

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 972 303**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61F 13/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.04.2020** **PCT/US2020/028785**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.11.2020** **WO20226883**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.04.2020** **E 20724678 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2023** **EP 3966214**

54 Título: **Síntesis de coelenterazina**

30 Prioridad:

08.05.2019 US 201962845189 P

28.06.2019 US 201916457788

28.06.2019 US 201916457732

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.06.2024

73 Titular/es:

INTERNATIONAL PAPER COMPANY (100.0%)

6400 Poplar Avenue

Memphis, TN 38197, US

72 Inventor/es:

DUVVURU, RAJAGOPALA REDDY

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 972 303 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

Síntesis de coelenterazina

La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud US-16/851.962, presentada el 17 de abril de 2020, que reivindica el beneficio de la solicitud US-16/457.788, presentada el 28 de junio de 2019, que reivindica el beneficio de la solicitud provisional US-62/845.189, presentada el 8 de mayo de 2019, y la solicitud provisional US-62/692.485, presentada el 29 de junio de 2018; y que también reivindica el beneficio de la solicitud US-16/457.732, presentada el 28 de junio de 2019, que reivindica el beneficio del beneficio de la solicitud provisional US-62/753.024, presentada el 30 de octubre de 2018, y la solicitud provisional US-62/692.502, presentada el 29 de junio de 2018.

Antecedentes

Los productos absorbentes de higiene personal, tales como pañales para bebés, almohadillas para adultos incontinentes y productos de higiene femenina, contienen típicamente un núcleo absorbente de fluidos. Muchos artículos absorbentes incluyen el núcleo absorbente de fluidos dispuesto entre una lámina superior y una lámina posterior. La lámina superior puede formarse a partir de un material permeable a fluidos adaptado para fomentar la transferencia de fluido al núcleo absorbente, tal como en una descarga de líquido, normalmente con una retención mínima de fluido en la lámina superior. En el núcleo absorbente se utiliza habitualmente la pulpa de pelusa del pino meridional estadounidense, generalmente en forma de matriz fibrosa, y a veces junto con un polímero superabsorbente (SAP) disperso en la matriz fibrosa. Esta pulpa de pelusa está reconocida en todo el mundo como la fibra preferida para productos absorbentes debido a factores tales como la elevada longitud de la fibra de la pulpa de pelusa, la tosquedad de la fibra y su relativa facilidad de procesamiento desde una lámina de pasta tendida en húmedo y secada para formar una banda tendida en aire. La materia prima de este tipo de pulpa de pelusa celulósica es el pino meridional (p. ej., el pino Loblolly, *Pinus taeda* L.). La materia prima es renovable y la pasta es fácilmente biodegradable. En comparación con el SAP, estas fibras son baratas por unidad de masa, pero suelen ser más caras por unidad de líquido retenido. Estas fibras de pulpa de pelusa absorben principalmente dentro de los intersticios entre las fibras. Por esta razón, una matriz fibrosa libera fácilmente el líquido adquirido al aplicar presión. La tendencia a liberar líquido adquirido puede dar como resultado una humedad significativa de la piel durante el uso de un producto absorbente que incluye un núcleo formado exclusivamente a partir de fibras celulósicas. Dichos productos tienden además a perder el líquido adquirido porque el líquido no se retiene eficazmente en dicho núcleo absorbente fibroso.

Los SAP son materiales absorbentes hinchables en agua, generalmente insolubles en agua que tienen una alta capacidad absorbente de fluidos. Se usan en artículos absorbentes como pañales para bebés o productos para adultos incontinentes para absorber y contener fluidos corporales. El SAP, tras la absorción de fluidos, se hincha y se convierte en un gel que contiene dichos fluidos en cantidad superior a su peso. Los SAP de uso común se derivan principalmente del ácido acrílico. Los polímeros a base de ácido acrílico también comprenden una parte significativa de la estructura de costes de pañales y almohadillas de incontinencia. Los SAP están diseñados para tener una elevada resistencia del gel (como lo demuestra la alta absorbencia bajo carga o AUL). La elevada resistencia del gel (al hincharse) de las partículas de SAP usadas actualmente ayuda a retener un espacio vacío significativo entre las partículas, lo que es útil para la rápida absorción de fluidos. Sin embargo, este elevado “volumen vacío” da como resultado simultáneamente una cantidad significativa de líquido intersticial (entre partículas) en el producto en el estado saturado. Cuando hay líquido intersticial, el valor de “rehumectación” o la “sensación de humedad” de un producto absorbente se ve comprometido.

Algunos artículos absorbentes, tales como pañales o almohadillas para adultos incontinentes, también incluyen una capa de adquisición y distribución (ADL) para la recogida y distribución uniforme y oportuna del fluido procedente de una descarga de fluido al núcleo absorbente. Se coloca generalmente una ADL entre la lámina superior y el núcleo absorbente, que normalmente toma la forma de una tela de material compuesto siendo lo más probable que el tercio superior de la tela tenga baja densidad (fibra de denier superior) con huecos relativamente grandes y mayor volumen de vacío para la adquisición eficaz del fluido presentado, incluso a velocidades de descarga relativamente más altas. El tercio central de la tela compuesta de la ADL suele estar hecha de fibras de mayor densidad (bajo denier) con huecos más pequeños, mientras que el tercio inferior del tejido está hecho de fibras incluso de mayor densidad (denier menor y más pequeño) y de huecos aún más pequeños. Las partes de mayor densidad del material compuesto tienen más capilares y más finos y por lo tanto desarrollan una mayor presión capilar, moviendo así mayores volúmenes de fluido a las regiones exteriores de la estructura permitiendo así la canalización y distribución adecuada del fluido de manera uniforme para permitir que el núcleo absorbente absorba todo el líquido de la carga de una manera limitada en el tiempo permitiendo que el SAP dentro del núcleo absorbente se mantenga y gelifique la carga ni demasiado lento ni demasiado rápido. La ADL proporciona una adquisición de líquido más rápida (minimizando la inundación en la zona objetivo) y asegura un transporte más rápido y una distribución completa del fluido en el núcleo absorbente.

Como se ha indicado anteriormente, el núcleo absorbente está adaptado para retener fluido, y como tal puede consistir en una o más capas, tales como capas para adquirir, distribuir y/o almacenar fluido. En muchos casos, se utiliza una matriz de fibras de celulosa, tal como en forma de almohadilla tendida al aire y/o banda no tejida, en (o como) el núcleo absorbente de los artículos absorbentes. En algunos casos, las diferentes capas pueden consistir en uno o más tipos diferentes de fibras de celulosa, tales como fibras de celulosa reticuladas. El núcleo absorbente puede incluir también

uno o más agentes de retención de fluido, tales como uno o más SAP, distribuidos por toda la matriz de fibra, normalmente como partículas. Los avances en la tecnología SAP han permitido el diseño de configuraciones de núcleo absorbente en las que la pulpa de pelusa contribuye menos a la capacidad absorbente del núcleo y más para proporcionar una estructura de matriz en la que el SAP se mantiene de manera estable. Las fibras de pulpa de pelusa proporcionan también una funcionalidad de distribución de fluido, al dirigir el fluido hacia el SAP. Sin embargo, se ha descubierto que pueden proporcionarse estas funciones estructurales y de distribución de fluido, en algunas configuraciones, por fibras sintéticas, lo que conduce al desarrollo de núcleos absorbentes que contienen tanto fibras de pulpa de pelusa como fibras sintéticas, e incluso núcleos absorbentes “sin pelusa” que no contienen fibras de pulpa de pelusa. Estas configuraciones pueden ofrecer la ventaja de ser menos voluminosas físicamente, sin sacrificar la absorbencia.

La lámina posterior se forma típicamente a partir de un material impermeable a los fluidos para formar una barrera y evitar que se escape el fluido retenido.

Cualquiera que sea la estructura, cuando el artículo absorbente se moja con una o más descargas de líquido, las posibilidades de que el fluido entre en contacto con la piel aumentan considerablemente y, si no se cambia durante mucho tiempo, puede provocar dermatitis del pañal en los bebés o problemas de dermatitis en los adultos, lo que supone un riesgo para el bienestar de la piel. Sin embargo, en general, la única forma de saber si el pañal o la almohadilla de incontinencia está seca o húmeda es inspeccionarla físicamente. Durante el día, esto puede no suponer un problema significativo porque un cuidador puede comprobar los pañales o productos para adultos incontinentes tantas veces como se desee. Sin embargo, las inspecciones durante la noche pueden suponer una incomodidad tanto para el bebé como para el adulto, perturbando su sueño. Además, las inspecciones frecuentes durante la noche, tales como varias veces en una sola noche, pueden alterar el patrón de sueño del usuario, lo que plantea un peligro para la salud en bebés, así como en el paciente adulto.

Además, es típico que una prenda de vestir, tal como pantalones, pijamas y/o ropa interior, se lleve sobre el pañal o artículo absorbente. En consecuencia, incluso los artículos absorbentes que incorporan distintos tipos de indicadores de humedad y/o de humectación plantean dificultades para descubrir a tiempo una descarga.

Como resultado, suele existir típicamente un lapso de tiempo entre la descarga y su descubrimiento. Si este período de tiempo se prolonga, entonces existe la posibilidad de desarrollar erupción del pañal, irritación de la piel y/o descamación de la piel. Estas afecciones pueden ser muy dolorosas para los afectados. Esto es particularmente cierto en bebés y aquellos adultos en residencias, y es particularmente cierto para el caso de las descargas nocturnas, lo que puede conducir a períodos más largos antes de cambiar el artículo absorbente.

Los indicadores de humedad anteriores incorporados en artículos absorbentes utilizan el cambio de color como indicación visual de la detección de humedad. Las tintas que aparecen o desaparecen, dependiendo del contacto con el líquido son mecanismos populares para la detección de humedad. Se ha usado también la fluorescencia para la detección de la humedad, tal como incorporando un compuesto que emite fluorescencia en presencia de un líquido. Los mecanismos de dichos indicadores generalmente se dividen en tres amplias categorías:

- (1) imprimir un patrón que indica humedad en una de las pilas del artículo absorbente;
- (2) tiras o capas de indicación de humedad discretas que se incorporan entre las capas del artículo absorbente;
- y (3) una tira indicadora discreta (es decir, no forma parte de la construcción del artículo absorbente) que se fija al interior del artículo absorbente inmediatamente antes de su uso.

Cualquiera que sea el mecanismo, estos indicadores visuales son deficientes en situaciones de baja luminosidad (p. ej., por la noche). Las tintas de aparición o desaparición deben detectarse directamente de forma visual, de manera que el cuidador pueda ver el producto absorbente. En situaciones de baja luminosidad, esto puede requerir tanto una fuente de luz (p. ej., luz de techo o linterna), así como la retirada de prendas de recubrimiento (p. ej., pijamas o prendas interiores). Los indicadores fluorescentes tienen problemas similares, ya que requieren una fuente de luz externa para excitar el compuesto fluorescente. Dicha excitación se proporciona típicamente exponiendo el indicador a luz UV (que supone problemas de salud para el portador y el cuidador) y debe estar en comunicación óptica directa con el compuesto fluorescente, que luego requiere la retirada de las prendas de recubrimiento, mantas, etc. Por lo tanto, el uso de los indicadores visuales anteriormente utilizados para detectar la humedad en prendas absorbentes adolece de muchas desventajas en situaciones de baja luminosidad, lo que reduce en gran medida la utilidad de sus mecanismos de indicación.

Existe la necesidad de materiales quimioluminiscentes que puedan generar luz tras la exposición a la humedad, donde los materiales quimioluminiscentes se sintetizan fácilmente con grandes rendimientos y buena pureza. La presente descripción busca satisfacer estas necesidades y proporciona ventajas adicionales.

Resumen

Se proporciona este resumen para presentar una selección de conceptos en una forma simplificada que se describen más adelante en la Descripción detallada. Este resumen no pretende identificar características clave del objeto reivindicado, ni tiene por objeto utilizarse como ayuda para determinar el alcance del objeto reivindicado.

En un aspecto, la presente descripción presenta un método para preparar coelenterazina, que incluye: acoplar 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (coelenteramina) con 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal para proporcionar 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona; y desproteger la 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona para proporcionar 8-bencil-2-(4-hidroxibencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona (coelenterazina).

En otro aspecto, la presente descripción presenta un método de preparación del 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal, que incluye proporcionar 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno, y hacer reaccionar 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno en dos etapas para proporcionar 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal.

En otro aspecto, la presente descripción presenta un método para fabricar un artículo absorbente, que incluye incorporar la coelenterazina preparada según los métodos de la presente descripción a un artículo absorbente.

En otro aspecto más, la presente descripción presenta un artículo absorbente, que incluye la coelenterazina sintetizada mediante los métodos de la presente descripción.

Descripción detallada

En la presente memoria se describen métodos de síntesis para preparar coelenterazina, con alto rendimiento y con buena pureza. Se describen también artículos que incluyen la coelenterazina y derivados de coelenterazina. Los artículos absorbentes representativos incluyen pañales desechables y productos para adultos incontinentes.

La quimioluminiscencia es resultado de una reacción química que produce luz y, por lo tanto, proporciona una indicación luminosa de la humedad que se puede ver con baja luminosidad y/o en ausencia de luz, y a través de la ropa. Además, la quimioluminiscencia no requiere luz de excitación externa, como se requiere para los indicadores fotoluminiscentes (p. ej., fluorescencia). En consecuencia, al generar luz tras entrar en contacto con un sistema acuoso (p. ej., orina), las realizaciones descritas mejoran en gran medida la capacidad de los artículos absorbentes para indicar la aparición de una descarga en condiciones de oscuridad (p. ej., por la noche). Además, mediante la generación de luz que puede verse a través de la ropa, un cuidador puede determinar la aparición de una descarga sin tener que mover o molestar al bebé o al usuario adulto de dicho artículo absorbente, tal como durante el sueño.

Los artículos proporcionados en la presente memoria pueden proporcionar las ventajas distintivas de la indicación de descarga por la noche y a través de la ropa, lo que puede reducir o incluso eliminar la necesidad de que los cuidadores perturben el sueño (p. ej., bajando la ropa y/o encendiendo la luz) de quien lleve puesto un artículo absorbente con el fin de comprobar si hay una descarga. Además, como la luz (p. ej., luz visible) se produce por los sistemas quimioluminiscentes descritos en la presente memoria, no es necesario exponer el artículo absorbente y/o el portador a la luz UV para determinar si se ha producido una descarga, lo que permite evitar problemas de salud asociados con la radiación UV. Los ejemplos de artículos que incluyen materiales quimioluminiscentes se describen, por ejemplo, en la solicitud US-14/516.255, cuya descripción se incorpora a la presente memoria en su totalidad.

Los artículos de la presente descripción proporcionan una facilidad mejorada con la que se puede detectar una descarga, lo que permite al cuidador comprobar con más frecuencia una descarga, debido a la interrupción reducida requerida. Los controles más frecuentes pueden permitir que una descarga se detecte antes y que el artículo absorbente se cambie poco después de la descarga, reduciendo así la cantidad de tiempo que la descarga está en contacto con la piel del portador, así como reduciendo la posibilidad de que el fluido de múltiples descargas esté en contacto con la piel del portador. La salud de la piel y la comodidad general del portador mejoran cuando se reduce el lapso de tiempo que el fluido está en contacto con la piel. En algunas realizaciones, las cantidades/proporciones de los componentes pueden calibrarse de modo que en lugar de ver un pico y luego un desvanecimiento tras cada una de una secuencia de descargas, una vez que hay suficiente agua presente en el artículo absorbente, la luminiscencia puede mantenerse a una intensidad relativamente estable (p. ej., la luminiscencia puede variar menos de aproximadamente 30 %, menos de aproximadamente 20 %, menos de aproximadamente 10 %, menos de 30 %, menos de 20 %, o menos de 10 %, durante un período de tiempo (p. ej., aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 15 minutos, 24 horas, 12 horas, 6 horas, 3 horas, 2 horas, 1 hora, 30 minutos, o 15 minutos). Como se utiliza en la presente memoria, la palabra “aproximadamente” cuando se refiere a una cantidad indica un número dentro del intervalo de variación menor por encima o por debajo del número de referencia establecido. Por ejemplo, “aproximadamente” puede referirse a un número dentro de un intervalo de 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % por encima o por debajo del número de referencia indicado. En algunas realizaciones, “aproximadamente” se refiere a un número dentro de un intervalo del 5 % por encima o por debajo del número de referencia indicado. En algunas realizaciones, “aproximadamente” se refiere a un número dentro de un intervalo del 10 % por encima o por debajo del número de referencia indicado. En algunas realizaciones, “aproximadamente” se refiere a un número dentro de un intervalo del 1 % por encima o por debajo del número de referencia indicado.

Síntesis de coelenterazina

En otro aspecto, la presente descripción presenta un método para preparar coelenterazina, que incluye acoplar 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (coelenteramina) con 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal para proporcionar 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona; y desproteger la 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona para proporcionar 8-bencil-2-(4-hidroxibencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona (coelenterazina).

La coelenteramina puede fabricarse por diferentes vías, como se describe a continuación. Los métodos pueden proporcionar coelenterazina con buen rendimiento y con buena pureza.

Síntesis de coelenteramina

En algunas realizaciones, la coelenteramina se prepara haciendo reaccionar en primer lugar (a1) 3-bencilpirazin-2-amina (25) con N-bromosuccinimida para proporcionar 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2), o una sal de la misma; o (a2) haciendo reaccionar 3,5-dibromopirazin-2-amina y (bromometil)benceno en presencia de cinc, yodo y un catalizador de paladio para proporcionar la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2), o una sal de la misma. En una etapa (b), la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) se hace reaccionar a continuación en dos etapas secuenciales para proporcionar 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7) (coelenteramina).

La reacción de (a1) 3-bencilpirazin-2-amina (25) con N-bromosuccinimida puede llevarse a cabo en un disolvente orgánico, tal como CHCl_3 (cloroformo) a temperatura ambiente (p. ej., aproximadamente 22 °C a 23 °C, 22 °C a 23 °C, o 22 °C) a presión atmosférica (es decir, aproximadamente 1 atm, o 1 atm). Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se puede lavar con agua y se puede aislar la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) eliminando el disolvente orgánico a presión reducida. En algunas realizaciones, (a1) proporciona 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con un rendimiento de aproximadamente 60 % a aproximadamente 85 % (p. ej., 60 % a 85 %) con respecto a 3-bencilpirazin-2-amina (25) y con una pureza de al menos aproximadamente 85 % (p. ej., una pureza de aproximadamente 85 % a aproximadamente 95 %, una pureza de aproximadamente 85 % a aproximadamente 100 %, una pureza de 85 % a 95 %, o una pureza de 85 % a 100 %). Como se utiliza en la presente memoria, se entiende que el % de rendimiento se refiere al % de rendimiento molar. Como se utiliza en la presente memoria, la pureza de un compuesto dado (cuando se acompaña del % de rendimiento del compuesto dado) se refiere al porcentaje en peso de pureza con respecto a la masa del compuesto puro calculada basándose en el % molar de rendimiento.

En algunas realizaciones, en (a2), el catalizador de paladio es dicloruro de bis(trifenilfosfina) paladio(II). El catalizador de paladio puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 por ciento en moles (p. ej., de 5 a 10 por ciento en moles) con respecto a la 3,5-dibromopirazin-2-amina. En algunas realizaciones, (a2) incluye aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:3 equivalentes molares (p. ej., 1:2 a 1:3 equivalentes molares) de 3,5-dibromopirazin-2-amina a (bromometil)benceno. (a2) puede proporcionar 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con un rendimiento de aproximadamente 55 % a aproximadamente 75 % (p. ej., 55 % a 75 %) con respecto a la 3,5-dibromopirazin-2-amina con una pureza de aproximadamente 80 % a aproximadamente 95 % (80 % a 95 %). En algunas realizaciones (a2) incluye hacer reaccionar 3,5-dibromopirazin-2-amina y (bromometil)benceno durante un periodo de aproximadamente 18 horas a aproximadamente 30 horas (p. ej., de 18 horas a 30 horas). La reacción de 3,5-dibromopirazin-2-amina con (bromometil)benceno puede producirse a una temperatura de aproximadamente 25 a aproximadamente 40 °C (p. ej., de 25 a 40 °C) a una presión de aproximadamente 1 atm (p. ej., 1 atm).

En algunas realizaciones, la etapa (b) incluye una primera etapa de hacer reaccionar 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con ácido 4-metoxifenil borónico (4) en presencia de un catalizador de paladio para proporcionar 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), o una sal del mismo. El catalizador de paladio puede ser un catalizador de paladio(0), por ejemplo, tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0). El catalizador de paladio puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 por ciento en peso (p. ej., de 5 a 10 por ciento en peso) con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2). La primera etapa de (b) puede incluir de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:1,3 equivalentes molares de la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) a ácido 4-metoxifenil borónico (4). En algunas realizaciones, la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) y el ácido 4-metoxifenil borónico (4) se hacen reaccionar durante un periodo de aproximadamente 120 minutos a aproximadamente 300 minutos (p. ej., 120 minutos a 300 minutos). La 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) y el ácido 4-metoxifenil borónico (4) se pueden hacer reaccionar a una temperatura de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 90 °C (p. ej., de 60 °C a 90 °C) y a presión atmosférica (es decir, una presión de aproximadamente 1 atm o 1 atm). La primera etapa de (b) puede proporcionar la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), o una sal de la misma, con un rendimiento de aproximadamente 60 % a aproximadamente 85 % (p. ej., 60 % a 85 %) con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) del producto a una pureza de aproximadamente 80 a aproximadamente 95 % (es decir, un rendimiento de 60 % a 85 % del 80 %-95 % de producto puro). Como se utiliza en la presente memoria, el rendimiento en un intervalo de pureza dado se refiere al rendimiento del producto que tiene el intervalo de pureza descrito.

Alternativamente, en algunas realizaciones, (b) incluye una primera etapa de hacer reaccionar la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con ácido (4-metoxifenil)borónico en presencia de un catalizador de paladio (p. ej., un catalizador de paladio(II), tal como dicloruro de bis(benzonitrilo)paladio(II) para proporcionar 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) o una sal de la misma. El catalizador de paladio(II) puede estar presente en una

cantidad de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 (p. ej., 5 a 10) por ciento en moles con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2). La mezcla de reacción puede incluir además 1,4-bis(difenilfosfino)butano, por ejemplo, en una cantidad de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 (p. ej., 5 a 10) por ciento en moles con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2). En algunas realizaciones, la mezcla de reacción incluye además tolueno, una solución acuosa de carbonato de sodio y etanol. La 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) se puede hacer reaccionar con el ácido (4-metoxifenil)borónico durante un período de aproximadamente 200 minutos a aproximadamente 350 minutos (p. ej., 200 a 350 minutos), y/o a una temperatura de aproximadamente 80 a aproximadamente 110 °C (p. ej., 80 a 100 °C) y a una presión de aproximadamente 1 atm (p. ej., 1 atm). Cuando se usa el catalizador de paladio(II), se puede proporcionar 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) con un rendimiento de aproximadamente 65 % a aproximadamente 85 % (p. ej., 65 % a 85 %) con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2). La 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) se puede aislar diluyendo la mezcla de reacción con agua y extrayendo con acetato de etilo. El extracto de acetato de etilo se puede eliminar del extracto a presión reducida para proporcionar 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5).

La 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), o una sal de la misma, independientemente de si se obtiene con un catalizador de paladio(0) o paladio(II), puede aislarse mediante precipitación de la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) como una sal de clorhidrato. La precipitación es ventajosa ya que puede eliminar la cromatografía en columna, que puede ser laboriosa, costosa y que requiere tiempo; y/o también puede aumentar el rendimiento con respecto a la cromatografía en columna. En algunas realizaciones, aislar la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) no incluye cromatografía (p. ej., cromatografía líquida), no incluye recristalización, o no incluye cromatografía y recristalización. En algunas realizaciones, la mezcla de reacción de la reacción de la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con ácido (4-metoxifenil)borónico se diluye con solución acuosa de cloruro de sodio (p. ej., una solución de cloruro de sodio de aproximadamente 20 % (p. ej., 20 %) en peso) y se extrae con acetato de etilo. El extracto de acetato de etilo puede tratarse luego con solución acuosa de HCl (p. ej., una solución acuosa de HCl aproximadamente 3N (p. ej., 3N)) y el producto de sal de clorhidrato de 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) se puede aislar mediante filtración con una pureza de aproximadamente 75 % a aproximadamente 95 % (p. ej., 75 % a 95 %).

En algunas realizaciones, (b) incluye además una segunda etapa de desprotección de la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), o sal de la misma, para proporcionar la 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7) (coelenteramina). La desprotección puede incluir someter la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) a cloruro de piridinio. El tratamiento con cloruro de piridinio puede continuar a una temperatura elevada de aproximadamente 180 a aproximadamente 220 °C (p. ej., 180 a 220 °C o 200 °C) a presión atmosférica. En algunas realizaciones, la temperatura elevada puede hacer que el cloruro de piridinio se separe de la mezcla de reacción por evaporación de la mezcla de reacción. Alternativamente, en determinadas realizaciones, la desprotección puede incluir someter la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) a hidruro de sodio y etanotiol en N,N'-dimetil-formamida (DMF). Cuando se trata con hidruro de sodio y etanotiol en DMF, la mezcla de reacción puede estar a una temperatura de aproximadamente 90 °C a aproximadamente 120 °C (p. ej., de aproximadamente 100 °C a 110 °C, de 90 °C a 120 °C, o de 100 °C a 110 °C) y/o durante un período de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 5 horas (p. ej., de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 2 horas, de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 1 hora, de 30 minutos a 2 horas, de 30 minutos a 1 hora, o 30 minutos). Una vez completada la reacción, la mezcla se puede enfriar de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 50 °C (p. ej., aproximadamente 35 °C a aproximadamente 45 °C, aproximadamente 40 °C, 35 °C a 45 °C, o 40 °C), se extrae con agua y un disolvente orgánico (p. ej., acetato de etilo). Después, la capa orgánica puede separarse, someterse a reflujo y luego enfriarse de aproximadamente 5 °C a 20 °C (p. ej., aproximadamente 10 °C a 15 °C, 5 °C a 20 °C, o 10 °C a 15 °C), la 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7) (coelenteramina) puede aislarse mediante filtración. En ambos métodos de desprotección, la coelenteramina se puede purificar opcionalmente lavando con una solución acuosa de hidróxido de sodio/dioxano, agitando con carbón activado/sílice, filtración, seguido de precipitación mediante acidificación del filtrado, y aislamiento del producto precipitado por filtración. La desprotección puede proporcionar 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7) (coelenteramina) con un rendimiento de aproximadamente 90 % a aproximadamente 100 % (p. ej., 90 % a 100 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos 95 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos 98 %, al menos aproximadamente 99 %, o al menos 99 %) a una pureza de aproximadamente 85 % a aproximadamente 100 % (p. ej., 85 % a 100 %, aproximadamente 90 % o 90 %) con respecto a la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5).

En algunas realizaciones, la coelenteramina se sintetiza haciendo reaccionar (a) 3,5-dibromopirazin-2-amina y (bromometil)benceno en presencia de cinc, yodo y un primer catalizador de paladio para proporcionar la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2); (b) haciendo reaccionar 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con ácido 4-metoxifenil borónico (4) en presencia de un catalizador de paladio en una primera etapa para proporcionar una sal de clorhidrato de la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), y desproteger la sal de clorhidrato de la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) en una segunda etapa para proporcionar la 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7) (coelenteramina).

En algunas realizaciones, la coelenteramina se sintetiza haciendo reaccionar pirazin-2-amina con cloruro de bencilo para proporcionar la 3-bencilpirazin-2-amina; haciendo reaccionar 3-bencilpirazin-2-amina (25) con N-bromosuccinimida para proporcionar la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2); y haciendo reaccionar la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) en dos etapas secuenciales para proporcionar 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7)

(coelenteramina). Las dos etapas secuenciales para proporcionar coelenteramina a partir de 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) pueden incluir una primera etapa de hacer reaccionar 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con 4-bromofenol protegido con sililo en presencia de magnesio y un catalizador de paladio para proporcionar 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol protegido con sililo. En algunas realizaciones, el catalizador de paladio es tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0), que puede estar presente en una cantidad de 1 por ciento o más (p. ej., 2 por ciento o más, 3 por ciento o más, 4 por ciento o más, 5 por ciento o más, 6 por ciento o más, 7 por ciento o más, 8 por ciento o más, o 9 por ciento o más) y/o 10 por ciento o menos (p. ej., 9 por ciento o menos, 8 por ciento o menos, 7 por ciento o menos, 6 por ciento o menos, 5 por ciento o menos, 4 por ciento o menos, 3 por ciento o menos, o 2 por ciento o menos) en peso con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2). Por ejemplo, por cada 100 gramos de 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2), se pueden usar 1 a 10 gramos (p. ej., 1 gramo, 2 gramos, 3 gramos o 5 gramos) de catalizador de paladio. Como ejemplo, por cada 100 gramos de 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2), se puede usar 1 gramo de catalizador de paladio. Las dos etapas secuenciales pueden incluir una segunda etapa de desprotección del 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol protegido con sililo para proporcionar la 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7), por ejemplo, sometiendo el 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol protegido con sililo en una solución acuosa de HCl. Este procedimiento de síntesis reduce o elimina el uso de: n-butil litio en la primera etapa de la síntesis, reemplazando la reacción de n-butil litio en tolueno con cloruro de bencilo y THF (tetrahidrofurano). Por lo tanto, esta síntesis presenta la capacidad de escalar la química de la reacción y puede reducir el coste de la síntesis. Además, los cambios pueden mejorar la seguridad general de la química reemplazando materiales altamente reactivos con materiales más estables. La omisión de compuestos de ácido borónico en la síntesis puede reducir en gran medida la cantidad de catalizador de paladio costoso en la reacción.

En algunas realizaciones, la coelenteramina se sintetiza haciendo reaccionar pirazin-2-amina (24) con cloruro de bencilo para proporcionar 3-bencilpirazin-2-amina (25) (p. ej., en condiciones de Grignard, tales como proporcionando primero una solución de magnesio, yodo y bromuro de etilo en un disolvente antes de hacer reaccionar pirazin-2-amina (24) con cloruro de bencilo para proporcionar 3-bencilpirazin-2-amina (25); haciendo reaccionar 3-bencilpirazin-2-amina (25) con N-bromosuccinimida para proporcionar la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2); haciendo reaccionar 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con ácido 4-metoxifenil borónico (4) en presencia de un catalizador de paladio en una primera etapa para proporcionar una sal de clorhidrato de la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), y desproteger la sal de clorhidrato de la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) en una segunda etapa para proporcionar la 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7) (coelenteramina). En algunas realizaciones, la desprotección de la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) incluye exponer la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) a un entorno ácido, tal como HBr en ácido acético, para proporcionar 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il) fenol (7) (coelenteramina).

La reacción de 3-bencilpirazin-2-amina (25) con N-bromosuccinimida puede llevarse a cabo en un disolvente orgánico, tal como CHCl_3 (cloroformo) a temperatura ambiente (p. ej., aproximadamente 22°C a 23°C , 22°C a 23°C , o 22°C) a presión atmosférica (es decir, aproximadamente 1 atm, o 1 atm). Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se puede lavar con agua y/o una solución acuosa de ácido (p. ej., $\text{HCl}_{(\text{ac})}$), y se puede aislar la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) eliminando el disolvente orgánico a presión reducida. En algunas realizaciones, se proporciona la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con un rendimiento de aproximadamente 60 % a aproximadamente 85 % (p. ej., 70-75 %) con respecto a la 3-bencilpirazin-2-amina (25) y con una pureza de al menos aproximadamente 85 % (p. ej., una pureza de aproximadamente 85 % a aproximadamente 95 %, una pureza de aproximadamente 85 % a aproximadamente 100 %, una pureza de 85 % a 95 %, una pureza de 90-95 % o una pureza de 85 % a 100 %).

En algunas realizaciones, la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) se hace reaccionar con ácido 4-metoxifenil borónico (4) en presencia de un catalizador de paladio para proporcionar la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), o una sal de la misma. El catalizador de paladio puede ser un catalizador de paladio(0), por ejemplo, tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0), o un catalizador de paladio(II), tal como dicloruro de bis(benzonitrilo)paladio(II). Cuando se usa un catalizador de paladio(II), la mezcla de reacción puede incluir además 1,4-bis(difenilfosfino)butano, por ejemplo, en una cantidad de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 (p. ej., 5 a 10) por ciento en moles con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2). El catalizador de paladio puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 por ciento en peso (p. ej., de 5 a 10 por ciento en peso) con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2). La primera etapa de (b) puede incluir de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:1,3 equivalentes molares de la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) en ácido 4-metoxifenil borónico (4). En algunas realizaciones, la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) y el ácido 4-metoxifenil borónico (4) se hacen reaccionar durante un período de aproximadamente 120 minutos a aproximadamente 300 minutos (p. ej., 120 minutos a 300 minutos). El disolvente de reacción puede incluir 1,4-dioxano y/o agua. En algunas realizaciones, la mezcla de reacción incluye además carbonato de potasio en una cantidad de aproximadamente 75 a aproximadamente 85 por ciento en moles con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2). La 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) y el ácido 4-metoxifenil borónico (4) pueden hacerse reaccionar durante un período de aproximadamente 12 a aproximadamente 36 horas (p. ej., de aproximadamente 20 a 24 horas, de aproximadamente 12 a aproximadamente 24 horas, o de aproximadamente 15 a 24 horas) y/o a una temperatura de aproximadamente 80 a aproximadamente 110°C (p. ej., de 80 a 100°C , u 80 a 85°C) y/o a presión atmosférica (es decir, una presión de aproximadamente 1 atm o 1 atm). La 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), o una sal de la misma, se puede proporcionar en un rendimiento de aproximadamente 65 % a aproximadamente 95 % (p. ej., 85 % a 90 %, 80 % a 95 %, u 85 % a 90 %) con respecto a la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2), con una pureza de, por ejemplo, 90 % a

95 % (*p. ej.*, 92 % a 95 %). La 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) se puede aislar diluyendo la mezcla de reacción con agua y extrayendo con acetato de etilo. El extracto de acetato de etilo se puede eliminar del extracto a presión reducida para proporcionar 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5).

La 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), o una sal de la misma, independientemente de si se obtiene con un catalizador de paladio(0) o paladio(II), puede aislarse mediante precipitación de la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) como una sal de clorhidrato. La precipitación es ventajosa ya que puede eliminar la cromatografía en columna, que puede ser laboriosa, costosa y que requiere tiempo; y/o también puede aumentar el rendimiento con respecto a la cromatografía en columna. En algunas realizaciones, aislar la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) no incluye cromatografía (*p. ej.*, cromatografía líquida), no incluye recristalización, o no incluye cromatografía y recristalización. En algunas realizaciones, la mezcla de reacción de la reacción de la 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (2) con ácido (4-metoxifenil) borónico se diluye con solución acuosa de cloruro de sodio (*p. ej.*, una solución de cloruro de sodio de aproximadamente 20 % (*p. ej.*, 20 %) en peso) y se extrae con acetato de etilo. El extracto de acetato de etilo puede tratarse luego con solución acuosa de HCl (*p. ej.*, una solución acuosa de HCl aproximadamente 3N (*p. ej.*, 3N)) y el producto de sal de clorhidrato de 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5) se puede aislar mediante filtración con una pureza de aproximadamente 75 % a aproximadamente 95 % (*p. ej.*, 75 % a 95 %).

La 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), o una sal de la misma, puede desprotegerse a continuación para proporcionar el 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7) (coelenteramina). En algunas realizaciones, la desprotección incluye exponer la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5), o una sal de la misma, a un ácido (*p. ej.*, HBr y ácido acético). Por ejemplo, el HBr puede tener una concentración de HBr del 48 % en agua y la solución acuosa de HBr puede mezclarse con ácido acético en una relación de aproximadamente 1:2 (*p. ej.*, de aproximadamente 1:1,5, de aproximadamente 1:1,25) a aproximadamente 1:1 (*p. ej.*, a aproximadamente 1:1,25, o a aproximadamente 1:1,5). La desprotección puede producirse a una temperatura de aproximadamente 100 °C (*p. ej.*, de aproximadamente 105 °C, de aproximadamente 110 °C, de aproximadamente 115 °C) a aproximadamente 120 °C (*p. ej.*, a aproximadamente 115 °C, a aproximadamente 110 °C, a aproximadamente 105 °C) durante un periodo de aproximadamente 5 horas (*p. ej.*, de aproximadamente 8 horas, de aproximadamente 10 horas, de aproximadamente 12 horas o de aproximadamente 14 horas) a aproximadamente 18 horas (*p. ej.*, a aproximadamente 14 horas, a aproximadamente 12 horas, a aproximadamente 10 horas, o a 8 horas), por ejemplo, de 8 a 10 horas, a presión atmosférica. Tras la reacción de desprotección, la mezcla de reacción se puede enfriar, extraer con un disolvente orgánico (tal como acetato de etilo) y el disolvente orgánico se puede eliminar a presión reducida. A continuación, el residuo se puede someter a reflujo con un hidrocarburo (tal como ciclohexano), filtrarse, aislarse y secarse para proporcionar el 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7) (coelenteramina). El 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (7) (coelenteramina) se puede obtener con un rendimiento de aproximadamente 70 % (*p. ej.*, de aproximadamente 75 %, de aproximadamente 80 % o de 85 %) a aproximadamente 90 % (*p. ej.*, a aproximadamente 85 %, a aproximadamente 80 %, o a aproximadamente 75 %), por ejemplo, de 75 % a 80 %, con una pureza de aproximadamente 85 % (*p. ej.*, de aproximadamente 87 %, de aproximadamente 90 %, o de aproximadamente 92 %) a aproximadamente 95 % (*p. ej.*, a aproximadamente 92 %, (*p. ej.*, a aproximadamente 90 %, o a aproximadamente 87 %), por ejemplo, una pureza de aproximadamente 90 %, con respecto a la 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (5).

Síntesis de 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal

En algunas realizaciones, la presente descripción presenta un método de preparación del 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal, que incluye proporcionar 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno, y hacer reaccionar el 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno en dos etapas para proporcionar 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal. El método de preparación del 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal no incluye más de una reacción catalizada por paladio, a partir de un material de partida inicial de 4-hidroxibenzaldehído.

El método puede incluir una primera etapa de hacer reaccionar 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno con 2,2-dimetoxiacetato de metilo en condiciones de Grignard (*p. ej.*, bromuro de etilo, magnesio y una cantidad catalítica de yodo) para proporcionar la 3-(4-(benciloxi)fenil)-1,1-dimetoxipropan-2-ona. La 3-(4-(benciloxi)fenil)-1,1-dimetoxipropan-2-ona puede purificarse mediante cromatografía en columna de sílice.

El método puede incluir una segunda etapa de hacer reaccionar la 3-(4-(benciloxi)fenil)-1,1-dimetoxipropan-2-ona con ácido (*p. ej.*, solución acuosa de ácido, tal como solución acuosa de HCl al 10 %) para proporcionar el 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal. El 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal puede aislarse con un rendimiento de 60 a 75 % (*p. ej.*, 65 % a 70 %) con una pureza del 85 al 95 % (*p. ej.*, 90 %) con respecto al 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno.

En algunas realizaciones, puede prepararse el intermedio 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno, por ejemplo, mediante el siguiente procedimiento. Se puede formar una mezcla de 4-hidroxibenzaldehído (8), cloruro de bencilo y carbonato de potasio anhidro en N,N-dimetilformamida, se calienta a una temperatura de aproximadamente 40-80 °C durante un periodo de, por ejemplo, 5 horas a 3 días, a presión atmosférica. Una vez completada la reacción, la mezcla se puede enfriar a temperatura ambiente, se carga con agua y se centrifuga o se filtra para aislar el 4-(benciloxi)benzalaldehído resultante.

A continuación, se puede reducir el 4-(benciloxi)benzaldehído con borohidruro de sodio para proporcionar 4-(benciloxi)fenil)metanol. En resumen, se puede añadir el borohidruro de sodio a una temperatura de aproximadamente 45 a 50 °C gota a gota a una solución de 4-(benciloxi)benzaldehído en metanol. A continuación, se puede enfriar la mezcla de reacción (*p. ej.*, a aproximadamente 15 °C), acidificarse (*p. ej.*, con ácido acético), agitarse con agua, y se puede aislar el producto mediante filtración. El producto resultante se puede calentar con un disolvente orgánico (*p. ej.*, n-hexano), filtrarse y secarse para proporcionar 4-(benciloxi)fenil)metanol.

A continuación, el 4-(benciloxi)fenil)metanol puede hacerse reaccionar con cloruro de tionilo para proporcionar 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno (11). Por ejemplo, se puede formar una mezcla de 4-(benciloxi)fenil)metanol en diclorometano y N,N'-dimetilformamida, a la que se puede añadir lentamente cloruro de tionilo a una temperatura de aproximadamente 30 a aproximadamente 35 °C. Tras agitar la reacción durante un período de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 2 horas, se puede eliminar el disolvente, y se puede extraer el residuo con agua y un disolvente orgánico, tal como acetato de etilo. Tras separar la capa orgánica, se puede ajustar el pH de la capa a aproximadamente 8 a 9 con una base acuosa, tal como una solución acuosa de carbonato de sodio, luego la capa orgánica se puede separar nuevamente, lavarse con una solución acuosa de cloruro de sodio, y a continuación, la capa orgánica se separa y se concentra a presión reducida. A continuación, se puede lavar el residuo con un disolvente orgánico, tal como n-hexano, y se puede aislar el producto mediante filtración y secarse para obtener el intermedio 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno.

Coelenterazina

En algunas realizaciones, la coelenterazina se obtiene acoplando 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (coelenteramina) con 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal para proporcionar 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona; y desproteger la 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona para proporcionar 8-bencil-2-(4-hidroxibencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona (coelenterazina).

El acoplamiento de 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (coelenteramina) con 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal puede producirse en una mezcla de disolventes que incluye dioxano, agua y HCl (*p. ej.*, HCl concentrado, HCl al 36 %). Se puede realizar la reacción de acoplamiento a una temperatura de 75 °C a 90 °C (*p. ej.*, 80 °C a 85 °C) durante 12 a 36 horas (*p. ej.*, 24 horas) en una atmósfera inerte.

En algunas realizaciones, desproteger la 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona incluye una primera etapa de desprotección de exponer la 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona a ácido, tal como HCl (*p. ej.*, HCl concentrado, HCl al 36 %). La mezcla de reacción puede incluir un disolvente orgánico, tal como dioxano. El ácido puede estar presente en una cantidad igual o superior al volumen de la mezcla de disolventes en la etapa de acoplamiento anterior. Se puede obtener un producto intermedio desprotegido filtrando, por ejemplo, la mezcla de reacción, recogiendo el residuo sólido y secando el residuo sólido antes de continuar con la siguiente etapa. La primera etapa de desprotección se puede llevar a cabo a una temperatura de 25 °C a 40 °C (*p. ej.*, de 30 a 35 °C), durante un período de 30 minutos (*p. ej.*, de 1 hora) a 2 horas (*p. ej.*, a 1,5 horas). El producto intermedio desprotegido (es decir, el residuo sólido) se puede lavar con un disolvente orgánico (*p. ej.*, tolueno) antes de filtrar y secar.

Desproteger la 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona puede incluir una segunda etapa de desprotección de exponer el producto intermedio seco desprotegido al ácido, tal como HCl (*p. ej.*, HCl concentrado, HCl al 36 %). La mezcla de reacción puede incluir un disolvente orgánico, tal como dioxano. La segunda etapa de desprotección puede incluir calentar el producto intermedio desprotegido en HCl y el disolvente orgánico a una primera temperatura de aproximadamente 50 °C a 75 °C (*p. ej.*, de 60 °C a 70 °C, de 55 °C a 65 °C, de 60 °C a 62 °C) durante un período de 6 a 24 horas, luego a una segunda temperatura más alta (*p. ej.*, más alta que la primera temperatura en 5 °C a 15 °C, en 5 °C a 10 °C, en 10 °C a 15 °C) para proporcionar coelenterazina. Para aislar la coelenterazina, el HCl y el disolvente orgánico se pueden eliminar a presión reducida para proporcionar un residuo, el residuo se puede lavar con disolventes orgánicos tales como acetato de etilo, después diclorometano, y hexano. El residuo se puede secar a presión reducida, a temperatura ambiente o hasta una temperatura de aproximadamente 50 °C (*p. ej.*, 40-45 °C) para proporcionar la coelenterazina final. La coelenterazina puede obtenerse en un rendimiento del 70 % o más (*p. ej.*, 70 % a 95 %, 70 % a 85 %, 80 % a 95 %, 80 % a 85 %, u 80 %) a una pureza de 55 % a 70 % (*p. ej.*, 55 % a 65 %, o 60 % a 65 %) con respecto al 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol.

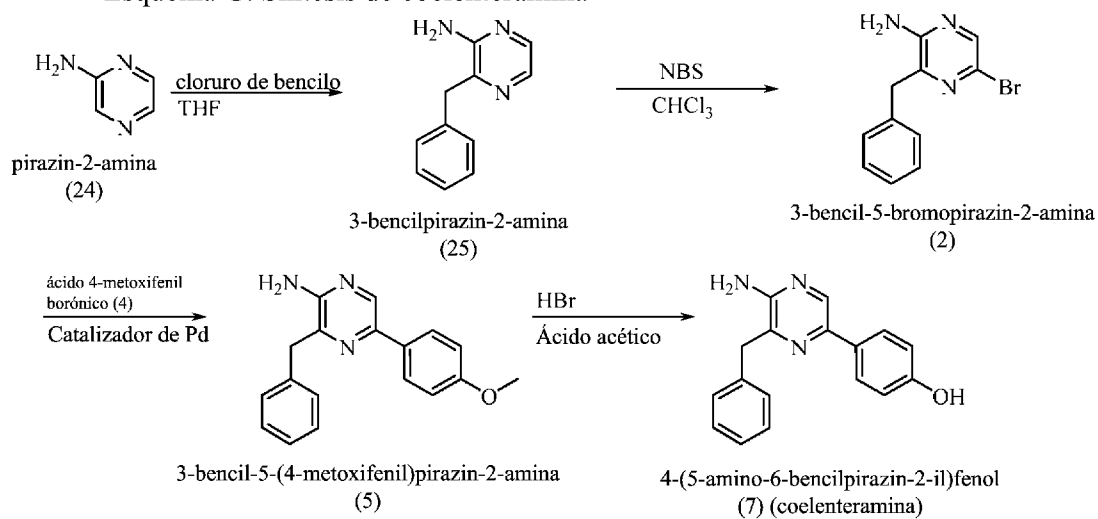
El 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal y la coelenteramina usada en la reacción de acoplamiento para proporcionar coelenterazina pueden prepararse mediante los métodos descritos anteriormente.

Síntesis representativas

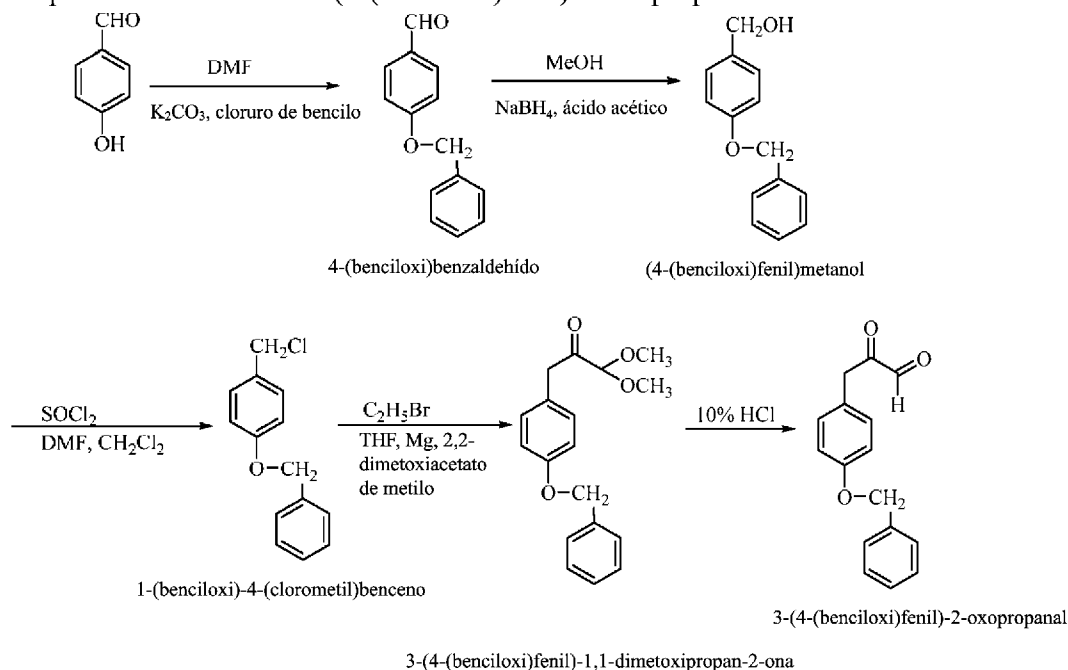
En algunas realizaciones, la coelenterazina de la presente descripción puede prepararse según los Esquemas G, H e I siguientes. El Esquema G ilustra la síntesis de coelenteramina, el Esquema H ilustra la síntesis de 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal y el Esquema F ilustra el acoplamiento de coelenteramina y 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal, y la desprotección posterior del producto intermedio 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-

hidroxifenil)imidazo[1,2-a]pirazin-3(7H)-ona, para generar 8-bencil-2-(4-hidroxibencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]pirazin-3(7H)-ona, coelenterazina (16).

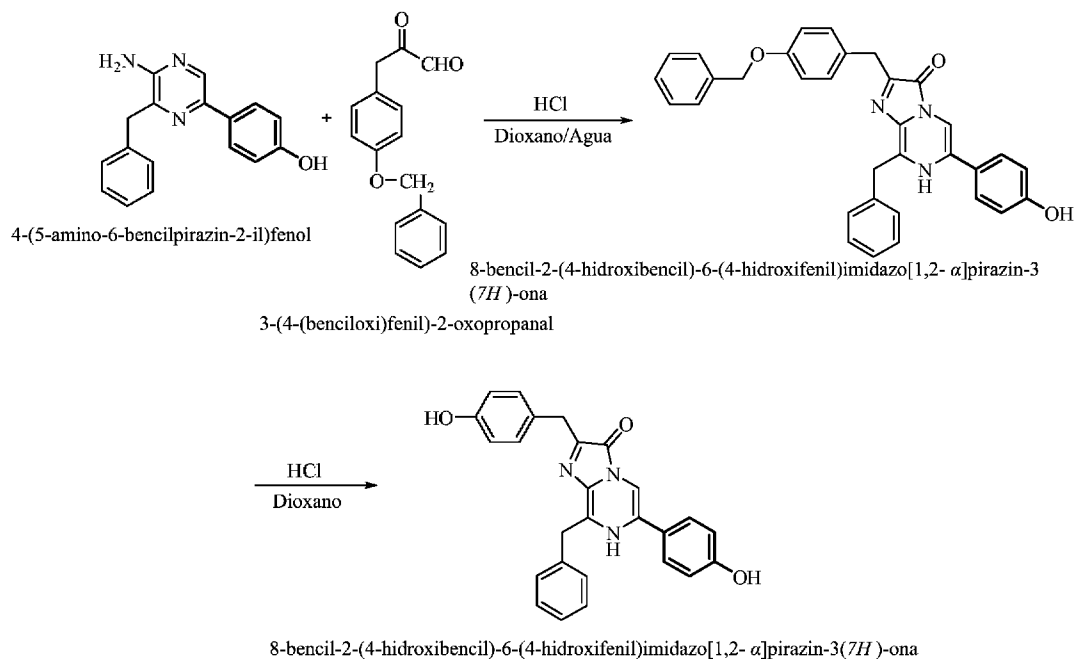
Esquema G. Síntesis de coelenteramina



Esquema H. Síntesis de 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal



Esquema I. Síntesis de coelenterazina



Artículos absorbentes

La coelenterazina o una sal de la misma, preparada según los métodos de la presente descripción, puede incorporarse a un artículo absorbente.

En algunas realizaciones, la presente descripción presenta un artículo absorbente, que incluye la coelenterazina, o una sal de la misma, sintetizada mediante los métodos de la presente descripción.

Se describen materiales y elementos estructurales para artículos absorbentes que incluyen uno o más componentes de un sistema quimioluminiscente, por ejemplo, en la solicitud provisional US-62/692.502, titulada “Chemiluminiscent Wetness Indicator for Absorbent Products” y presentada el 29 de junio de 2018; la solicitud provisional US-62/753.024, titulada “Chemiluminiscent Wetness Indicator for Absorbent Products” y presentada el 30 de octubre de 2018; y la solicitud US-16/457732, titulada “Chemiluminiscent Wetness Indicator for Absorbent Products” y presentada el 28 de junio de 2019.

Sistema quimioluminiscente

El sistema quimioluminiscente se configura para producir luz al entrar en contacto con un sistema acuoso. El sistema acuoso inicia la reacción de quimioluminiscencia para producir luz. Como se utiliza en la presente memoria, el término “sistema acuoso” se refiere a agua o composiciones que contienen agua. En el contexto de esta descripción, dichas composiciones que contienen agua están generalmente en forma de fluido corporal, tal como orina, menstruación, materia fecal, etc. La aparición de la liberación de fluido corporal (o el propio fluido) se denomina en la presente memoria “descarga” o “descarga líquida” o “descarga de fluido”. En consecuencia, los sistemas quimioluminiscentes de la presente descripción producen luz tras la descarga de un artículo al que se ha incorporado el sistema.

Al configurarse para producir luz al entrar en contacto con un sistema acuoso, el sistema quimioluminiscente incluye al menos un compuesto o material que se ilumina cuando se pone en contacto con un sistema acuoso. En una realización, el agua inicia la quimioluminiscencia.

En una realización, el sistema quimioluminiscente incluye dos o más materiales que se iluminan cuando se ponen en contacto con un sistema acuoso. En esta realización, hay dos o más materiales que juntos no se iluminan sin la presencia del sistema acuoso.

Los sistemas quimioluminiscentes representativos que incluyen dos o más materiales incluyen sistemas bioluminiscentes, tales como un sistema que incluye una luciferina y una luciferasa.

La bioluminiscencia es la luz que se produce por una reacción química que ocurre dentro del cuerpo o en las secreciones de determinados tipos de organismos. La bioluminiscencia implica la combinación de dos tipos de sustancias en una reacción productora de luz: una luciferina y una luciferasa. La luciferina es el compuesto que produce realmente la luz, por ejemplo, la luciferina puede ser coelenterazina. La luciferasa es una enzima que cataliza la reacción. En algunos casos, la luciferasa es una proteína conocida como fotoproteína, y el proceso de producción de luz requiere un ion cargado (p. ej., un catión tal como calcio) para activar la reacción. La fotoproteína es una variante de luciferasa en la que los factores requeridos para la emisión de luz (incluidas luciferina y oxígeno) se unen entre sí como una unidad. A menudo, el proceso de bioluminiscencia requiere la presencia de una sustancia tal como oxígeno o adenosina trifosfato (ATP) para iniciar la reacción de oxidación. La velocidad de reacción para la luciferina es controlada por la luciferasa o la fotoproteína. La reacción de luciferina-luciferasa también puede crear subproductos tales como oxiluciferina inactiva y agua.

Luciferina y luciferasa son nombres genéricos en lugar de materiales específicos. Por ejemplo, la luciferina coelenterazina (forma natural) es común en la bioluminiscencia marina, pero las variantes pueden sintetizarse químicamente, y estas diversas formas se denominan colectivamente luciferinas. En otro ejemplo, los dinoflagelados (pláctones marinos) que obtienen alimentos a través de la fotosíntesis utilizan una luciferina que se asemeja a la estructura de la clorofila.

El mecanismo de producción de luz a través de una reacción química diferencia la bioluminiscencia de otro fenómeno óptico, tal como fluorescencia o fosforescencia.

Por ejemplo, las moléculas fluorescentes no emiten su propia luz. Necesitan una fuente de fotones externa para excitar los electrones a un estado de mayor energía. En la relajación del estado de alta energía a su estado básico, liberan su energía adquirida como fuente de luz, pero normalmente a una longitud de onda más larga. Dado que la excitación y relajación se producen simultáneamente, la luz fluorescente se observa solo cuando se ilumina (excita).

El término fosforescencia se refiere técnicamente a un caso especial de emisión de luz ópticamente excitada donde la relajación del estado excitado al estado básico, a diferencia de la fluorescencia, no es inmediata, y la emisión de fotones persiste durante segundos a minutos después de la excitación original.

La distinción técnica entre bioluminiscencia y fluorescencia a veces resulta confusa en un contexto práctico pero técnicamente, son dos fenómenos distintos. En la mayoría de los casos, un organismo bioluminiscente puede ser autofluorescente pero lo contrario no es cierto para un organismo fluorescente; este último requiere aún un fotón para la excitación para emitir luz. En algunos casos, los cnidarios o crustáceos o peces bioluminiscentes pueden contener una proteína fluorescente como proteína fluorescente verde (GFP) y la luz emitida por el organismo bioluminiscente actuaría como fotones para excitar la GFP. La GFP a su vez bajo estado relajado emitiría una luz de diferente longitud de onda (más probablemente de mayor longitud de onda) que la longitud de onda de la luz bioluminiscente que ha recibido como fotón. En este ejemplo, la GFP puede ser excitada por una luz azul emitida por la bioluminiscencia

(longitud de onda aproximadamente 470 nm, o 470 nm) pero a su vez emitiría una luz verde bajo su estado relajado (longitud de onda de aproximadamente 510 nm a aproximadamente 520 nm, o 510 nm a 520 nm).

Pueden incorporarse sistemas bioluminiscentes en las composiciones de pulpa de pelusa, matrices de fibras o artículos absorbentes de cualquier manera que produzca la quimioluminiscencia deseada.

En una realización, la composición de pulpa de pelusa o producto absorbente comprende una luciferina seleccionada entre el grupo que consiste en coelenterazina, luciferina de dinoflagelado, luciferina bacteriana, luciferina fúngica, luciferina de luciérnaga y vargulina. Con respecto a la coelenterazina, hay muchas variantes, cualquiera de las cuales puede usarse en la composición de pulpa de pelusa.

Determinadas realizaciones de coelenterazina consistentes con esta descripción comprenden una o más de coelenterazina natural, metil-coelenterazina, coelenterazina 400a (2-2'(4-deshidroxi)) coelenterazina, coelenterazina e, coelenterazina f, coelenterazina h, coelenterazina i, coelenterazina n, coelenterazina cp, coelenterazina ip, coelenterazina fcp y coelenterazina hep. Como ejemplo adicional, la coelenterazina puede ser una o más de coelenterazina natural, coelenterazina 400a, metil coelenterazina, coelenterazina f, coelenterazina cp, coelenterazina fcp y coelenterazina hep. Como otro ejemplo más, la coelenterazina puede ser una o más de coelenterazina 400a, metil coelenterazina y coelenterazina fcp. Como otro ejemplo más, la coelenterazina puede ser una o más de coelenterazina 400a, metil coelenterazina y coelenterazina hep. En otro ejemplo más, la coelenterazina puede ser uno o más de coelenterazina 400a y coelenterazina hep.

En una realización, la luciferina tiene una concentración de 0,0005 % a 0,002 %, en peso de la pulpa de pelusa. En una realización, la luciferina tiene una concentración de 0,0005 % a 0,0015 %, en peso de la pulpa de pelusa. En una realización, la luciferina tiene una concentración de 0,0005 % a 0,001 %, en peso de la pulpa de pelusa.

En algunas realizaciones, la luciferina se puede incorporar a cualquier componente de un artículo absorbente. Por ejemplo, la luciferina (p. ej., coelenterazina o una sal de coelenterazina de la presente descripción) puede incorporarse a un artículo absorbente en una cantidad de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg (p. ej., de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 75 mg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 mg, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg, o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg), o de 0,01 a 100 mg (p. ej., de 0,01 a 75 mg, de 0,01 a 50 mg, de 0,01 a 25 mg, de 0,01 a 10 mg o de 0,01 a 5 mg).

En una realización, la composición de pulpa de pelusa o producto absorbente comprende luciferasa seleccionada entre el grupo que consiste en luciferasa de *Gaussia* (GLuc), luciferasa de *Renilla* (RLuc), luciferasa de dinoflagelado, luciferasa de luciérnaga, luciferasa fúngica, luciferasa bacteriana y luciferasa de vargula. Determinadas realizaciones de la luciferasa consistentes con esta descripción comprenden una o más de luciferasa de *Gaussia*, luciferasa de *Renilla*, luciferasa de dinoflagelado y luciferasa de luciérnaga. Como un ejemplo más, la luciferasa puede ser uno o más de luciferasa de *Gaussia*, luciferasa de *Renilla*, luciferasa de dinoflagelado y luciferasa de luciérnaga. En otro ejemplo adicional, la luciferasa puede ser uno o más de luciferasa de *Gaussia* y luciferasa de *Renilla*.

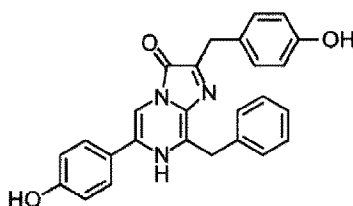
En una realización, la luciferasa tiene una concentración de aproximadamente 0,005 % a aproximadamente 0,04 % (p. ej., 0,005 % a 0,04 %) en peso de la pulpa de pelusa. En una realización, la luciferasa tiene una concentración de aproximadamente 0,005 % a aproximadamente 0,02 % (p. ej., 0,005 % a 0,02 %) en peso de la pulpa de pelusa. En una realización, la luciferasa tiene una concentración de aproximadamente 0,005 % a aproximadamente 0,01 % (p. ej., 0,005 % a 0,01 %) en peso de la pulpa de pelusa.

En algunas realizaciones, la luciferasa se puede incorporar a cualquier componente de un artículo absorbente. Por ejemplo, la luciferasa (p. ej., GLuc) puede incorporarse a un artículo absorbente en una cantidad de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 40 mg (p. ej., de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 30 mg, de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 15 mg, de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 5 mg, o de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 2 mg); o de 0,2 mg a 40 mg (p. ej., de 0,2 mg a 30 mg, de 0,2 mg a 20 mg, de 0,2 mg a 15 mg, de 0,2 mg a 10 mg, de 0,2 mg a 5 mg, o de 0,2 a 2 mg).

En una realización, el sistema quimioluminiscente comprende coelenterazina como luciferina y luciferasa de *Gaussia* o *Renilla*.

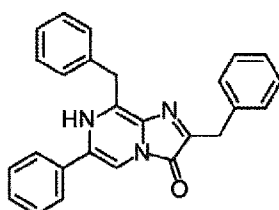
Las luciferinas representativas incluyen las de la familia de la coelenterazina. La coelenterazina en su forma natural así como sus análogos tienen diferentes características luminiscentes debido a la variación en sus restos estructurales. Dadas las variaciones estructurales dentro de la familia de las coelenterazina, algunas son buenos sustratos para determinadas luciferasas, mientras que algunas no lo son. A continuación se muestra una breve descripción de coelenterazina natural y los análogos representativos.

La coelenterazina (forma natural) es un sustrato enzimático luminiscente para la luciferasa de *Renilla (reniformis)* (Rluc). La coelenterazina/luciferasa de *Renilla* se ha usado también como donante de bioluminiscencia en estudios de transferencia de energía por resonancia de bioluminiscencia (BRET).



Coelenterazina (forma natural)

Coelenterazina 400a es un derivado de coelenterazina y es un buen sustrato para la luciferasa de *Renilla*, pero no se oxida bien con la luciferasa de *Gaussia* (Gluc). Es el sustrato preferido para BRET (transferencia de energía por resonancia de bioluminiscencia) porque su máximo de emisión de aproximadamente 400 nm (p. ej., 400 nm) tiene una interferencia mínima con la emisión de GFP.

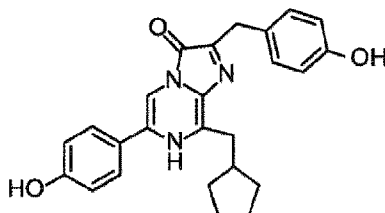


Coelenterazina 400a

La transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), BRET, transferencia de energía por resonancia (RET) y transferencia de energía electrónica (EET) son mecanismos que describen la transferencia de energía entre dos moléculas sensibles a la luz (cromóforos) y pueden definir la interferencia de una sustancia química luminiscente con la transferencia de energía de otra sustancia química luminiscente. Un cromóforo donante, inicialmente en su estado excitado electrónico, puede transferir energía a un cromóforo aceptor a través de acoplamiento dipolo-dipolo no radiactivo. La eficiencia de esta transferencia de energía es inversamente proporcional a la sexta potencia de la distancia entre el donante y el aceptor, haciendo que la FRET sea extremadamente sensible a pequeños cambios en la distancia. Las mediciones de eficiencia de la FRET se pueden usar para determinar si dos fluoróforos están a una cierta distancia entre sí.

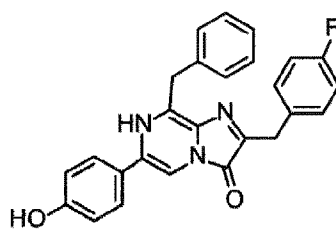
Dichas mediciones se usan como una herramienta de investigación en campos que incluyen la biología y la química.

La coelenterazina cp en un complejo coelenterazina-aecuatorina genera una intensidad de luminiscencia de aproximadamente 15 veces (p. ej., 15 veces) mayor que la coelenterazina (forma natural).



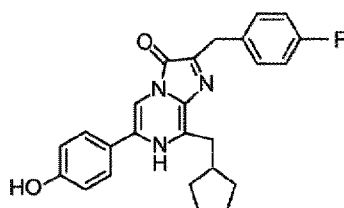
Coelenterazina cp

La coelenterazina f tiene aproximadamente 20 veces (p. ej., 20 veces) mayor intensidad de luminiscencia (complejo coelenterazina-aecuatorina) que la forma natural coelenterazina, mientras que su máximo de emisión es de aproximadamente 8 nm (p. ej., 8 nm) más largo que el de la forma natural.



Coelenterazina f

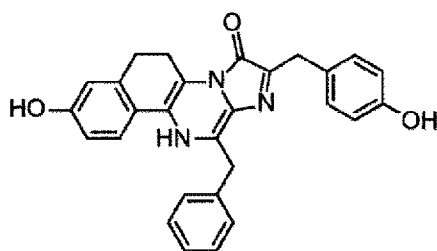
La coelenterazina fcp es un análogo en donde la estructura de α -benceno en el resto de coelenterazina de la estructura de coelenterazina f se reemplaza con un pentano cíclico (similar a coelenterazina cp). La coelenterazina fcp tiene intensidad de luminiscencia aproximadamente 135 veces (p. ej., 135 Veces) mayor que la de coelenterazina (forma natural).



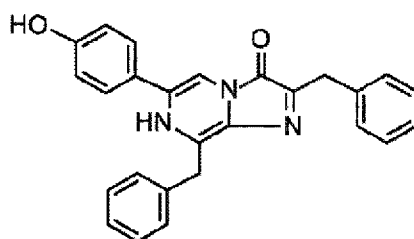
Coelenterazina fcp

Los complejos de coelenterazina fcp con aecuatorina para formar un complejo de coelenterazina fcp-apoaecuatorina y, como sustrato para aecuatorina, tiene una intensidad de luminiscencia relativa de aproximadamente 135 veces (p. ej., 135 veces) la de coelenterazina natural. Sin embargo, la coelenterazina fcp es un sustrato deficiente para la luciferasa de *Renilla*.

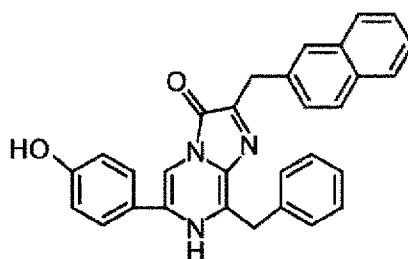
Otros análogos representativos de la coelenterazina, como sustrato de la enzima luciferasa de *Renilla*, son la coelenterazina e, h y n. Mientras que estos tres análogos son sustratos de buenos a excelentes para la luciferasa de *Renilla*, son sustratos pobres para la apoaecuatorina.



Coelenterazina e



Coelenterazina h



Coelenterazina n

Las propiedades luminiscentes de los análogos de coelenterazina varían. Por ejemplo, ciertos análogos emiten menos luz (medida como lúmenes) pero con mayor intensidad luminiscente (lúmenes/estereorradianes). La Tabla A enumera las propiedades luminiscentes de la coelenterazina (forma natural) y sus análogos con la luciferasa de *Renilla*. La intensidad luminiscente se informa como un % de intensidad inicial. Por ejemplo, un análogo que tiene una intensidad inicial del 900 % es aproximadamente 20 veces (p. ej., 20 veces) intenso en comparación con la coelenterazina natural con una intensidad inicial de aproximadamente 45 % (p. ej., 45 %).

Tabla A: Propiedades luminiscentes de los análogos de coelenterazina seleccionados con la luciferasa de *Renilla*

Análogo	Aem (nm)	Luz Total (%)	Intensidad inicial (%)
natural	475	100	45
e	418.475	137	900
f	473	28	45
h	475	41	135
n	475	47	900
cp	470	23	135

La luz se produce por el sistema quimioluminiscente. La luz es detectable visualmente por un cuidador en la oscuridad y a través de la ropa, y como tal la luz tiene una longitud de onda, intensidad y duración suficientes para proporcionar la indicación necesaria. Estas características espectrales del sistema quimioluminiscente se pueden adaptar basándose en el compuesto o compuestos quimioluminiscentes. Por ejemplo, en sistemas bioluminiscentes, la luciferina y luciferasa pueden seleccionarse para producir las características de luz deseadas. Dependiendo del sistema bioluminiscente utilizado, pueden producirse diferentes características espectrales. En presencia de aniones

superóxido y/o compuestos de peroxinitrilo, la coelenterazina también puede emitir luz independiente de la oxidación de enzimas (luciferasa), un proceso conocido como autoluminiscencia.

El sistema quimioluminiscente se puede adaptar para producir colores particulares de luz. Como se ha indicado anteriormente en la Tabla A, incluso dentro de la familia de la coelenterazina, la longitud de onda de emisión puede variar de aproximadamente 400 nm (violeta, p. ej., 400 nm) a aproximadamente 475 nm (azul con tinte verde, p. ej., 475 nm).

Con respecto a la duración, la duración de la luz emitida puede controlarse mediante la selección de la coelenterazina (luciferina), en forma natural frente a sus análogos, y la enzima (luciferasa), por ejemplo *Gaussia* frente a *Renilla*. La relación y la concentración de luciferina y luciferasa utilizadas pueden modificar también la duración de la emisión de luz. Para dar un ejemplo ilustrativo y no limitativo, el análogo de luciferina, coelenterazina e, tiene una luz total del 130 % y la intensidad inicial del 900 % sobre coelenterazina natural. Seleccionando con criterio la concentración de coelenterazina e y luciferasa de *Renilla*, la duración de la luz emitida puede durar desde aproximadamente 8 a aproximadamente 10 horas (p. ej., de 8 a 10 horas).

En una realización, la luz tiene una duración de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 6 horas (p. ej., de 0,5 a 6 horas). En otra realización, la luz tiene una duración de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 horas (p. ej., de 1 a 4 horas). En otra realización, la luz tiene una duración de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 horas (p. ej., de 2 a 3 horas).

Con respecto a la intensidad, la eficiencia cuántica de la quimioluminiscencia contribuye a la intensidad, la profundidad y el tono del color de la emisión.

La eficacia cuántica (QE) es la fracción del flujo de fotones usada para excitar un producto químico de luminiscencia para elevar la misma hasta un estado de mayor energía. La eficiencia cuántica es uno de los parámetros más importantes utilizados para evaluar la calidad de un detector y a menudo se denomina “respuesta espectral” para reflejar su dependencia de la longitud de onda. Se define como el número de señales de electrones creadas por un fotón incidente. En algunos casos, puede exceder el 100 % (es decir, cuando se crea más de un electrón por fotón incidente). Si la respuesta espectral supera el 100 %, entonces la intensidad y profundidad del color emitido es viva, pero dependiendo del estado de excitación del electrón primario, se determinará la duración de la emisión (es decir, cuanto mayor sea el estado de excitación, más tiempo tardará en volver al estado básico (normal)).

La respuesta espectral es una medición similar, pero tiene unidades diferentes; siendo la métrica los amperios o vatios (es decir, cuánta corriente sale del dispositivo por fotón entrante de una energía y longitud de onda dada).

Tanto la eficiencia cuántica como la respuesta espectral son funciones de la longitud de onda de los fotones. Por ejemplo, en el caso de la coelenterazina de luciferina, entre la forma natural y uno de sus análogos, coelenterazina e, este último no solo tiene una alta intensidad de luz, sino que emite 30 % más de energía luminosa que el primero, porque este último tras la excitación por una cuanto dado (hv) de fotón incidente genera dos electrones y el electrón primario en la longitud de onda 475 tiene la misma intensidad de emisión que la coelenterazina natural pero con intensidad de lúmenes aproximadamente 20 veces (p. ej., 20 veces) mayor que la del producto nativo. En consecuencia, la luz emitida por el análogo de coelenterazina excitado sería veinte veces más brillante que la forma natural, pero con una energía de luz total de aproximadamente 130 % (p. ej., 130 %) durará más que la forma natural.

La longitud de onda determina el color de la luz emitida.

En una realización, la composición de pulpa de pelusa incluye una luciferina y una luciferasa. Dicha pulpa de pelusa tiene ambos elementos del sistema quimioluminiscente requerido para iluminarse al entrar en contacto con un sistema acuoso. Sin embargo, en otra realización, la composición de pulpa de pelusa incluye al menos un componente seleccionado entre una luciferina y una luciferasa. En dicha realización, la composición de pulpa de pelusa puede incluir solo una de una luciferina y una luciferasa. Dicha composición de pulpa de pelusa puede incorporarse en un artículo absorbente de manera que la otra de la luciferina y la luciferasa pueden disponerse en una lámina superior u otra capa del artículo absorbente, de manera que los dos componentes se combinen solo cuando se transportan por una descarga de líquido (p. ej., agua de un sistema acuoso que pasa a través de la lámina superior en la composición de pulpa de pelusa). En una realización, la composición de pulpa de pelusa comprende una luciferina pero no una luciferasa. En una realización, la composición de pulpa de pelusa comprende una luciferasa pero no una luciferina.

Pulpa de pelusa

La pulpa de pelusa de la composición de pulpa de pelusa puede formarse a partir de cualquier pulpa. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una fibra lignocelulósica. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una fibra lignocelulósica derivada de madera. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una fibra lignocelulósica derivada de madera por medios químicos, mecánicos, quimiomecánicos o termomecánicos. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una fibra celulósica derivada de madera mediante procesamiento de la pasta de madera por medios químicos. En una realización, la pasta de celulosa se deriva de una fibra celulósica

derivada del procesamiento de pasta de madera por medios químicos, ya sea mediante procesamiento de pasta de madera con alcohol, procesamiento de pasta de madera con disolventes orgánicos, procesamiento de pasta de madera con sulfito ácido, procesamiento de pasta de madera con sulfito alcalino, procesamiento de pasta de madera con sulfito neutro, procesamiento de pasta de madera con peróxido alcalino, procesamiento de pasta de madera Kraft, procesamiento de pasta de madera Kraft-AQ, procesamiento de pasta de madera con polisulfuro o procesamiento de pasta de madera con polisulfuro-AQ.

En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una fibra celulósica derivada del procesamiento de pasta de madera por medios químicos mediante la eliminación adicional de la lignina de la dicha pulpa, ya sea procesamiento de pasta de madera con alcohol, procesamiento de pasta de madera con disolventes orgánicos, procesamiento de pasta de madera con sulfito ácido, procesamiento de pasta de madera con sulfito alcalino, procesamiento de pasta de madera con sulfito neutro, procesamiento de pasta de madera con peróxido alcalino, procesamiento de pasta de madera Kraft, procesamiento de pasta de madera Kraft-AQ, procesamiento de pasta de madera con polisulfuro o procesamiento de pasta de madera con polisulfuro-AQ para la preparación de artículos absorbentes (pulpa de pelusa). En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una pulpa de pelusa celulósica derivada del procesamiento de pasta de madera Kraft. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una pulpa de pelusa celulósica blanqueada derivada del procesamiento de pasta de madera Kraft. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una pulpa de pelusa celulósica blanqueada derivada del procesamiento de pasta de madera Kraft de maderas blandas. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una pulpa de pelusa celulósica blanqueada derivada del procesamiento de pasta de madera Kraft de maderas blandas meridionales. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de una pulpa de pelusa celulósica blanqueada derivada del procesamiento de pasta de madera Kraft de pino meridional. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de un madera blanda meridional. En una realización, la pulpa de pelusa se deriva de pino meridional.

La composición de pulpa de pelusa puede producirse a partir de cualquier forma de pasta de madera, como una lámina tendida en húmedo que se seca para lograr un contenido de humedad que varía de aproximadamente 6 % a aproximadamente 11 % (p. ej., 6 % a 11 %).

En otro aspecto, se proporcionan métodos para preparar la composición de pulpa de pelusa. La composición de pulpa de pelusa se prepara incorporando al menos un componente del sistema quimioluminiscente en la pulpa de pelusa.

Esto se puede lograr usando diversos métodos que permitan tratar la pulpa de pelusa con uno o más componentes del sistema quimioluminiscente. Un desafío en el tratamiento químico de la pulpa de pelusa es mantener los productos químicos en un estado en el que la reacción quimioluminiscente prevista no se desencadena prematuramente, por ejemplo, antes de que la pulpa de pelusa tratada se incorpore a un artículo absorbente que luego se somete a una descarga de líquido. Para una aplicación final húmeda, los productos químicos típicamente no pueden mezclarse con agua y aplicarse juntos. Por consiguiente, en un ejemplo ilustrativo, la luciferasa o la luciferina pueden microencapsularse e introducirse durante el proceso de deposición en húmedo, con el componente no encapsulado aplicado a la lámina en un entorno no acuoso mediante métodos convencionales tales como recubrimiento, inmersión, pulverización o impresión (o combinación de los mismos), antes de la operación de tendido al aire durante la fabricación de artículos absorbentes. En otro ejemplo ilustrativo, un sistema de dos láminas, una que contiene luciferasa y la otra que contiene luciferina, puede fabricarse y procesarse adicionalmente antes de la operación de tendido al aire durante la fabricación del artículo absorbente. En otros ejemplos más, uno de los productos químicos puede añadirse durante el proceso de deposición en húmedo y el otro durante el procesamiento posterior de la pulpa; o los dos componentes pueden añadirse a la pulpa durante o antes del proceso de tendido al aire, tal como enjuagando y/o pulverizando la pulpa en forma de pelusa con soluciones no acuosas de uno o ambos componentes respectivos.

Artículos absorbentes

En una realización, la composición de pulpa de pelusa; la composición aislada que incluye la coelenterazina, o una sal de la misma; y/o la coelenterazina, o sal de la misma, pueden incorporarse a artículos absorbentes. Los artículos absorbentes representativos incluyen pañales para niños, pañales para adultos, productos para adultos incontinentes, productos de higiene femenina, empapadores absorbentes y artículos de apósito para el cuidado de heridas. Por ejemplo, la composición de pulpa de pelusa y/o la coelenterazina, o una sal de la misma, pueden incorporarse a una o más capas o porciones absorbentes de un artículo absorbente.

En otro aspecto, se proporciona un artículo absorbente. En una realización, el artículo absorbente incluye una lámina superior que es permeable a líquidos, una lámina posterior que es impermeable a líquidos, pulpa de pelusa dispuesta entre la lámina superior y la lámina posterior y/o una matriz de tela no tejida sin pelusa o casi sin pelusa dispuesta entre la lámina superior y la lámina posterior, y un sistema quimioluminiscente configurado para producir luz al entrar en contacto con un sistema acuoso.

El sistema quimioluminiscente (p. ej., una luciferina tal como coelenterazina, o una sal de la misma de la presente descripción, y una luciferasa) del artículo absorbente es como se describe en la presente memoria. Sin embargo, no es necesario disponer el sistema quimioluminiscente, en su totalidad o en parte, dentro de la pulpa de pelusa. Según se ha descrito anteriormente, pueden proporcionarse funciones estructurales y de distribución de fluido, en algunas

configuraciones, por fibras sintéticas, lo que conduce al desarrollo de núcleos absorbentes que contienen tanto fibras de pulpa de pelusa como fibras sintéticas, e incluso núcleos absorbentes “sin pelusa” que no contienen fibras de pulpa de pelusa. En algunas realizaciones, el sistema quimioluminiscente, o partes del sistema quimioluminiscente, se pueden integrar independientemente en la lámina superior permeable a los líquidos, la lámina posterior impermeable a los líquidos, el SAP u otra estructura en el artículo absorbente.

En una realización, el sistema quimioluminiscente comprende una luciferina y una luciferasa. En una realización, la luciferina y la luciferasa están dispuestas dentro de la pulpa de pelusa. En otra realización, una de la luciferina y la luciferasa se dispone dentro de la pulpa de pelusa y la otra se dispone en una capa diferente (p. ej., lámina superior o ADL) del producto absorbente de manera que los dos componentes se combinan solo cuando al menos uno de los dos componentes es transportado por una descarga de líquido (p. ej., que pasa a través de la lámina superior o ADL en la composición de pulpa de pelusa). En una realización, la pulpa de pelusa comprende una luciferina pero no una luciferasa. En una realización, la pulpa de pelusa comprende una luciferasa pero no una luciferina.

En otra realización más, al menos un componente del sistema quimioluminiscente se dispone sobre (por ejemplo, impreso sobre) la superficie interior de la lámina posterior.

En una realización, una de la luciferina y la luciferasa se disponen dentro de la pulpa de pelusa y la otra se asocia con la lámina superior u otra estructura dentro de un artículo, y se configura para viajar en la pulpa de pelusa tras la exposición a una descarga de líquido.

En una realización, el artículo absorbente comprende además un tampón de pH, como se describe en la presente memoria. En una realización, el tampón de pH se dispone dentro de la pulpa de pelusa. Según se ha descrito anteriormente, pueden proporcionarse funciones estructurales y de distribución de fluido, en algunas configuraciones, por fibras sintéticas, lo que conduce al desarrollo de núcleos absorbentes que contienen tanto fibras de pulpa de pelusa como fibras sintéticas, e incluso núcleos absorbentes “sin pelusa” que no contienen fibras de pulpa de pelusa. En algunas realizaciones, el sistema quimioluminiscente, o partes del sistema quimioluminiscente, se pueden integrar independientemente en la lámina superior permeable a los líquidos, la lámina posterior impermeable a los líquidos, el SAP u otra estructura en el artículo absorbente.

En una realización, el artículo absorbente comprende además un compuesto fotoluminiscente, como se describe en la presente memoria. En una realización, el compuesto fotoluminiscente se dispone dentro de la pulpa de pelusa.

En una realización, el artículo absorbente comprende además un compuesto fotoluminiscente y un tampón de pH, como se describe en la presente memoria. En una realización, el compuesto fotoluminiscente y el tampón de pH están dispuestos dentro de la pulpa de pelusa.

En una realización, el tampón de pH, el compuesto fotoluminiscente, la luciferina y la luciferasa están dispuestos dentro de la pulpa de pelusa.

En una realización, al menos uno del tampón de pH, el compuesto fotoluminiscente, la luciferina y la luciferasa están dispuestos dentro de la pulpa de pelusa. En algunas realizaciones, al menos uno del tampón de pH, el compuesto fotoluminiscente, la luciferina y la luciferasa se puede incorporar independientemente a fibras sintéticas, núcleos absorbentes “sin pelusa” que no contienen fibras de pulpa de pelusa, a la lámina superior permeable a los líquidos, la lámina posterior impermeable a los líquidos y/o el SAP del artículo absorbente. En algunas realizaciones, el tampón de pH, el compuesto fotoluminiscente, la luciferina y/o la luciferasa pueden migrar a un núcleo absorbente desde una estructura diferente del artículo. En algunas realizaciones, el tampón de pH, el compuesto fotoluminiscente, la luciferina y/o la luciferasa pueden migrar desde un núcleo absorbente a una estructura diferente del artículo.

En una realización, el artículo absorbente incluye además un polímero superabsorbente (SAP), tal como el incorporado en el núcleo absorbente. En dicha realización, al menos un componente del sistema quimioluminiscente puede disponerse en el SAP, de manera que se genera la quimioluminiscencia sobre el fluido a partir de una descarga que se desplaza al núcleo absorbente.

En una realización, el sistema quimioluminiscente está contenido completamente dentro de un núcleo absorbente del artículo absorbente. Como el núcleo absorbente es casi siempre un sistema multicomponente, existe más de una solución para incorporar el sistema quimioluminiscente en el núcleo absorbente. Por ejemplo, las fibras de pulpa de pelusa podrían ser el portador del sistema quimioluminiscente. Alternativamente, el sistema quimioluminiscente podría estar contenido dentro de las partículas superabsorbentes incorporadas en el artículo absorbente. En algunas realizaciones, el núcleo absorbente puede incluir fibras de celulosa, derivados de fibra de celulosa (rayón, liocel, etc.), fibras de celulosa no tejidas y/o derivados de fibra de celulosa, fibras no celulósicas o cualquier combinación de los mismos.

Además, si solo una parte de las partículas o fibras de SAP contuviera la química del sistema quimioluminiscente, se puede lograr un diseño deseado, tal como un diseño estéticamente agradable.

El sistema quimioluminiscente puede añadirse a las fibras de pulpa de pelusa en el momento de la fabricación del artículo absorbente o durante un proceso aguas arriba separado completamente del conjunto de producto final. Como se ha indicado anteriormente, por ejemplo, el sistema quimioluminiscente puede pulverizarse sobre o incorporarse de otra manera en una lámina de pulpa de pelusa antes de la molienda con martillo.

En otro aspecto, se describen también métodos para fabricar artículos absorbentes.

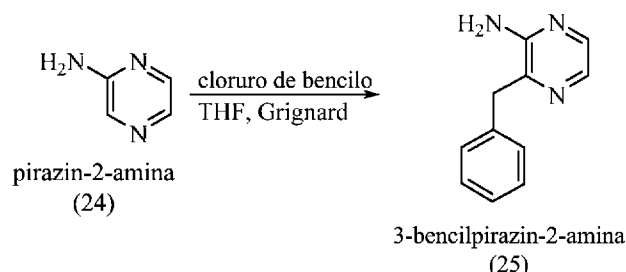
Los artículos absorbentes se fabrican según técnicas generales conocidas por los expertos en la técnica que permiten incorporar el sistema quimioluminiscente en el artículo absorbente de la manera descrita en la presente memoria.

Se pretende que el siguiente ejemplo sea ilustrativo, no limitante.

Ejemplos

Ejemplo 6. Síntesis de coelenterazina usando 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol y 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal

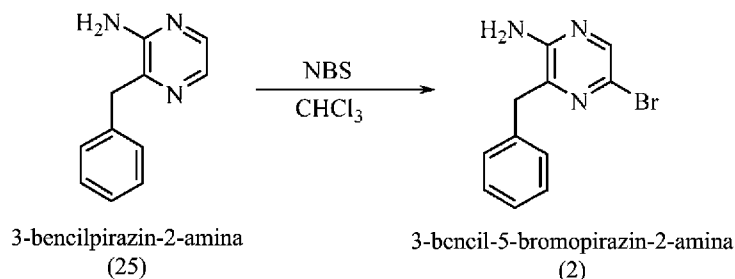
4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (coelenteramina) 3-bencilpirazin-2-amina



Se cargó un matraz de fondo redondo de 100 l con 7,5 l de tetrahidrofurano (THF), 2,5 kg de metal de magnesio, 10 g de yodo y 200 ml de bromuro de etilo. Se inició la masa de reacción, se añadió lentamente cloruro de bencilo y solución de THF (10 l de cloruro de bencilo disueltos en 45 l de THF) a 10-20 °C durante un período de 4 a 4,5 horas y después se mantuvo durante 1 hora a 30-35 °C. A continuación se añadió lentamente una solución de 2-amino pirazina (2,5 kg de 2-amino pirazina disueltos en 25 l de THF a 30-35 °C en 1 a 1,5 horas) y la masa de reacción se mantuvo durante 5-6 horas a 30-35 °C. Se realizó una comprobación mediante cromatografía en capa fina (TLC), tras la cual se añadieron lentamente 10 l de agua y se agitó la masa de reacción durante 20 minutos.

A continuación, la masa de reacción se dejó sedimentar durante 30 minutos. La capa de THF se separó y se destiló completamente al vacío por debajo de 70 °C. A continuación, tras completar la destilación, la masa de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se cargó con 20 l de tolueno y 5 l de agua y se agitó durante 10 minutos. A continuación, se dejó sedimentar la masa de reacción durante 20 minutos y se separó la capa de tolueno. La capa de tolueno se cargó luego con 3 l de HCl y se dejó sedimentar durante 10 minutos. A continuación, se separó la capa de tolueno y se reservó. Se ajustó la capa de HCl ácido luego a un pH de aproximadamente 8-9 con 3 kg de ceniza de sosa y se mantuvo durante 30 minutos. A continuación, se separó la capa orgánica para producir el producto monoalquilado deseado con un rendimiento del 45-50 %, a una pureza del 90-95 %.

3-bencil-5-bromopirazin-2-amina

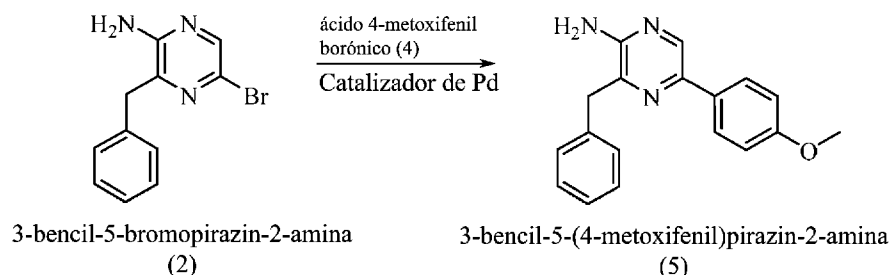


Se cargó un matraz de fondo redondo de 20 l con cloroformo (6 l) y 2-amino-3-bencil pirazina (1 Kg), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente (22 °C). Se añadió lentamente N-bromosuccinimida (800 gramos) durante 1-1,5 h. Tras completarse la adición, la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se añadió agua (2 l) y se agitó durante 10 minutos seguido de la separación de la capa de cloroformo. Se añadió HCl (500 ml) a la capa de cloroformo y la mezcla se agitó durante aproximadamente 20 minutos. El producto se filtró a través de un filtro Nutsche y se lavó con cloroformo (1 l). El producto se secó a 35-40 °C durante 6-7 h. Rendimiento del 70-75 %. Pureza del 90-95 %.

3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina

5

10

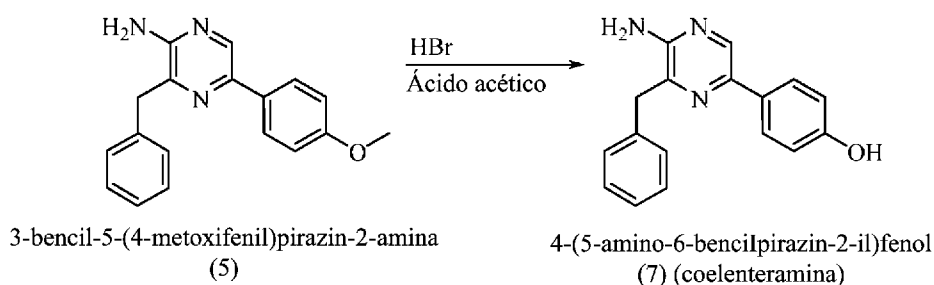


15 Se cargó un matraz de 50 l con 1,4-dioxano (30 l) y 3-bencil-5-bromopirazin-2-amina (1 kg) a temperatura ambiente. Se añadió carbonato de potasio (1,6 kg) seguido por agua (5 l). La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos. Se añadió ácido 4-metoxifenilborónico (600 gramos) seguido de catalizador de paladio (40 gramos). Se calentó lentamente la mezcla de reacción hasta 82 °C y se agitó a 80-82 °C durante 20-24 h bajo nitrógeno. Se enfrió la mezcla a 40 °C y se transfirió a un matraz de fondo redondo de 100 l y se cargó con acetato de etilo (15 l) y agua (15 l) a temperatura ambiente y se agitó durante 20 minutos. Se separó la capa orgánica y se concentró a presión reducida para producir el producto deseado. Rendimiento del 85-90 %. Pureza del 92-95 %.

4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol

25

30



35

40 Se cargó un matraz de fondo redondo de 30 l con 3-bencil-5-(4-metoxifenil)pirazin-2-amina (1 Kg), 4 l de HBr al 48 % y 7 l de ácido acético. Se calentó lentamente la mezcla de reacción a 110 °C en un baño de aceite. La temperatura de reacción se mantuvo a 108-110 °C durante 8-10 horas. Se enfrió la mezcla a 40 °C y se cargó con agua (15 l) y acetato de etilo (15 l) a 35-40 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos. Se ajustó el pH de la mezcla a 4-4,5 usando carbonato de sodio y se agitó la mezcla durante 10 minutos.

45 Se separó la capa de acetato de etilo, y la capa acuosa se volvió a extraer con acetato de etilo (3 l x 2). Los extractos de acetato de etilo combinados se ajustaron a pH 7-7,5 con ceniza de soda y se concentraron a presión reducida. El residuo se enfrió primero a 40 °C y después se capturó con 4 l de ciclohexano y se sometió a reflujo. Se filtró el compuesto a través de un filtro Nutsche y se secó a 40-45 °C durante 5-6 horas: Rendimiento: 75-80 % Pureza: 90 %.

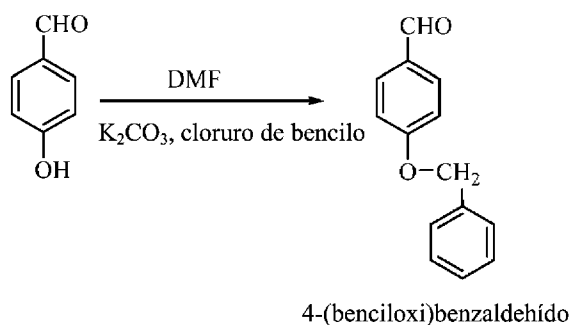
3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal

4-(benciloxi)benzaldehído

50

55

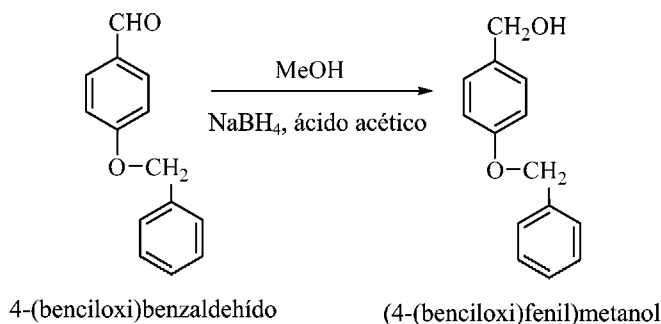
60



65 Se cargó un matraz de fondo redondo de 50 l con dimetilformamida (15 l), 4-hidroxi-benzaldehído (2,5 Kg) y se agitó la mezcla durante 20 minutos. A esta mezcla, se añadió carbonato de potasio (4 Kg) y la masa de reacción se agitó durante 10 minutos tras lo cual se añadió lentamente cloruro de bencilo (2,5 l) durante aproximadamente 15 minutos.

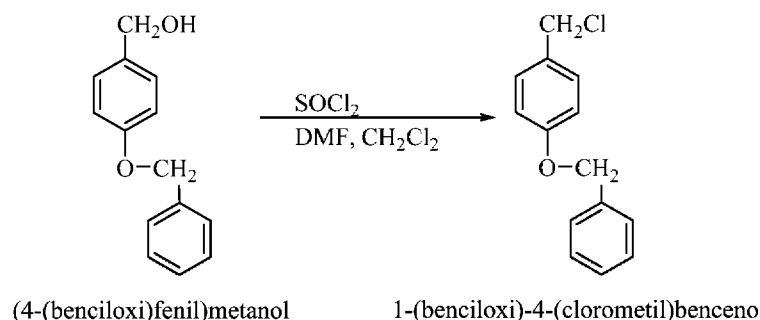
La mezcla se agitó durante 20 minutos y se calentó lentamente a 40 °C seguido de agitación a 45-45 °C durante 6-7 horas. La mezcla se enfrió a 30 °C y se cargó con agua (25 l). La mezcla se enfrió adicionalmente hasta 20 °C y se agitó durante 30 minutos. El producto obtenido se centrifugó y se lavó con agua hasta que el producto quedó con pH neutro. A continuación, el producto se secó a 30-35 °C durante 5-6 horas. Rendimiento: 70-75 % Pureza: 85-90 %.

(4-(benciloxi)fenil)metanol



Se cargó un matraz de fondo redondo de 50 l con 4-(benciloxi)benzaldehído (4 Kg) y metanol (15 l). A esta mezcla, se añadió gota a gota borohidruro de sodio (0,5 Kg) a 45-50 °C durante 1-1 ½ h. Tras completarse la adición, la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se enfrió la mezcla de reacción a 15 °C y se cargó lentamente con una solución acuosa de ácido acético (500 ml de ácido acético en 500 ml de agua) seguido de la adición lenta de agua (25 l). A continuación, se agitó esta mezcla durante 30 minutos a 15-20 °C. El producto se centrifugó y se secó a 40-45 °C durante 12-14 h. El producto resultante se cargó con n-hexano (10 l) y la mezcla de reacción se calentó lentamente a 50 °C. La mezcla se agitó a 50 °C durante 1 h tras lo cual se enfrió a 40 °C. El producto, (4-benciloxi)fenil)metanol se filtró a través de un filtro Nutsche y a continuación se secó a 40-45 °C durante 12 horas. Rendimiento: 85-90 % Pureza: 90-95 %.

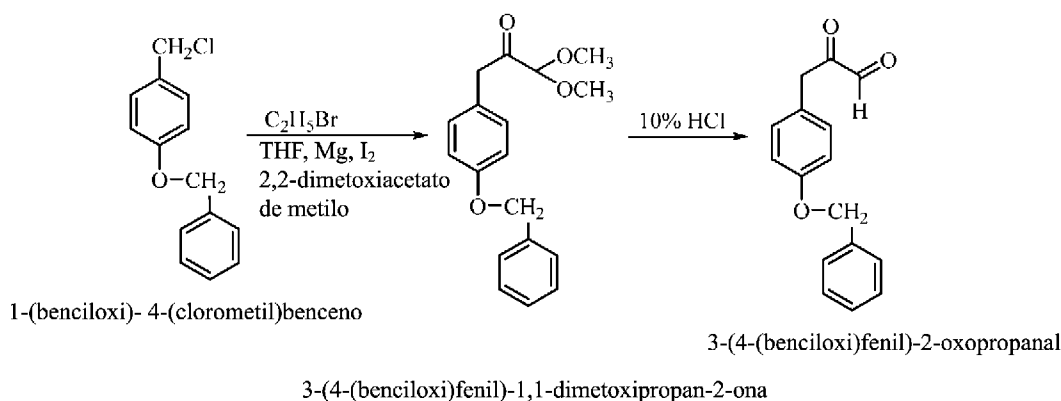
1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno



Se cargó un matraz de fondo redondo de 50 l con diclorometano (20 l) y (4-(benciloxi)fenil)metanol (3,8 Kg) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 20 minutos y se cargó con dimetilformamida (500 ml) seguido de agitación durante otros 10 minutos. A esta mezcla, se añadió lentamente cloruro de tionilo (2 l) a 30-35 °C durante 1-1 ½ h. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1-1 ½ h. El 50 % del diclorometano se destiló normalmente y el 50 % restante se eliminó mediante destilación a presión reducida. Se cargó el residuo con agua (5 l) y acetato de etilo (20 l) y se agitó esta mezcla durante 10 minutos.

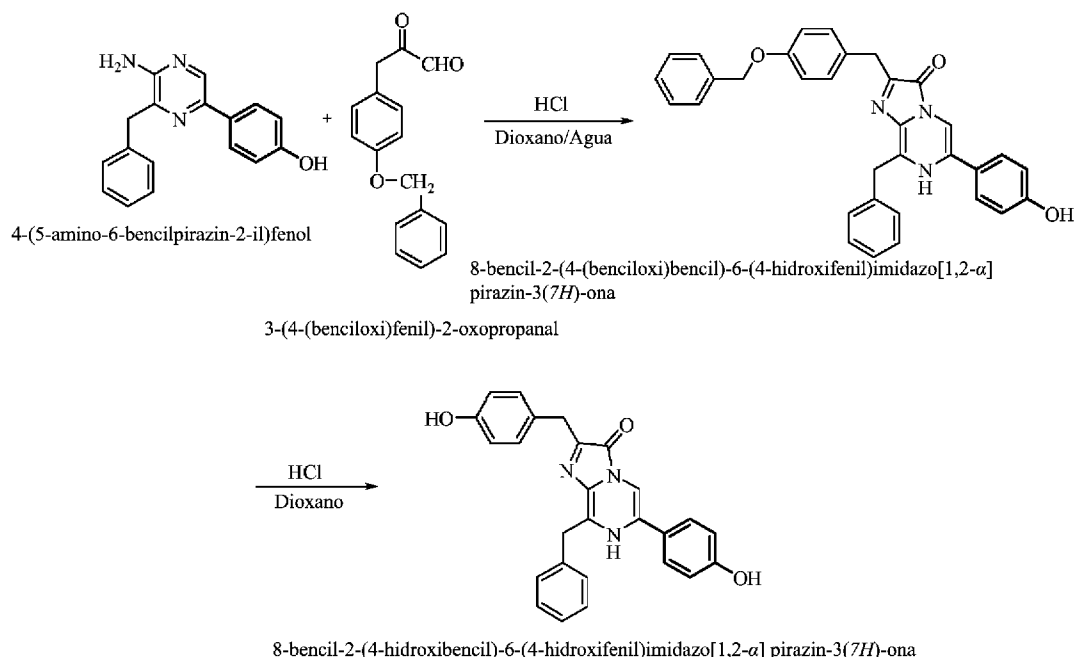
Se separó la capa de acetato de etilo y esta capa se lavó con una solución de ceniza de soda (1 kg de ceniza de soda en 4 l de agua) para ajustar el pH de la capa a 8-9. La mezcla se agitó durante 10 minutos. La capa de acetato de etilo se separó de nuevo y se lavó con una solución de sal común. (1 kg de NaCl en 3 l de agua). La mezcla se agitó durante 10 minutos. La capa de acetato de etilo se separó una vez más y se concentró a presión reducida. El residuo se capturó con n-hexano (10 l) y se calentó a reflujo. A continuación, el producto se enfrió a 10 °C y se agitó durante 30 minutos. El producto obtenido se filtró a través de un filtro Nutsche y se lavó con n-hexano (1 l). El producto, 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno, se secó en 40-42 °C durante 5-6 horas. Rendimiento: 75-80 % Pureza: 90 %.

3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal



Se cargó un matraz de fondo redondo de 50 l con tetrahydrofurano anhidro (7,5 l) y apósitos de magnesio (2,5 kg) seguido de yodo (2 gramos) y bromuro de etilo (10 ml). A esta mezcla, se añadió gota a gota una solución de 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno (3,2 Kg) en tetrahydrofurano anhidro (40 l) a 40-45 °C. La mezcla se agitó durante 1 h tras lo cual se enfrió a 20 °C. A esta mezcla enfriada se añadió una solución de 2,2-dimetoxiacetato de metilo (2,5 Kg) en tetrahydrofurano anhidro (2,5 l) a 20-38 °C. La mezcla se agitó durante 30 minutos a 40-42 °C. A la masa de reacción de Grignard se añadió solución de cloruro de amonio (2,5 Kg de cloruro de amonio en 10 l de agua) y esta mezcla se agitó durante 20 minutos. La capa de tetrahydrofurano se separó y se concentró a presión reducida. El producto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice. Se calienta el producto purificado a 60 °C junto con 10 l de HCl al 10 % durante 3 horas para obtener 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal. Rendimiento: 65-70 % Pureza: 90 %.

8-bencil-2-(4-hidroxibencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona (coelenterazina)



Se cargó un matraz de fondo redondo de 50 l con 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (0,8 Kg) y 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal (1,4 Kg) seguido de 1,4-dioxano (10 l). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió ácido clorhídrico concentrado (1 l) y agua (1 l) a la vez que se hacía pasar gas nitrógeno y la mezcla de reacción se calentó a 80-85 °C durante 24 horas en un entorno de nitrógeno. Tras completar la reacción, se enfría la mezcla de reacción a 40 °C, a continuación se añade carbón activado (200 g) y gel de sílice activado (100 g) y se filtra.

Mientras tanto, se cargó otro matraz de fondo redondo de 50 l con HCl (15 l). Se añadió lentamente la mezcla de reacción anterior al HCl a 30-35 °C durante 1-1½ h. La mezcla se agitó durante 30 minutos a 30-35 °C. Se filtró el producto obtenido a través de un filtro Nutsche y se lavó con tolueno (1,5 l). El producto se secó a 40-45 °C en 8-10 h.

Se cargó el producto anterior (1,5 Kg) con dioxano-HCl (15 l) a temperatura ambiente. Se agitó esta mezcla durante 20 minutos y luego se calentó lentamente a 60 °C. La mezcla de reacción se agitó a 60-62 °C durante 12 h y a continuación se agitó durante 3 horas a 70-72 °C. El dioxano-HCl se retiró completamente a presión reducida y el residuo se enfrió a 40 °C. A continuación, el residuo se cargó con acetato de etilo (5 l) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. Se decantó la capa de acetato de etilo. Se cargó el residuo con diclorometano (5 l) y se agitó esta mezcla durante 35-40 minutos. Se filtró el compuesto a través de un filtro Nutsche. Al filtrado se le añadió diclorometano (2,5 l) y se agitó esta mezcla durante 25-30 minutos. Se filtró el compuesto una vez más y se cargó el material filtrado con n-hexano (4 l). La mezcla se agitó durante 20-25 minutos. El compuesto, 8-bencil-2-(4-hidroxibencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]pirazin-3(7H)-ona, se filtró una vez más y se lavó con n-hexano (1 l). El producto, 8-bencil-2-(4-hidroxibencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]pirazin-3(7H)-ona, se secó a presión reducida a 40-45 °C durante 7-8 horas. Rendimiento: 80 % Pureza: 60-65 %.

Aunque se han ilustrado y descrito realizaciones ilustrativas, se apreciará que pueden introducirse diversos cambios en las mismas sin abandonar el ámbito de la descripción.

REIVINDICACIONES

1. Un método para fabricar coelenterazina, que comprende:

5 acoplar 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (coelenteramina) con 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal para proporcionar 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona; y desproteger la 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona para proporcionar 8-bencil-2-(4-hidroxibencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona (coelenterazina).

2. El método de la reivindicación 1, en donde el acoplamiento del 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (coelenteramina) con el 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal se produce en una mezcla de disolventes que comprende dioxano, agua y HCl.

3. El método de la reivindicación 2, en donde el acoplamiento del 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol (coelenteramina) con el 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal se produce a una temperatura de 75 °C a 90 °C durante 12 a 36 horas en una atmósfera inerte.

4. El método de la reivindicación 1, en donde desproteger la 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona comprende una primera etapa de desprotección de exponer la 8-bencil-2-(4-(benciloxi)bencil)-6-(4-hidroxifenil)imidazo[1,2- α]pirazin-3(7H)-ona a HCl en un disolvente orgánico que comprende dioxano, y aislar y secar un producto desprotegido intermedio.

5. El método de la reivindicación 4, en donde la primera etapa de desprotección se produce a una temperatura de 25 °C a 40 °C.

6. El método de la reivindicación 4, comprende además una segunda etapa de desprotección de exponer el producto desprotegido intermedio seco a HCl en un disolvente orgánico que comprende dioxano.

7. El método de la reivindicación 6, en donde la segunda etapa de desprotección comprende calentar el producto desprotegido intermedio en HCl y el disolvente orgánico a una temperatura de aproximadamente 70 °C a 75 °C durante un periodo de 12 a 24 horas para proporcionar coelenterazina.

8. El método de la reivindicación 1, en donde la coelenterazina se obtiene con un rendimiento superior al 70 % a una pureza del 55 % al 70 % con respecto al 4-(5-amino-6-bencilpirazin-2-il)fenol.

9. El método de la reivindicación 1, que comprende además preparar el 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal haciendo reaccionar 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno en dos etapas para proporcionar 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal.

10. El método de la reivindicación 9, en donde la preparación de 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal no incluye más de una reacción catalizada por paladio.

11. El método de la reivindicación 9, que comprende una primera etapa de hacer reaccionar el 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno con 2,2-dimetoxiacetato de metilo, bromuro de etilo, magnesio y una cantidad catalítica de yodo para proporcionar 3-(4-(benciloxi)fenil)-1,1-dimetoxipropan-2-ona.

12. El método de la reivindicación 11, en donde la 3-(4-(benciloxi)fenil)-1,1-dimetoxipropan-2-ona se purifica por cromatografía en columna de sílice.

13. El método de la reivindicación 12, que comprende además una segunda etapa de hacer reaccionar la 3-(4-(benciloxi)fenil)-1,1-dimetoxipropan-2-ona con una solución acuosa de HCl para proporcionar el 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal.

14. El método de la reivindicación 10, en donde el 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal se aísla con un rendimiento de 60 a 75 % con una pureza del 85 al 95 % con respecto al 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno.

15. Un método de preparación de 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal, que comprende

60 proporcionar 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno, y hacer reaccionar el 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno en dos etapas para proporcionar 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal.

16. El método de la reivindicación 15, en donde el método no incluye más de una reacción catalizada con paladio.

17. El método de la reivindicación 15 que comprende una primera etapa de hacer reaccionar el 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno con 2,2-dimetoxiacetato de metilo, bromuro de etilo, magnesio y una cantidad catalítica de yodo para proporcionar 3-(4-(benciloxi)fenil)-1,1-dimetoxipropan-2-ona.
- 5 18. El método de la reivindicación 17, en donde la 3-(4-(benciloxi)fenil)-1,1-dimetoxipropan-2-ona se purifica por cromatografía en columna de sílice.
19. El método de la reivindicación 17, que comprende además una segunda etapa de hacer reaccionar la 3-(4-(benciloxi)fenil)-1,1-dimetoxipropan-2-ona con una solución acuosa de HCl para proporcionar el 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal.
- 10 20. El método de la reivindicación 15, en donde el 3-(4-(benciloxi)fenil)-2-oxopropanal se aísla con un rendimiento de 60 a 75 % con una pureza del 85 al 95 % con respecto al 1-(benciloxi)-4-(clorometil)benceno.

15