoquinona, monoalquil(C₁-C₄) 1,2-benzoquinona, preferentemente 1,4-benzoquinona.

8. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa c) el tratamiento se lleva a cabo en un disolvente prótico apolar, a una temperatura que varía de 40 a 120 °C.

9. Uso del procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para obtener una composición que comprende al menos un 99.0 % del compuesto que responde a la fórmula (I), habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

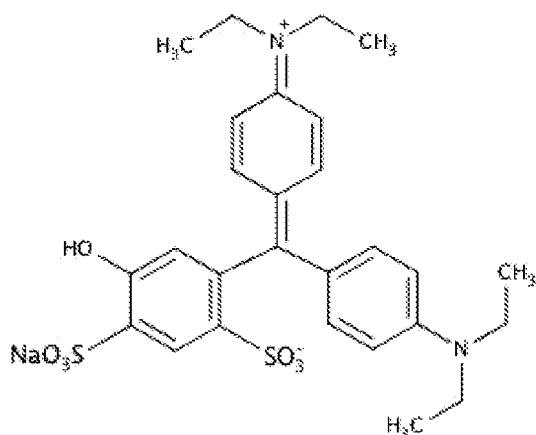
10. Uso de acuerdo con la reivindicación 9, para obtener una composición que comprende al menos un 99.0 % del compuesto que responde a la fórmula (IA), habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm

(IA)



11. Uso de acuerdo con la reivindicación 10, para producir una composición en la que no hay presente ninguna impureza aparte del derivado monodesalquilado en una cantidad superior al 0.1 %, habiendo medido el % mediante cromatografía líquida de alta resolución con una detección a 230 nm.

12. Uso del procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para obtener una forma cristalina del compuesto azul patente, sal de sodio, que responde a la fórmula (VI),



caracterizada por el diagrama de difracción de rayos X de polvo siguiente, medido en un difractómetro y expresado en términos de las distancias inter-reticulares d , el ángulo de Bragg 2-theta, la intensidad y la intensidad relativa (expresada en porcentaje con respecto a la línea más intensa):

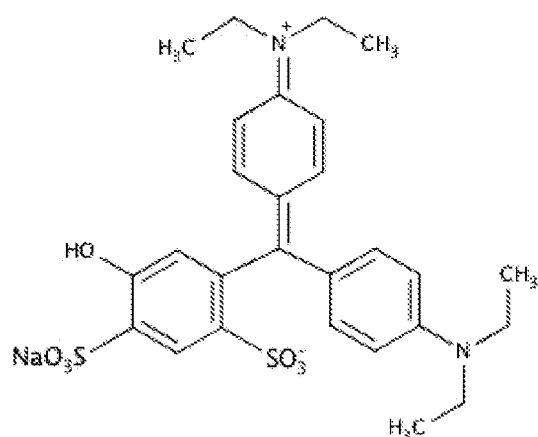
Ángulo 2-theta (°)	Distancia inter-reticular d (Å)	I (cuentas)	I rel (%)
5.6	15.80	500	61.5
6.2	14.29	375	46.2
9.4	9.39	187.5	23.1
10.9	8.12	62.5	7.7
11.5	7.71	125	15.4
12.1	7.33	156.25	19.2
14.4	6.14	343.75	42.3
15.6	5.68	250	30.8
16.5	5.38	375	46.2
17.6	5.02	187.5	23.1
18.2	4.86	375	46.2
19.4	4.57	812.5	100.0
20.0	4.43	500	61.5
22.9	3.87	187.5	23.1
24.7	3.60	250	30.8

5 entendiéndose que los valores de la intensidad (I) y de la intensidad relativa (I rel) de los picos anteriores pueden variar en +/- un 15 %.

10 13. Procedimiento de fabricación de un medicamento o de un producto de diagnóstico que comprende la fabricación del compuesto que responde a la fórmula (I), mediante el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y la introducción del compuesto que responde a la fórmula (I), en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

14. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que el compuesto que responde a la fórmula (I) es el azul patente.

15. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el compuesto que responde a la fórmula (I) es una forma cristalina del compuesto azul patente, sal de sodio, que responde a la fórmula (VI),



caracterizada por el diagrama de difracción de rayos X de polvo siguiente, medido en un difractómetro y expresado en términos de las distancias inter-reticulares d , el ángulo de Bragg 2-theta, la intensidad y la intensidad relativa (expresada en porcentaje con respecto a la línea más intensa):

Ángulo 2-theta (°)	Distancia inter-reticular d (Å)	I (cuentas)	I rel (%)
5.6	15.80	500	61.5
6.2	14.29	375	46.2
9.4	9.39	187.5	23.1
10.9	8.12	62.5	7.7
11.5	7.71	125	15.4
12.1	7.33	156.25	19.2
14.4	6.14	343.75	42.3
15.6	5.68	250	30.8
16.5	5.38	375	46.2
17.6	5.02	187.5	23.1
18.2	4.86	375	46.2
19.4	4.57	812.5	100.0
20.0	4.43	500	61.5
22.9	3.87	187.5	23.1
24.7	3.60	250	30.8

entendiéndose que los valores de la intensidad (I) y de la intensidad relativa (I rel) de los picos anteriores pueden variar en +/- un 15 %.

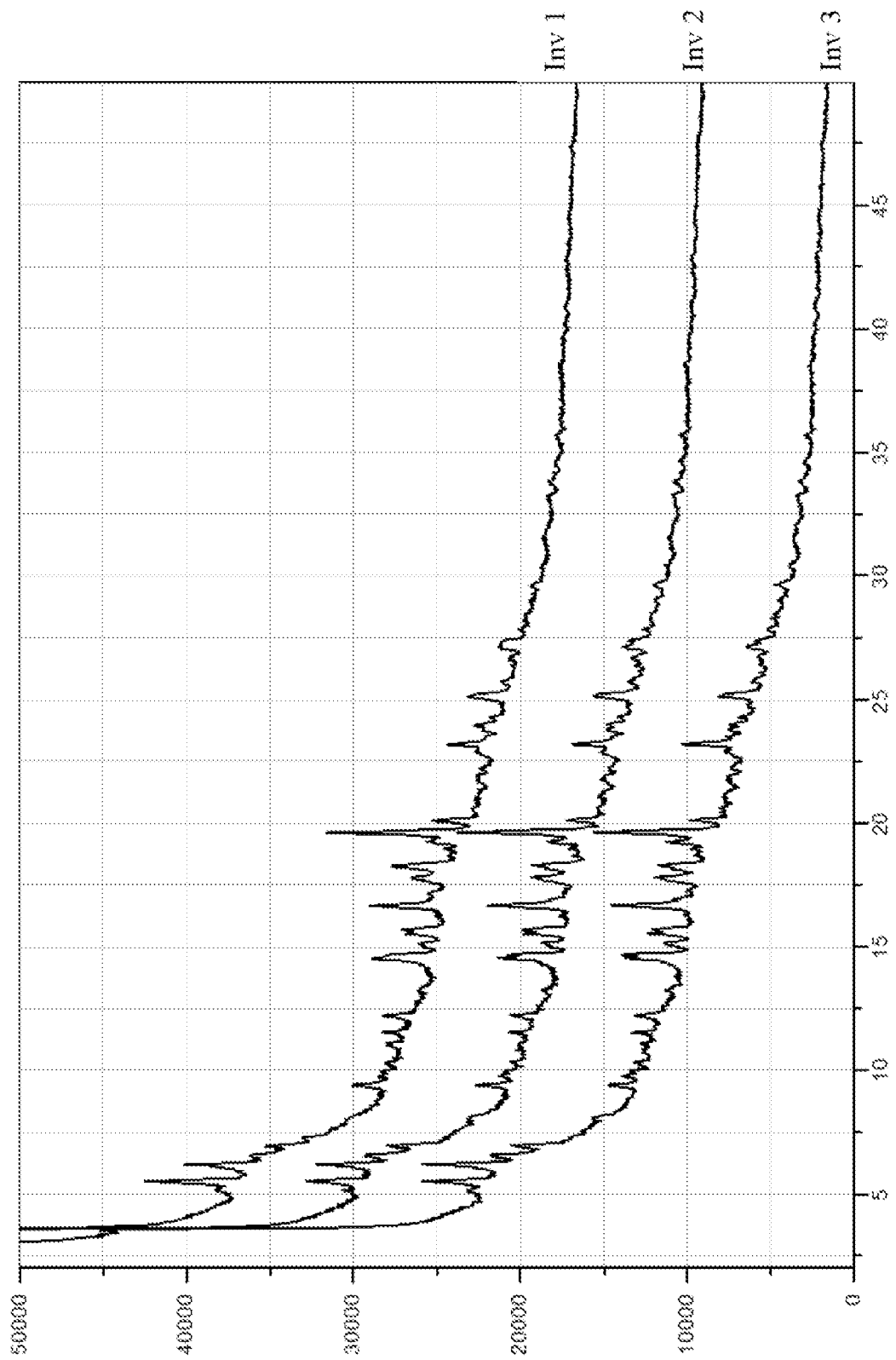


Figure 1

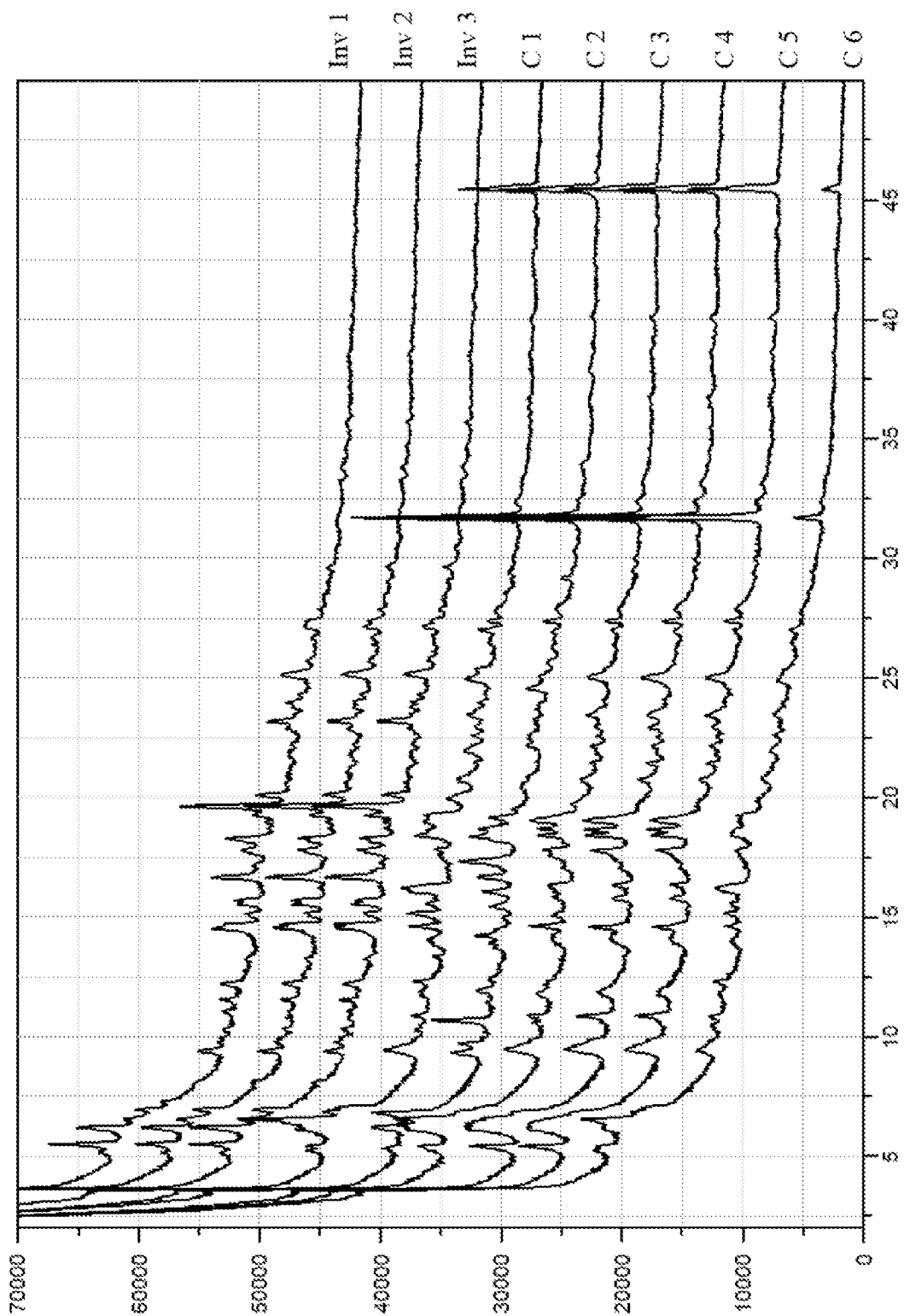


Figure 2