

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 954 113**

(51) Int. Cl.:

C07D 279/20	(2006.01)	A61P 25/00	(2006.01)
A61P 31/00	(2006.01)	A61P 31/14	(2006.01)
A61P 31/04	(2006.01)	A61P 35/00	(2006.01)
A61P 25/18	(2006.01)		
A61P 25/24	(2006.01)		
A61P 25/28	(2006.01)		
A61P 31/12	(2006.01)		
A61P 31/18	(2006.01)		
A61P 33/06	(2006.01)		
A61P 7/00	(2006.01)		

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.07.2007 E 15159302 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023 EP 2913327**

(54) Título: **Azul de metileno y su uso médico**

(30) Prioridad:

12.07.2006 FR 0606330

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.11.2023

(73) Titular/es:

**PROVEPHARM LIFE SOLUTIONS (100.0%)
Les Baronnies 22 rue Marc Donadille
13013 Marseille, FR**

(72) Inventor/es:

**FERAUD, M. MICHEL y
SAYAH, M. BABAK**

(74) Agente/Representante:

GONZÁLEZ PESES, Gustavo Adolfo

ES 2 954 113 T3

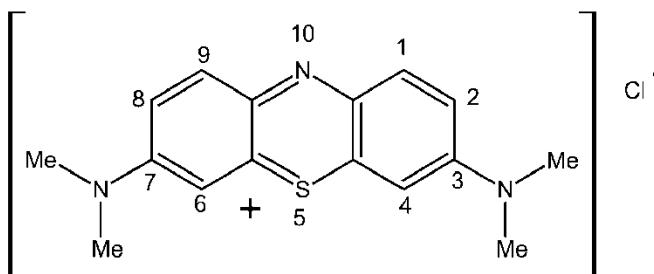
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Azul de metileno y su uso médico

La presente invención describe un nuevo proceso para preparar compuestos del tipo diaminofenotiazino, en particular un proceso para purificar estos compuestos. Se refiere en particular al azul de metileno, y se refiere al azul de metileno resultante de este proceso, cuyo grado de pureza es superior a los conocidos en la técnica anterior. También se refiere al uso de este azul de metileno para la preparación de medicamentos.

El cloruro de metiltionino, también conocido como azul de metileno o cloruro de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazina-5-ilio, es un compuesto orgánico que corresponde a la fórmula siguiente:



Este compuesto se ha utilizado durante mucho tiempo como colorante e indicador redox, como revelador óptico en sistemas biofísicos, en materiales nanoporosos como material separador y en imágenes fotoelectrocromáticas. También es conocida por sus aplicaciones como antiséptico, antiinfeccioso, antídoto y agente de diagnóstico. Se utiliza en ginecología, neonatología, oncología, urología, oftalmología y gastroenterología. Se están desarrollando nuevos usos terapéuticos, como la reducción de contaminantes patógenos en la sangre (GB2373787), la prevención o inhibición de una respuesta hemodinámica excesiva (WO03/082296).

Se han descrito numerosos métodos sintéticos para este compuesto, empezando por el más antiguo en 1877 (patente alemana nº 1886). Todos estos métodos tienen en común el uso de compuestos metálicos en al menos una etapa de la síntesis:

La patente DE-1886 describe un proceso en el que el N,N-dimetil-1,4-diaminobenceno se acopla oxidativamente con H₂S/YFeCl₃.

Fiez David et al, "Fundamental Processes of Dye Chemistry", 1949, Interscience, 308-314 describe un proceso en el que el anillo de tiazina se forma por tratamiento con dióxido de manganeso o sulfato de cobre. Este proceso también incluye el tratamiento con cloruro de zinc, dicromato de sodio y tiosulfato de aluminio.

El documento WO 2005/054217 describe derivados del azul de metileno y un procedimiento para su preparación. El método de preparación de estos compuestos utiliza fenotiazina como material de partida. Sin embargo, todos los métodos conocidos para preparar fenotiazina utilizan reactivos metálicos cuyos átomos metálicos quelan la fenotiazina al final de la síntesis. Los productos obtenidos mediante este proceso están, por tanto, contaminados de forma natural con residuos metálicos, además de los contaminantes orgánicos habituales, como el azufre B.

El documento WO 2006/032879 describe un procedimiento para preparar azul de metileno que comprende una etapa de reducción con hierro, una etapa de oxidación con dicromato sódico y una etapa de oxidación con sulfato de cobre.

Estos procesos requieren una purificación tediosa y costosa para reducir las impurezas, en particular las impurezas metálicas del azul de metileno. A pesar de los subsiguientes pasos de purificación, estos diferentes procesos conducen inevitablemente a un azul de metileno que contiene numerosas impurezas metálicas y también impurezas orgánicas, en particular azufre B, azufre C y azufre A.

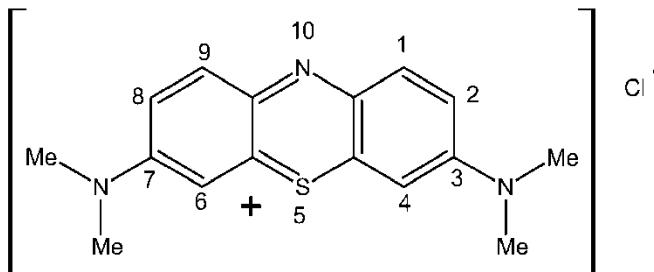
El documento WO 2006/032879 afirma poder alcanzar un nivel de impurezas metálicas que representa el 10% del umbral máximo establecido por la Farmacopea Europea, pero los ejemplos muestran que este nivel no se alcanza simultáneamente para todos los metales y que los resultados de las etapas de purificación no siempre son reproducibles. En este documento se ilustra un análisis detallado del contenido metálico de varios azules de metileno disponibles en el mercado.

La Farmacopea Europea se modificó recientemente (abril de 2006) para aumentar los umbrales de tolerancia de impurezas metálicas porque ningún productor de azul de metileno era capaz de producir, y mucho menos en cantidades industriales, azul de metileno de una calidad que cumpliera sus requisitos anteriores.

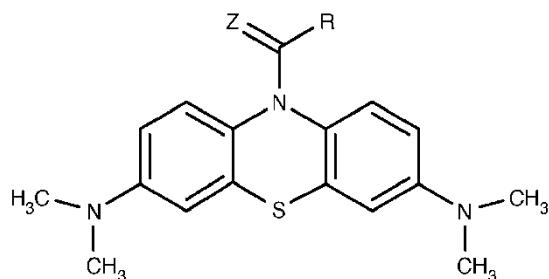
La invención se asocia al desarrollo de un procedimiento de preparación del azul de metileno que permite obtener un azul de metileno de gran pureza, en particular con un nivel muy bajo de impurezas metálicas y orgánicas, que puede

escalarse a escala industrial en condiciones económicas satisfactorias, y que no está sujeto a variaciones de calidad. En una variante, el proceso es un proceso de purificación de azul de metileno.

El proceso es un proceso para la preparación de azul de metileno correspondiente a la fórmula (I) siguiente:



- 5 Este proceso comprende al menos un paso durante el cual un compuesto de fórmula (II):



se somete a una etapa de purificación en condiciones que permitan separar los compuestos metálicos de los compuestos de fórmula (II), en la que R representa un grupo elegido entre:

- 10 • un grupo fenilo o bencilo, opcionalmente sustituido por una o más funciones elegidas entre: un alquilo C₁-C₄, un átomo de halógeno, un haloalquilo C₁-C₄ o un grupo nitro,
- un grupo alquilo lineal, ramificado o cíclico C₁-C₈,
- un grupo alquilamino C₁-C₈,
- un grupo alcoxi C₁-C₈,
- 15 • un grupo feniloxi o benciloxi opcionalmente sustituido en el anillo aromático por una o más funciones elegidas entre: un alquilo C₁-C₄, un átomo de halógeno, un haloalquilo C₁-C₄, un grupo nitro, Z representa un átomo elegido entre O y S.

20 La purificación de los compuestos de fórmula (II) se lleva a cabo en condiciones que permitan separar los compuestos metálicos de los compuestos de fórmula (II): filtración sobre un soporte capaz de retener los compuestos metálicos, cristalización en un disolvente adecuado o cualquier otro método conocido por el experto en la materia.

25 Cuando la purificación se realiza por filtración sobre un soporte capaz de retener los compuestos metálicos, dicho soporte puede elegirse entre: gel de sílice, gel de alúmina (neutro, básico o ácido), diatomita opcionalmente modificada, celita, una membrana microporosa, resinas injertadas con grupos sensores de metales y fibras injertadas con grupos sensores de metales, como funciones tiol, ácido carboxílico o amina terciaria, o cualquier otro soporte que tenga la propiedad de retener metales. Las fibras injertadas incluyen productos comercializados por Johnson Matthey bajo la marca Smopex®. Las diatomitas incluyen productos comercializados por la CECA bajo la marca Clarcel®.

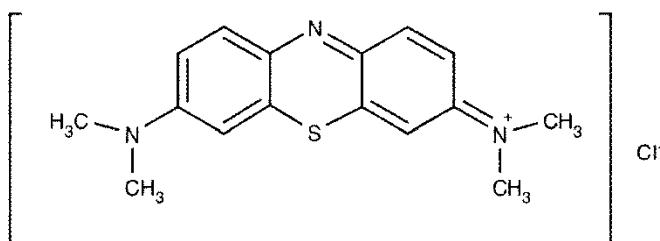
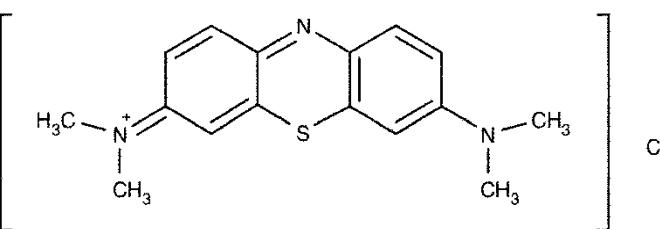
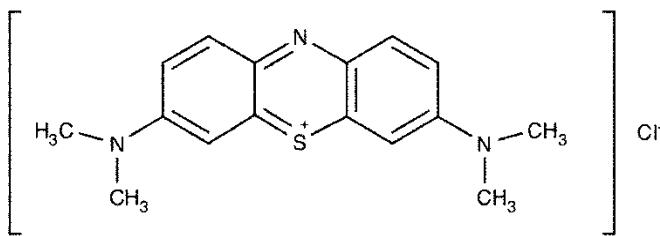
30 El compuesto de fórmula (II) puede obtenerse a partir del compuesto de fórmula (I), por reducción del compuesto de fórmula (I) y luego por reacción de la función amina del anillo de fenotiazinio con un grupo protector adecuado R-CZ-Y en el que R y Z tienen la misma definición que arriba e Y representa un grupo saliente elegido entre : un átomo de halógeno como F, Cl, I o Br, un grupo alcoxic₁-C₆, un grupo -OCOR (anhídrido) o un grupo hidroxilo, opcionalmente en presencia de un activador del tipo diciclohexilcarbodiimida (DCC). Ventajosamente, R se elige entre un grupo fenilo y un grupo tolueno.

35 Cuando el compuesto de fórmula (II) se obtiene a partir del compuesto de fórmula (I), el proceso global es una purificación del compuesto de fórmula (I). Sin embargo, el compuesto de fórmula (II) puede obtenerse por otros procedimientos que no utilicen el producto (I) como material de partida.

Ciertos compuestos de fórmula (II) como el azul de benzoilo leuco metileno están disponibles comercialmente.

El compuesto representado por la fórmula (I) puede representarse mediante varias estructuras resonantes equivalentes. A título ilustrativo y no limitativo, a continuación se muestran otras estructuras equivalentes a la de fórmula (I):

5



- 10 Ventajosamente Z representa O.

Según la invención, el compuesto de fórmula (I) es cloruro de tetrametiltionina o azul de metileno.

- 15 El procedimiento de preparación del compuesto de fórmula (I) comprende al menos una etapa de purificación de un compuesto de fórmula (II), en particular esta purificación comprende al menos una etapa de filtración de un compuesto de fórmula (II) sobre un soporte capaz de retener los compuestos metálicos, como, por ejemplo, gel de sílice, gel de alúmina (neutro, básico o ácido), diatomita opcionalmente modificada, una resina funcionalizada por sensores metálicos, fibras funcionalizadas por sensores metálicos, celita, una membrana microporosa o cualquier otro soporte capaz de retener los compuestos metálicos.

- 20 Más detalladamente, según esta variante, el compuesto de fórmula (II) se disuelve en un disolvente adecuado, se prepara un filtro con el medio de filtración que se introduce en un recipiente adecuado, como una columna de vidrio, un filtro de vidrio sinterizado o una centrifugadora industrial. El recipiente lleno del medio de filtración elegido se humedece, preferentemente con el mismo disolvente en el que se disuelve el compuesto de fórmula (II).

La solución que contiene el compuesto de fórmula (II) se deposita sobre el filtro, se recupera la solución que atraviesa el filtro, se enjuaga el filtro varias veces con un disolvente idéntico o diferente al utilizado para solubilizar el compuesto de fórmula (II). Las fracciones eluidas se recuperan y se concentran si es necesario.

- 25 Entre los disolventes que pueden utilizarse para solubilizar los compuestos de fórmula (II), pueden mencionarse preferentemente los siguientes: disolventes clorados, como díclorometano o cloroformo, por ejemplo, alcoholes como isopropanol, etanol, metanol o acetonitrilo, acetato de etilo, tetrahidrofurano, o una mezcla de estos disolventes.

- 30 La solución del compuesto de fórmula (II) tiene ventajosamente una concentración comprendida entre 1 g/l y 10³ g/l. Las concentraciones más bajas conducen al uso de volúmenes excesivos de disolvente, con consecuencias para la seguridad y el tamaño del equipo. Es difícil prever concentraciones más elevadas debido a la solubilidad de los productos.

- 35 Se utilizan aproximadamente de 0,1 a 10 kg de medio de filtración por kg de producto a filtrar. Es ventajoso enjuagar el filtro con 0,1 a 50 l de disolvente por kg de producto de fórmula (II) hasta la elución total del producto de fórmula (II). El proceso tiene la ventaja de eliminar las impurezas metálicas del producto de fórmula (II).

Cuando se elige purificar el compuesto de fórmula (II) por cristalización, un disolvente se elige ventajosamente entre: un alcohol como el etanol, un disolvente clorado como el cloruro de metileno.

Ventajosamente, el compuesto de fórmula (II) se produce a partir del compuesto de fórmula (I) que se hace reaccionar con un grupo protector R-CZ-Y en el que Y se elige ventajosamente entre : F, Cl, Br, I, un grupo alcoxi Ci-Ce, un grupo -OCOR (anhídrido), un grupo hidroxilo, opcionalmente en presencia de un activador del tipo diciclohexilcarbodiimida (DCC).

La reacción se lleva a cabo convencionalmente en un medio básico o neutro en agua o en una mezcla de agua y otro disolvente como, por ejemplo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, diclorometano o cualquier otro disolvente orgánico adecuado.

10 La reacción es exotérmica, y se utilizan preferentemente medios de refrigeración para mantener la temperatura de la mezcla en torno a la temperatura ambiente.

El producto de partida (I) es comercial o se prepara por métodos conocidos, como los descritos en WO 2006/032879.

15 En general, el producto de fórmula (I) se prepara mediante procesos de síntesis que implican el uso de derivados metálicos que se encuentran como impurezas en el producto (I), azul de metileno.

El compuesto de fórmula (I) no puede liberarse de sus impurezas metálicas y orgánicas de manera directa, sencilla y eficaz. Los métodos anteriores implican recristalizaciones sucesivas, que no dan rendimientos satisfactorios y conducen a productos con impurezas residuales difíciles de controlar.

20 Además, el producto de fórmula (I) tiene la propiedad de quesar metales mientras que los productos (II) son no quelantes. Su purificación es, por tanto, mucho más eficaz que la purificación directa del compuesto de fórmula (I).

En las distintas etapas del proceso, se tiene cuidado de utilizar materiales no metálicos, reactivos y disolventes libres de residuos metálicos para no introducir contaminación externa.

25 Una vez purificado el producto de fórmula (II), en particular sometido a filtración, se realiza ventajosamente una etapa de desprotección de la amina del anillo de fenotiazina del compuesto de fórmula (II). Esta desprotección se lleva a cabo por cualquier medio conocido por el experto en la materia, evitando la introducción de contaminantes metálicos y en condiciones que eviten la degradación del compuesto de fórmula (I). Los métodos que pueden utilizarse para desproteger el grupo R-CZ- incluyen: quinonas, como la 2,3-dicloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinona (DDQ), HNO₃, HClO₄, I₂, HCl, H₂SO₄, H₂O₂, tratamiento con radiación ultravioleta. Para este paso se utiliza preferentemente una quinona, y muy preferentemente 2,3-dicloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinona. Ventajosamente, esta reacción de desprotección se lleva a cabo en un disolvente elegido entre acetato de etilo, acetonitrilo, tetrahidrofurano y acetona. El disolvente preferido para este paso es el acetonitrilo.

30 Las condiciones de desprotección ventajosas prevén el uso de 0,80 a 1,1 equivalentes molares de DDQ en relación con el compuesto (II), incluso más ventajosamente de 0,85 a 1,05 equivalentes molares de DDQ en relación con el compuesto (II), ventajosamente de 0,90 a 1 equivalente molar. Preferentemente, esta desprotección se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre -40°C y -5°C. Aunque no se excluye totalmente, una temperatura más baja tendría el inconveniente de alargar los tiempos de reacción, mientras que una temperatura más alta podría dar lugar a la formación de subproductos.

35 Dependiendo de los medios de desprotección empleados, puede ser necesario realizar un intercambio iónico para obtener el compuesto de fórmula (I) que contiene el anión X⁻ deseado. Este intercambio iónico se realiza por tratamiento con HCl, ventajosamente en acetato de etilo. Podrían utilizarse otros disolventes, pero es probable que algunos den lugar a la formación de subproductos.

40 Las condiciones de desprotección de los compuestos de fórmula (II) expuestas anteriormente son especialmente ventajosas porque permiten obtener un compuesto de fórmula (I) sin introducir impurezas metálicas ni formar impurezas orgánicas durante esta etapa. Según una variante de la invención, puede ser posible purificar el compuesto de fórmula (II) por medios distintos de la filtración sobre un soporte capaz de retener metales, como por cristalización en un disolvente adecuado. Según esta variante, el compuesto de fórmula (II) se desprotege a continuación utilizando cualquier medio de desprotección que no implique el uso de compuestos metálicos, en particular utilizando una quinona, en particular DDQ, preferentemente en las condiciones expuestas anteriormente.

45 El azul de metileno puede obtenerse mediante un proceso de preparación caracterizado porque comprende al menos un paso de desprotección del grupo R-CZ- de la amina del anillo de fenotiazina del compuesto de fórmula (II) utilizando medios de desprotección que no implican el uso de compuestos metálicos.

50 Por "medios de desprotección que no implican el uso de compuestos metálicos" se entiende el uso de reactivos y disolventes no metálicos que no contengan residuos metálicos (preferentemente < 0,01 ppm), en reactores que no contengan partes metálicas, como los reactores esmaltados, por ejemplo.

Los medios que pueden utilizarse para desproteger el grupo R-CZ- incluyen: quinonas, como la 2,3-dicloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinona (DDQ), HNO₃, HClO₄, I₂, HCl, H₂SO₄, H₂O₂, tratamiento con radiación ultravioleta. Para este paso se utiliza preferentemente una quinona, y muy preferentemente 2,3-dicloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinona. Ventajosamente, se utilizan las condiciones de procesamiento DDQ descritas anteriormente.

5 El método de desprotección del compuesto (II) al compuesto (I) permite obtener un compuesto (I) que no contiene impurezas metálicas adicionales en comparación con el producto (II). Además, estas condiciones de desprotección impiden la formación de productos orgánicos de degradación. El compuesto de fórmula (I) es de estabilidad limitada y el uso de ciertas condiciones de tratamiento conduce a la degradación, por ejemplo del azul de metileno en Azur A, B y C, que luego son difíciles de separar.

10 El proceso de la invención proporciona acceso a un compuesto de fórmula (I) libre de contaminantes metálicos y de alta pureza química, de manera fiable, reproducible y aplicable industrialmente. Estas cualidades son esenciales para poder suministrar un producto de calidad farmacéutica de fórmula (I).

En particular, el proceso de preparación o purificación descrito anteriormente permite obtener de forma reproducible en cantidades industriales un azul de metileno o cloruro de tetrametiltionina que comprende 0,02 µg/g o menos de cadmio por g de azul de metileno. El procedimiento descrito da acceso a un azul de metileno o cloruro de tetrametiltionina con una pureza superior al 97%, preferentemente superior al 98%, mejor aún superior al 99%, medida por HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) en las condiciones de la farmacopea Europea 5.4 (edición de abril de 2006) y que contenga menos de 4,5 µg/g de aluminio, ventajosamente menos de 3 µg/g de aluminio, aún más ventajosamente menos de 2,5 µg/g de aluminio por g de azul de metileno.

20 El procedimiento descrito anteriormente da acceso a un cloruro de azul de metileno o de tetrametiltionina con un grado de pureza superior al 97%, preferentemente superior al 98%, aún mejor superior al 99%, medido por HPLC en las condiciones de la farmacopea Europea 5.4 (edición de abril de 2006) y que contenga menos de 0,5 µg/g de estaño por g de azul de metileno.

25 El procedimiento descrito anteriormente da acceso a un cloruro de azul de metileno o de tetrametiltionina con un grado de pureza superior al 97%, preferentemente superior al 98%, aún mejor superior al 99%, medido por HPLC en las condiciones de la farmacopea Europea 5.4 (edición de abril de 2006) y que contenga menos de 0,95µg/g de cromo, ventajosamente menos de 0,90µg/g, mejor aún, menos de 0,80µg/g por g de azul de metileno.

30 El procedimiento descrito anteriormente es el único que da acceso, en cantidades industriales, a un cloruro de azul de metileno o de tetrametiltionina que comprende menos del 3% de impurezas, preferentemente menos del 2%, mejor aún menos del 1%, medidas por HPLC en las condiciones de la farmacopea Europea 5.4 (edición de abril de 2006) y un nivel de impurezas metálicas inferior a 20 µg/g, ventajosamente inferior a 15 µg/g, aún más ventajosamente inferior a 10 µg/g.

35 El azul de metileno se ha utilizado durante décadas en el tratamiento de diversas infecciones. Se utiliza como antiséptico, antiinfeccioso, antídoto y agente de diagnóstico. Recientemente se ha demostrado su actividad antivírica, y podría utilizarse en la preparación de un medicamento destinado a combatir una patología como una infección, en particular un choque séptico, la presencia de contaminantes patógenos en la sangre o el plasma, una reacción hemodinámica excesiva, una infección por el VIH, el virus del Nilo Occidental, el virus de la hepatitis C, la enfermedad de Alzheimer, el paludismo, el cáncer de mama y los trastornos maníaco-depresivos.

Por último, también podría utilizarse en cosmética o para productos destinados a la aplicación oftálmica.

40 Para todas estas aplicaciones terapéuticas, y en particular en el contexto de la prevención y el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, es necesario disponer de un azul de metileno con un alto grado de pureza y, en particular, con muy pocas impurezas metálicas.

Otro objeto de la invención es un medicamento que comprende un azul de metileno de la invención en un portador farmacéuticamente aceptable.

45 El portador y las cantidades de azul de metileno que deben administrarse son bien conocidos por los expertos en la materia.

La solicitud describe un proceso para preparar un medicamento que comprende un compuesto de fórmula (I), caracterizado porque este proceso comprende al menos una etapa de proceso como se ha descrito anteriormente, en particular una etapa de purificación del compuesto de fórmula (I) y/o una etapa de desprotección del compuesto (II) en (I).

Parte experimental

Un azul de metileno comercial se purifica de acuerdo con el proceso mostrado en la figura 1.

1- Síntesis del azul de benzoílo metileno Leuco (Etapa A)

En un reactor encamisado de 120 L equipado con agitación y bajo nitrógeno, :

- 80 litros de agua destilada,
- 4,2 kg (10,7 moles) de azul de metíleno comercializado por LEANCARE LTD con la referencia CI 52015, que contiene grandes cantidades de impurezas metálicas (Al, Fe, Cu, Cr).

5 Dejar durante 15 min con agitación y añadir a continuación 6,9 kg de hidrosulfito sódico $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ en solución acuosa al 85%. El color cambia de azul a beige. Dejar 45 minutos más removiendo y, a continuación, añadir 2,69 kg de sosa en forma de pastillas. La temperatura de reacción se mantiene entre 18 y 20°C. El tiempo de adición es de 30 minutos, con agitación durante otros 30 minutos. A continuación, se añaden gota a gota 7,90 litros de cloruro de benzoilo. La mezcla de reacción adquiere un color beige verdoso. El tiempo de adición es de 2 horas y luego se deja remover durante 20 horas.

Tratamiento:

10 Tras detener la agitación, dejar reposar durante 15 minutos y eliminar el sobrenadante por succión. Añadimos 80 litros de agua (25 volúmenes) y, tras agitar y decantar, aspiramos de nuevo el sobrenadante. Se añaden 24 L de EtOH y, tras agitar durante unos 5 min, se añaden 16 L de agua. Despues de agitar durante 15 minutos, la mezcla se filtra utilizando una receta. Esta operación se repite 3 veces. Tras el secado, el resultado es de 2,9 kg (Rdt : 66%) de azul de benzoil leuco metíleno.

2- Depuración

15 Se utilizan 4,25 kg de azul de benzoil leuco metíleno de la primera etapa, solubilizado en 30 L de CH_2Cl_2 . Filtrar a través de 3 partes de sílice (Merck Gerudan Si60) (11,5 kg) y 0,5 kg de arena Fontainebleau y aclarar con 30 litros de CH_2Cl_2 . El CH_2Cl_2 se elimina por evaporación al vacío. Se añaden 6 litros de etanol. La mezcla se deja remover en frío y luego se filtra según la receta. Secado al vacío. 3,4 kg de azul de benzoil leuco metíleno purificado (Rdt : 80%).

Pureza : +99% HPLC

Metales: el contenido en metales (en $\mu\text{g/g}$) se indica para 3 pruebas en la tabla 1.

25

Tabla 1

Ensayo	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Al	0,5	0,5	0,1
Cu	0	0	0,4
Fe	0	0	0,1
Zn	0,9	0,7	0,5
Ni	0,1	0,1	0,1
Cr	0,3	0,3	0,03
Mo	0,1	0,1	0,1
Mn	0,02	0	0
Sn	0,5	0,4	0,5
Pb	5	3,2	2,4
Cd	0,2	0,2	0,07

3- Desbenzoilación

En un reactor esmaltado enchaquetado de 100 l a temperatura ambiente, :

- 45 L de acetonitrilo (ACN)
- 1,6 kg del azul de benzoil leuco metíleno de la segunda etapa y colocar bajo agitación. Se deja agitar durante 30 min a temperatura ambiente y, a continuación, se baja la temperatura a -18°C. En una porción, se añaden 950 g de DDQ solubilizado en 4 L de ACN. Dejar agitar durante 2 horas a -18°C. Filtrar. Se obtiene un complejo de 3,7-bis(dimetil amino)fenotiazina con DDQ que se utiliza directamente en el siguiente paso.

4- Salificación

- 10 En el reactor enchaquetado esmaltado, la torta de la tercera etapa se reintroduce en varios trozos. Se añaden 4 L de AcOEt. Dejar actuar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se baja la temperatura a -18°C. Se añaden 2,5 kg de HCl a 16 L de AcOEt (solución 4N). Se agita durante 2 horas a -18°C. La torta se filtra y se devuelve al reactor. Añadir 30 L de AcOEt a -18°C y filtrar de nuevo.

5- Neutralización

- 15 Se añaden 30 L de acetona, seguidos de una solución de 200 g de NaOH solubilizada en 500 ml de agua. El producto de la cuarta etapa se introduce en el reactor con 30 L de acetona. El medio se agita durante 1 hora a temperatura ambiente. El pH es de 4,0. Filtramos. La receta está envasada al vacío.

6- Depuración e hidratación

- 20 En un reactor esmaltado de 40 L bajo N_2 , a temperatura ambiente, se introdujeron 1,9 kg del producto de la quinta etapa y 30 L de la mezcla 50/50 $CH_2Cl_2/EtOH$. Calentar a reflujo (43°C). Filtrar en caliente con un filtro de microfibra (Whatman GF/D). Esta operación se realiza dos veces. El reactor se limpia con agua desmineralizada. El filtrado se devuelve al reactor. Se destilan 24 litros de disolvente al vacío a 28°C (3h). El medio se devuelve al reactor. Se añade 1 litro de agua microfiltrada. Enfriar a -18°C. Añadir 40 L de AcOEt y dejar toda la noche con agitación en frío. Filtramos. Se añaden 10 L de AcOEt. Se obtienen 1,4 kg de azul de metíleno purificado en forma trihidratada.

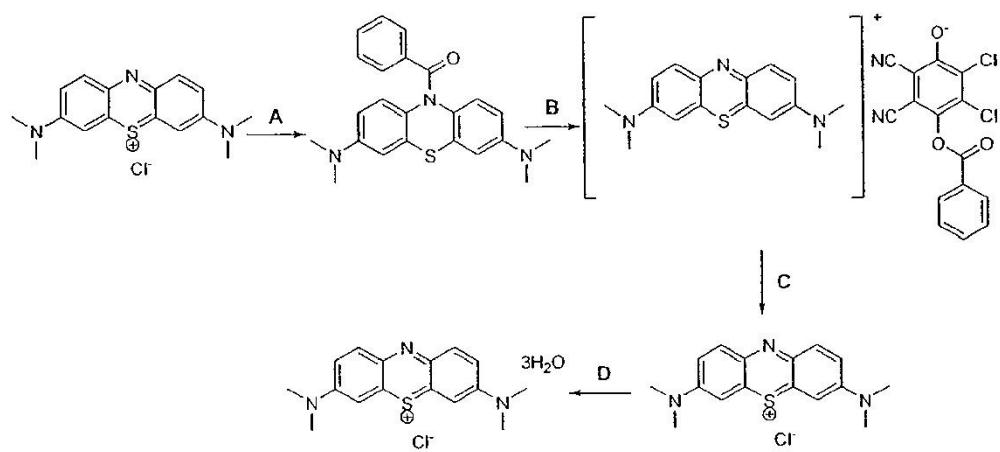
- 25 Las impurezas metálicas se analizan e indican en la Tabla 2.

Tabla 2

elemento	Cantidad ($\mu\text{g/g}$)
Al	1,3
Cu	0,5
Fe	1,9
Zn	1,7
Ni	0,5
Cr	0,8
Mo	0,2
Mn	0,08
Sn	0,4
Pb	0,1
Cd	0,04

REIVINDICACIONES

1. Azul de metileno con menos del 3% de impurezas, medidas por HPLC en condiciones de la Farmacopea Europea 5.4, y un contenido en metales inferior a 20 µg/g.
- 5 2. Azul de metileno según la reivindicación 1 que comprende menos del 3% de impurezas, medidas por HPLC en las condiciones de la Farmacopea Europea 5.4, y un contenido en metales inferior a 15 µg/g.
3. Azul de metileno según la reivindicación 2 que comprende menos del 3% de impurezas, medidas por HPLC en las condiciones de la Farmacopea Europea 5.4, y un contenido en metales inferior a 10 µg/g.
4. Medicamento que comprende un azul de metileno según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en un portador farmacéuticamente aceptable.
- 10 5. Uso de un azul de metileno según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento de una patología seleccionada entre: una infección, un choque séptico, la presencia de contaminantes patógenos en la sangre o el plasma, una reacción hemodinámica excesiva, una infección por el VIH, el virus del Nilo Occidental, el virus de la hepatitis C, la enfermedad de Alzheimer, el paludismo, el cáncer de mama, los trastornos maníaco-depresivos.

Sistema sintético de azul de metileno

- A. $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$, NaOH , Cloruro de benzoilo
 B. DDQ/ CH_3CN
 C. Intercambio iónico después $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}$ pH 4
 D. Hidratación (H_2O)

Figura 1