PROCEDE DE PREPARATION DU CARMIN D'INDIGO

La présente invention concerne un nouveau procédé de préparation de la molécule de carmin d'indigo, ce procédé permettant d'atteindre un degré de pureté élevé, tout en étant très simple de mise en œuvre et présentant des rendements élevés.

Etat de la technique antérieure

Le carmin d'indigo, également connu sous les noms de 5,5'-indigosulfonate de di-sodium et de 3,3'-dioxo-2,2'-bis-indolyden-5,5'-disulfonate de di-sodium (numéro CAS 860-22-0) est connu pour ses utilisations comme colorant, dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et cosmétique, mais aussi dans le domaine de l'impression, de la photographie (R.W. Sabnis, Handbook of Biological Dyes and Stains, 2010, Wiley and Sons, p.239). Dans le domaine alimentaire, l'indigo carmin fait l'objet de spécifications qui sont rapportées dans EFSA Journal 2014 ; 12(7) : 3768. Dans le domaine pharmaceutique il est utilisé notamment pour la coloration des tissus, pour la détection de certaines cellules tumorales. Le 5,5'-indigosulfonate de di-sodium est généralement obtenu à partir de l'indigo ou 2-(1,3-dihydro-3-oxo-2H-indole-2-ylidène)-1,2-dihydro-3H-indole-3-one (numéro CAS : 482-89-3), suivant une réaction résumée sur le schéma 1 ci-dessous :

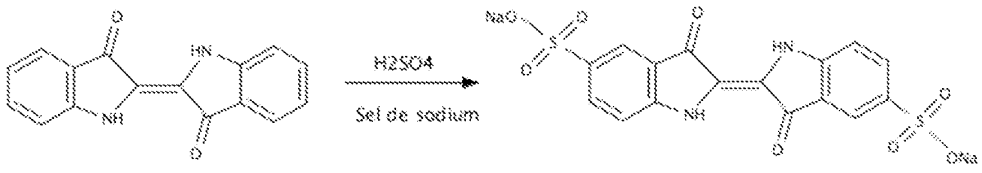
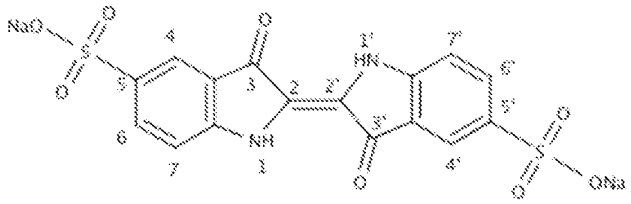


Schéma 1

Toutefois, au cours de cette réaction, il se forme habituellement d'autres composés mono-, di- tri- ou tétrasulfonatés, majoritairement sur les positions 5, 5', 7, 7'.



5,5'-indigosulfonate de di-sodium

Les isomères disulfonatés sont présents en quantités importantes, et leurs propriétés physico-chimiques sont très proches de celles de l'indigo carmin. La proximité de structure des molécules disulfonatées rend leur séparation fastidieuse. La présence d'isomères disulfonatés présente l'inconvénient, pour les applications médicales ou de diagnostic, d'introduire dans l'organisme du patient des contaminants non désirés. Sung-Hoon Kim et al., Korean J. Anesthesiol. 2011 Nov ; 61(5) : 435-438 ont décrit des cas d'hypotension chez des patients auxquels un indigo carmin contenant des impuretés avait été administré. Ces effets secondaires ont été attribués aux impuretés.

L'objectif de l'invention a donc été de mettre au point un procédé de préparation de 5,5'-indigosulfonate de di-sodium sensiblement dépourvu d'impuretés, et notamment d'impuretés disulfonatées. On a cherché à mettre au point un procédé qui donne accès à un 5,5'-indigosulfonate de di-sodium conforme aux exigences de l'EFSA dans le domaine alimentaire et à la norme ICH dans le domaine pharmaceutique (International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use ; ICH harmonised tripartite guideline - Impurities in new drug substances - Q3A(R2) ; *Step 4* version ; 25 October 2006). La norme ICH spécifie qu'un principe actif ne devrait pas contenir d'impuretés non identifiées en une teneur supérieure ou égale à 0,10% par rapport au principe actif. On a cherché à mettre au point un procédé qui soit rapide, peu coûteux, efficace, avec des rendements élevés, facilement extrapolable à l'échelle industrielle.

Résumé de l'invention

L'invention concerne un procédé de préparation de 5,5'-indigosulfonate de di-sodium, le produit de départ étant de l'indigo, ce procédé comprenant les étapes suivantes :

i) l'indigo est soumis à un traitement de sulfonation conduisant à un mélange qui contient de l'acide 5,5'-indigosulfonique,

ce procédé étant caractérisé en ce que :

ii) on applique un traitement de réduction au mélange obtenu à l'étape i), et éventuellement une étape de purification, de façon à obtenir une composition comprenant de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique,

iii) l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est isolé de la composition issue de l'étape ii),

iv) l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique issu de l'étape iii) est oxydé en 5,5'-indigosulfonate de di-sodium.

Selon un mode de réalisation préféré, le traitement de réduction de l'étape i) est mis en œuvre au moyen de dithionite de sodium en milieu aqueux.

Selon un mode de réalisation préféré, l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique précipite dans le milieu réactionnel à l'issue de l'étape ii).

Selon un mode de réalisation préféré, l'étape iii) comporte au moins une étape consistant en :

iiia) une filtration de la composition issue de l'étape ii),

iiib) la récupération du solide retenu sur le filtre.

Avantageusement, l'étape iii) comporte en outre après l'étape iiib) au moins une étape iiic) consistant en un lavage du solide par un milieu aqueux.

Avantageusement encore, l'étape iiic) est appliquée de une à cinq fois.

Selon un mode de réalisation préféré, la composition obtenue à l'issue de l'étape iii) comporte au moins 90% en moles d'acide leuco-5,5'-indigosulfonique par rapport au nombre de moles total de la composition.

Selon un mode de réalisation préféré, l'étape iv) comporte au moins une étape iva) consistant en un traitement par une base en milieu alcoolique en présence d'un agent oxydant.

Avantageusement, l'étape iva) consiste en un traitement par de l'éthanolate de sodium dans de l'éthanol, en présence d'un agent oxydant.

Avantageusement, l'agent oxydant est de l'oxygène gazeux.

Selon un mode de réalisation préféré, le procédé comporte en outre, après l'étape iva), au moins une étape ivb) consistant en un ou plusieurs lavages par un ou plusieurs solvants alcooliques et/ou hydroalcooliques.

L'invention concerne également l'utilisation du procédé défini ci-dessus pour produire une composition comprenant au moins 99,5% de 5,5'-indigosulfonate de di-sodium, le % étant mesuré par chromatographie en phase liquide à haute pression avec une détection à 290nm.

L'invention concerne encore l'utilisation du procédé tel que défini ci-dessus pour produire une composition dans laquelle aucune impureté n'est présente en quantité supérieure à 0,10%, le % étant mesuré par chromatographie en phase liquide à haute pression avec une détection à 290nm.

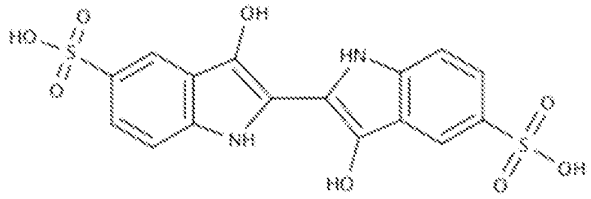
L'invention concerne aussi un procédé de fabrication d'un médicament ou d'un produit de diagnostic comprenant du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium, ce procédé comprenant la fabrication du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium par le procédé décrit ci-dessus et de façon détaillée ci-dessous, et l'introduction du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium dans un support pharmaceutiquement acceptable.

L'invention concerne également un procédé de fabrication d'une composition alimentaire comprenant du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium, ce procédé comprenant la fabrication du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium par le procédé décrit ci-dessus et

de façon détaillée ci-dessous, et l'introduction du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium dans un support compatible avec une application alimentaire.

Par exemple, ce dernier procédé peut concerner la fabrication d'une composition de colorant alimentaire, ou d'une composition alimentaire colorée.

Les inventeurs ont observé de façon étonnante que l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique pouvait être facilement séparé de ses isomères disulfonatés, obtenus par sulfonation de l'indigo et application d'un traitement de réduction, tandis que les mélanges d'acide 5,5'-indigosulfonique et ses isomères disulfonatés, sous forme acide ou sous forme de di-sels de sodium, sont difficiles à séparer.



Acide leuco-5,5'-indigosulfonique

En effet, la réduction a été faite dans un milieu réactionnel dans lequel l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est peu soluble, tandis que ses contaminants, notamment ses isomères disulfonatés, sont solubles dans ce milieu.

Le passage par ces produits intermédiaires à l'état réduit permet donc une séparation efficace, avec des rendements élevés. On récupère ainsi l'acide leuco 5,5'-indigosulfonique. Le produit isolé peut ensuite être soumis à un traitement d'oxydation de façon à former un 5,5'-indigosulfonate de di-sodium présentant un niveau de pureté élevé.

Description détaillée

Etape i) : sulfonation de l'indigo

Le produit de départ est l'indigo ou 2-(1,3-dihydro-3-oxo-2H-indole-2-ylidène)-1,2-dihydro-3H-indole-3-one (CAS : 482-89-3). L'indigo est soumis à un traitement de sulfonation suivant le schéma 2 ci-dessous :

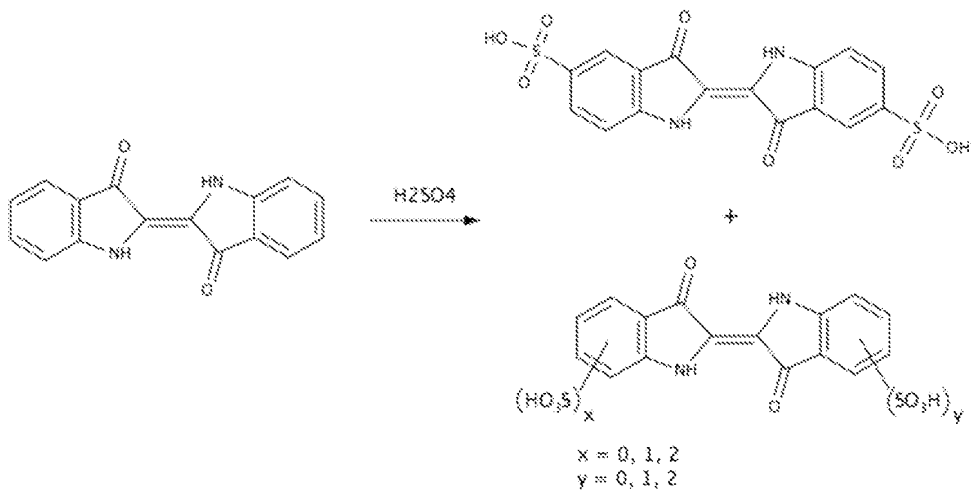


Schéma 2 : Réaction de sulfonation de l'indigo

Cette réaction connue est habituellement mise en œuvre par traitement par de l'acide sulfurique. On peut par exemple se reporter aux publications suivantes : US-647280 ; Tudora Baltac et al., Revista de Chimie (Bucharest, Romania) (2012), 63(6), 618-620 ; Iqbal T. Shadi et al., Chemical Communications (Cambridge, United Kingdom) (2004), (12), 1436-1437 ; Capron, F. (1863), Blues and carmines of indigo: a practical treatise on the fabrication of every commercial product derived from indigo ; Philadelphia: H. C. Baird (https://catalog.hathitrust.org/Record/006218585) ; Vanessa Bianda et al., Bulgarian Journal of Science Education, Volume 22, Number 1, 2013 ; Charles E. Carraher et al., Journal of Macromolecular Science, Volume 15, Issue 5 1981, pages 773-785 ; R.W. Sabnis, Handbook of Biological Dyes and Stains, 2010, Wiley and Sons, p.239.

Toutefois, le procédé de l'invention n'est pas limité au produit de cette réaction et peut s'appliquer à toute composition comprenant de l'acide 5,5'-indigosulfonique et des isomères disulfonatés de l'acide 5,5'-indigosulfonique, quel que soit leur procédé d'obtention.

Lorsque la composition de départ est issue de la sulfonation de l'indigo, elle peut comprendre également, en plus de l'acide 5,5'-indigosulfonique et des isomères disulfonatés : de l'indigo, des dérivés monosulfonatés, trisulfonatés, tétrasulfonatés, ainsi que d'autres produits secondaires de cette réaction. Toutefois, de façon

habituelle, ces autres dérivés sont éliminés au moyen d'une méthode connue, telle que par exemple une chromatographie liquide à haute pression (CLHP).

Lorsque la composition de départ est issue de la sulfonation de l'indigo, elle comprend environ de 60 à 95 % de l'acide 5,5'-indigosulfonique et de 5 à 40 % d'isomères disulfonatés de préférence de 75 à 80 % de l'acide 5,5'-indigosulfonique et de 20 à 25 % d'isomères disulfonatés, les pourcentages étant donnés en nombre de moles par rapport à la somme des nombres de moles de l'ensemble des molécules disulfonatées. Toutefois, le procédé de l'invention peut s'appliquer à une composition comprenant un mélange d'isomères en toutes proportions.

Avantageusement, pour une mise en œuvre dans le procédé de l'invention, on utilise une composition de départ dans laquelle l'acide 5,5'-indigosulfonique et ses isomères disulfonatés représentent au moins 90 % molaire par rapport au nombre de moles total de la composition de départ, encore plus avantageusement au moins 95 %, et encore mieux au moins 98 %.

Par « isomères disulfonatés » de l'acide 5,5'-indigosulfonique, on entend toute molécule présentant la structure de l'indigo, ou 2-(1,3-dihydro-3-oxo-2H-indole-2-ylidène)-1,2-dihydro-3H-indole-3-one, porteuse d'une substitution par une fonction acide sulfonique ou sulfonate sur chacun des groupements indole. L'acide 5,7'-indigosulfonique est un exemple d'isomère disulfonaté de l'acide 5,5'-indigosulfonique.

Etape ii) : réduction du mélange issu de l'étape i)

Dans une première étape, le mélange issu de l'étape i) comprenant de l'acide 5,5'-indigosulfonique est soumis à un traitement de réduction conduisant à un mélange d'acide leuco-5,5'-indigosulfonique et d'autres composés.

Avantageusement ce traitement de réduction est réalisé en mettant en œuvre du dithionite de sodium comme réactif réducteur. De façon alternative, on pourrait utiliser l'un ou l'autre des agents réducteurs suivants : un mélange d'arsenic sesquisulfide et d'hydrogénosulfite de sodium, du sulfate de fer (II), du zinc, ou on pourrait réaliser une réduction par électrolyse.

De préférence, le traitement de réduction est mis en œuvre en milieu aqueux.

Avantageusement, le traitement de réduction est mis en œuvre en appliquant un chauffage à une température allant de 40 à 60°C, avantageusement de 45 à 55°C.

De préférence, la durée totale du traitement est de 1/2h à 6h, avantageusement de 1 h à 4h.

De préférence, après le traitement de réduction, la composition obtenue est purifiée dans des conditions permettant d'augmenter la teneur en acide leuco-5,5'-indigosulfonique. Notamment le milieu est extrait par un solvant organique de façon à éliminer certains contaminants, comme par exemple l'indigo réduit. L'extraction peut être faite par l'acétate d'éthyle, ou par tout autre solvant adapté pour extraire les composants non sulfonatés.

Etape iii) : séparation de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique

Dans une seconde étape, l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est séparé du milieu réactionnel. Avantageusement, l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est séparé du milieu réactionnel par précipitation de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique, suivie d'une filtration et récupération du solide.

De préférence, l'étape ii) a été mise en œuvre dans un solvant dans lequel l'isomère acide leuco-5,5'-indigosulfonique précipite. De préférence, l'isomère acide leuco-5,5'-indigosulfonique est séparé à partir d'une composition aqueuse le comprenant. Avantageusement, la séparation est réalisée directement sur le milieu réactionnel issu de l'étape ii), éventuellement après une première purification, telle que par exemple une extraction au moyen d'un solvant organique. De préférence, l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique précipite dans le milieu réactionnel à l'issue de l'étape ii).

De façon alternative, si la réaction de l'étape ii) était mise en œuvre dans un milieu dans lequel l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est soluble, on pourrait ensuite procéder à un ajout d'eau dans le milieu réactionnel, ou à un échange de solvants, de façon à faire précipiter l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique.

De préférence, la séparation est réalisée par passage du milieu réactionnel issu de l'étape ii) sur un support de filtration. Par exemple, on peut filtrer le milieu réactionnel issu de l'étape ii) sur un filtre de type : entonnoir filtrant de porosité 3 ou toile filtrante polypropylène multifilaments. Avantageusement, le milieu réactionnel issu de l'étape ii) est filtré à chaud, de préférence à une température allant de 40 à 60°C, avantageusement de 45 à 55°C.

Dans ces conditions, l'isomère acide leuco-5,5'-indigosulfonique, solide, est retenu par le filtre, tandis que les autres composants du milieu réactionnel, solubles

dans le milieu réactionnel de l'étape ii), sont entraînés dans la phase aqueuse pendant la filtration.

Avantageusement cette filtration peut être complétée par un traitement consistant à empâter le solide dans un solvant organique, tel que par exemple du THF, et à filtrer la pâte ainsi formée. Cet empâtage permet d'améliorer le degré de pureté de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique.

Selon l'invention, on prévoit avantageusement de compléter l'étape de séparation de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique par une purification supplémentaire telle qu'un lavage à l'eau, par exemple en reprenant la phase solide comprenant l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique, dans de l'eau, que l'on porte à une température allant de 40 à 60°C, avantageusement de 45 à 55°C, puis en filtrant la suspension ainsi préparée. Le solide récupéré sur le filtre est l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique. Son degré de pureté est amélioré par cette étape de purification additionnelle.

Avantageusement, l'opération de lavage à l'eau de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est appliquée de une à cinq fois, encore plus avantageusement de deux à quatre fois.

Avantageusement ce lavage peut être complété par un traitement consistant à empâter le solide dans un solvant organique, tel que par exemple du THF, et à filtrer la pâte ainsi formée. Cet empâtage permet d'améliorer le degré de pureté de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique.

De façon avantageuse, les traitements de purification sont répétés jusqu'à obtenir un acide leuco-5,5'-indigosulfonique présentant le niveau de pureté attendu. De préférence, les traitements de purification sont répétés jusqu'à obtenir une composition comprenant au moins 99% molaire d'acide leuco-5,5'-indigosulfonique, par rapport au nombre de moles de la composition.

L'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est un intermédiaire essentiel à la mise en œuvre du procédé de l'invention.

On pourrait avoir recours à d'autres techniques, comme par exemple la chromatographie liquide haute pression (CLHP), pour séparer l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique du milieu réactionnel issu de l'étape ii). Toutefois, la filtration présente l'avantage d'être une méthode pratique, efficace, et très facilement extrapolable à l'échelle industrielle.

Etape iv) : oxydation de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique

Dans une quatrième étape, l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est transformé en 5,5'-indigosulfonate de di-sodium par un traitement d'oxydation approprié, suivant le schéma 3 ci-dessous :

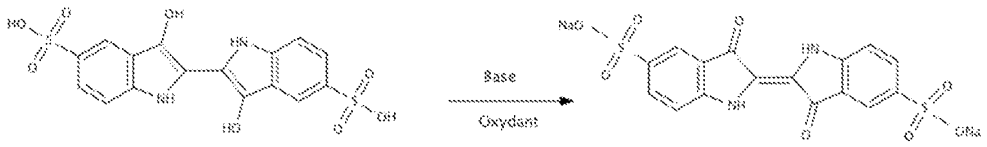


Schéma 3 : Réduction de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique en carmin d'indigo

Avantageusement, ce traitement consiste en un traitement par une base en milieu alcoolique en présence d'un agent oxydant. De préférence, l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est traité par de l'alcoolate de sodium en milieu alcool et en présence d'un agent oxydant.

De préférence, l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est traité par de l'éthanolate de sodium en milieu éthanol en présence d'un agent oxydant. De préférence, le traitement est réalisé à chaud, avantageusement à une température allant de 40 à 60°C, encore plus avantageusement de 45 à 55°C. De préférence, l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est traité par 0,5 à 2,5 équivalents molaires d'alcoolate de sodium, de préférence 0,8 à 1,5 équivalents molaires d'alcoolate de sodium, en présence d'un agent oxydant. Encore plus préférentiellement, l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est traité par 0,5 à 2,5 équivalents molaires d'éthanolate de sodium, de préférence 0,8 à 1,5 équivalents molaires d'éthanolate de sodium, en présence d'un agent oxydant. Avantageusement, l'agent oxydant est choisi parmi O_2, H_2O_2, $KHSO_5$, $FeCl_3$

De préférence l'agent oxydant est de l'oxygène gazeux, qui peut être utilisé pur ou en mélange avec d'autres gaz, comme par exemple l'oxygène de l'air. De préférence, la durée du traitement est de 0,5 h à 10h, encore plus préférentiellement de 1h à 8h, et avantageusement de 2h à 6h.

De préférence, le traitement de l'étape iv) est suivi d'un ou plusieurs lavages par un ou plusieurs solvants organiques. De préférence, le traitement de l'étape iv) est suivi d'un ou plusieurs lavages par un ou plusieurs solvants alcooliques et/ou hydroalcooliques, notamment un lavage par de l'éthanol et/ou un lavage par du

méthanol et/ou un lavage par un mélange d'eau et de méthanol et/ou un lavage par un mélange d'eau et d'éthanol.

Utilisations :

L'invention a encore pour objet l'utilisation du procédé décrit ci-dessus pour produire un carmin d'indigo ou 5,5'-indigosulfonate de di-sodium présentant un niveau de pureté élevé. En particulier, l'invention concerne l'utilisation du procédé décrit ci-dessus pour produire une composition comprenant au moins 99,5%, encore mieux au moins 99,7%, de carmin d'indigo ou 5,5'-indigosulfonate de di-sodium. Pour l'évaluation de la quantité d'indigo carmin dans la composition de matière, le % est mesuré par chromatographie en phase liquide à haute pression (CLHP) avec une détection à 290nm, sur colonne C18 de 5µm en 150x4.6, avec une élution par gradient tampon phosphate de sodium 10mM (pH 3.0) + 1mM TBACl/MeOH (70/30→10/90).

L'invention concerne l'utilisation du procédé décrit ci-dessus pour produire une composition dans laquelle aucune impureté n'est présente en quantité supérieure à 0,10%, encore mieux aucune impureté n'est présente en quantité supérieure à 0,05%. L'évaluation de la quantité des impuretés est réalisée au moyen de la même méthode que celle mise en œuvre pour l'évaluation de la quantité d'indigo carmin.

L'invention a encore pour objet l'utilisation du procédé décrit ci-dessus pour produire un médicament ou un produit de diagnostic comprenant du carmin d'indigo ou 5,5'-indigosulfonate de di-sodium. Ledit médicament ou produit de diagnostic peut être sous toute forme adaptée à son utilisation dans ces applications. En particulier, on peut mentionner : sous forme de comprimé ou de gélule comprenant de 1 à 1000 mg de carmin d'indigo ; sous forme de solution aqueuse comprenant du carmin d'indigo à une concentration allant de 0.1% à 10% massique. De telles compositions comprennent, outre le carmin d'indigo, des excipients bien connus de l'homme du métier, tels que par exemple de l'acide citrique et/ou des citrates, un tampon phosphate, des polymères, des dérivés de la cellulose, des lipides. Des formulations comprenant de l'indigo carmin sont illustrées notamment dans WO2011107945 et dans WO2010018723. Dans les applications médicales et de diagnostic, le carmin d'indigo obtenu par le procédé de l'invention présente l'avantage d'une pureté élevée, ce qui évite d'introduire dans l'organisme des matériaux sans utilité pour l'application.

L'invention a encore pour objet l'utilisation du procédé décrit ci-dessus pour produire un colorant alimentaire comprenant du carmin d'indigo ou 5,5'-indigosulfonate de di-sodium. Ledit colorant alimentaire peut être sous toute forme adaptée à son utilisation dans ces applications, notamment sous forme de poudre ou de solution aqueuse. Le niveau de pureté élevé du carmin d'indigo obtenu par le procédé de l'invention permet de garantir son innocuité.

L'efficacité du procédé de l'invention permet d'accéder à un produit présentant des coûts réduits.

Partie expérimentale :

I- Matériaux et méthodes :

1- Matières premières et équipement :

L'indigo a été acheté auprès de la société Fisher Scientific sous la référence commerciale 21213. Pureté : 94,8 % selon spécifications du fournisseur.

Toile (filtration) : référence commerciale V-05-6-475 K disponible auprès de la société SEFAR.

Filtre Nutsche : diamètre 280 mm, 35 L, disponible auprès de la société BUCHI.

2- Méthodes d'analyse :

Appareil : Agilent 1100 ®

Colonne : KROMASIL C18 ® 150 x 4.6-5µm

Détection : à 290 nm

Concentration de l'échantillon : 1000 ppm

Solvant de dissolution de l'échantillon : H_2O/MeOH 90/10

Solvant d'élution : Tampon Sodium phosphate 10 mM (pH 3.0) + 1mM TBACl/MeOH

II- Protocoles :

1- Transformation de l'indigo en acide 5,5'-indigosulfonique :

Dans un réacteur de 10 litres, on charge 1,5 kg d'indigo (5,72 moles) auquel on ajoute, sous agitation, et à température ambiante, 6 litres d'une solution aqueuse de H_2SO_4 de concentration 96%. On porte le mélange à 70°C pendant 3 heures, toujours sous agitation. Le mélange est ensuite refroidi à 5°C. On ajoute le mélange lentement dans un réacteur de 60 litres contenant 15 litres d'une eau refroidie à 5°C. L'addition du mélange est réalisée en 1h15mn. On ajoute au mélange 90 ml d'octanol et on porte

le mélange à 50°C. On obtient un solide en suspension dans le milieu réactionnel qui est un mélange comprenant de l'acide 5,5'-indigosulfonique.

2- Réduction du mélange comprenant l'acide 5,5'-indigosulfonique :

On prépare une solution aqueuse de dithionite de sodium à partir de 15 litres d'eau et de 3,51 kg de solution de dithionite de sodium à 85%. La solution aqueuse ainsi préparée est placée dans une ampoule de coulée sous azote. Dans le mélange réactionnel issu de l'étape 1- on ajoute la solution aqueuse de dithionite de sodium, sous agitation, en maintenant le milieu à 50°C. L'addition de la solution aqueuse de dithionite de sodium est réalisée en 1h. Le mélange est ensuite maintenu sous agitation à 50°C pendant environ 1h. On ajoute ensuite au mélange 7,5 litres d'acétate d'éthyle et on maintient le mélange sous agitation à 50°C pendant 20mn. Le milieu est toujours sous forme d'une suspension comprenant de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique.

3- Séparation de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique :

Le milieu réactionnel issu de l'étape 2- est ensuite filtré sur un filtre Nutsche, équipé d'une toile V-05-6-475 K.

Le solide resté sur le filtre est empâté avec 4,5 litres de tétrahydrofurane (THF) puis le liquide est filtré.

4- Lavage de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique :

Le produit resté sur le filtre à l'issue de l'étape 3- est repris dans 30 litres d'eau, dans un réacteur de 60 litres. L'ensemble est chauffé à 50°C pendant 30 mn puis filtré sur le filtre Nutsche, équipé d'une toile V-05-6-475 K.

Le solide resté sur le filtre est empâté avec 4,5 litres de tétrahydrofurane (THF) puis le liquide est filtré.

Ce lavage est répété de façon à aboutir à un total de trois lavages dans les mêmes conditions. On obtient 1,8 kg d'un produit humide. Masse sèche estimée : 1,3 kg.

5- Transformation de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonate de di-sodium en 5,5'-indigosulfonate de di-sodium

Dans un réacteur de 60 litres, on met en suspension les 1,8 kg de produit obtenus à l'étape 4- dans 26 litres d'éthanol. On ajoute 1143 ml d'une solution à 21% massique d'éthanolate de sodium (EtONa) dans de l'éthanol. On porte le mélange à 50°C et on fait buller de l'air dans le milieu réactionnel pendant 4h, en le maintenant à 50°C.

Au bout de ce temps, le milieu réactionnel est filtré sur fritté, la filtration étant suivie d'un lavage par 5,2 litres d'éthanol.

6- Lavage du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium

Le solide humide est repris dans 26 litres de méthanol, l'ensemble est chauffé pendant 30 mn à 40°C puis filtré sur fritté, la filtration étant suivie d'un lavage par 5,2 litres de méthanol.

Ce lavage est répété une fois.

Ensuite, le solide humide est repris dans un mélange de 13 litres d'eau et 13 litres de méthanol, l'ensemble est chauffé pendant 30 mn à 60°C, puis filtré sur fritté, la filtration étant suivie d'un lavage par 3,9 litres de méthanol.

Le solide est séché en étuve ventilée.

On obtient 1,05 kg de 5,5'-indigosulfonate de di-sodium, le rendement est de 39% par rapport à la quantité totale d'indigo engagée dans le procédé.

III- Résultats :

Le produit obtenu est analysé par HPLC au moyen de la méthode décrite ci-dessus. La pureté est évaluée de 99,85 à 99,95%, en fonction des essais (3 essais réalisés).

On constate que le procédé de l'invention permet d'obtenir un produit de pureté élevée, avec de bons rendements, en appliquant un protocole simple, peu coûteux, facilement extrapolable à grande échelle, et avec des résultats reproductibles du point de vue de la qualité (pureté) du produit obtenu.

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation de 5,5'-indigosulfonate de di-sodium, le produit de départ étant de l'indigo, ce procédé comprenant les étapes suivantes :

i) l'indigo est soumis à un traitement de sulfonation conduisant à un mélange qui contient de l'acide 5,5'-indigosulfonique,

ce procédé étant caractérisé en ce que :

ii) on applique un traitement de réduction au mélange obtenu à l'étape i), et éventuellement une étape de purification, de façon à obtenir une composition comprenant de l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique,

iii) l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique est isolé de la composition issue de l'étape ii),

iv) l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique issu de l'étape iii) est oxydé en 5,5'-indigosulfonate de di-sodium.

2. Procédé selon la revendication 1, dans lequel le traitement de réduction de l'étape ii) est mis en œuvre au moyen de dithionite de sodium en milieu aqueux.

3. Procédé selon la revendication 1 ou selon la revendication 2 dans lequel l'acide leuco-5,5'-indigosulfonique précipite dans le milieu réactionnel à l'issue de l'étape ii).

4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 dans lequel l'étape iii) comporte au moins une étape consistant en :

iiia) une filtration de la composition issue de l'étape ii),

iiib) la récupération du solide retenu sur le filtre.

5. Procédé selon la revendication 4 dans lequel l'étape iii) comporte en outre après l'étape iiib) au moins une étape iiic) consistant en un lavage du solide par un milieu aqueux.

6. Procédé selon la revendication 5, dans lequel l'étape iiic) est appliquée de une à cinq fois.

7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans lequel la composition obtenue à l'issue de l'étape iii) comporte au moins 90% en moles d'acide leuco-5,5'-indigosulfonique par rapport au nombre de moles total de la composition.

8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 dans lequel l'étape iv) comporte au moins une étape iva) consistant en un traitement par une base en milieu alcoolique en présence d'un agent oxydant.

9. Procédé selon la revendication 8, dans lequel l'étape iva) consiste en un traitement par de l'éthanolate de sodium dans de l'éthanol, en présence d'un agent oxydant.

10. Procédé selon la revendication 8 ou selon la revendication 9, dans lequel l'agent oxydant est de l'oxygène gazeux.

11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 8 à 10, qui comporte en outre, après l'étape iva), au moins une étape ivb) consistant en un ou plusieurs lavages par un ou plusieurs solvants alcooliques et/ou hydroalcooliques.

12. Utilisation du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 pour produire une composition comprenant au moins 99,5% de 5,5'-indigosulfonate de di-sodium, le % étant mesuré par chromatographie en phase liquide à haute pression avec une détection à 290nm.

13. Utilisation du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 pour produire une composition dans laquelle aucune impureté n'est présente en quantité supérieure à 0,10%, le % étant mesuré par chromatographie en phase liquide à haute pression avec une détection à 290nm.

14. Procédé de fabrication d'un médicament ou d'un produit de diagnostic comprenant du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium, ce procédé comprenant la fabrication du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium par le procédé selon l'une

quelconque des revendications 1 à 11 et l'introduction du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium dans un support pharmaceutiquement acceptable.

15. Procédé de fabrication d'une composition alimentaire comprenant du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium, ce procédé comprenant la fabrication du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium par le procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 et l'introduction du 5,5'-indigosulfonate de di-sodium dans un support compatible avec une application alimentaire.