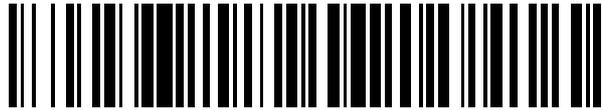


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 444 432**

51 Int. Cl.:

**B01D 15/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.09.2009 E 09792195 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2013 EP 2344265**

54 Título: **Evaluación de preparaciones de heparina para uso farmacéutico**

30 Prioridad:

**03.09.2008 US 203574**

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

**25.02.2014**

73 Titular/es:

**MOMENTA PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)  
675 West Kendall Street  
Cambridge, MA 02142, US**

72 Inventor/es:

**SCHRIER, DAVID;  
GUNAY, NUR SIBEL;  
SUCATO, MEGAN;  
SMITH, STEPHEN y  
SHRIVER, ZACHARY**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 444 432 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

Evaluación de preparaciones de heparina para uso farmacéutico.

La invención se refiere a métodos de análisis de muestras de heparina, y materiales derivados de heparina.

## ANTECEDENTES

- 5 Se han utilizado polisacáridos complejos como intervenciones farmacéuticas en cierto número de procesos de enfermedad, que incluyen oncología, enfermedades inflamatorias, y trombosis. Ejemplos de intervenciones farmacéuticas de esta clase son ácido hialurónico, un adyuvante para curación de las heridas y agente anti-cáncer, y heparina, un agente anticoagulante y antitrombótico potente. Los polisacáridos complejos suscitan su función fundamentalmente por fijación de moléculas solubles de señalización de proteínas, que incluyen factores de crecimiento, citoquinas y morfógenos presentes en la superficie celular y dentro de las matrices extracelulares entre las células, así como sus receptores emparentados presentes en este entorno. Al hacerlo así, estos polisacáridos complejos efectúan cambios críticos en los caminos de señalización extracelulares e intracelulares importantes para la función de células y tejidos. Por ejemplo, la heparina se fija al inhibidor de la coagulación antitrombina III promoviendo su capacidad para inhibir los factores IIa y Xa.

## SUMARIO

- 15 En un aspecto, la descripción presenta un método de evaluación de una preparación de heparina que incluye: proporcionar una preparación de heparina; administrar la preparación de heparina por SAX-HPLC para determinar la ausencia o presencia de sulfato de condroitina sobresulfatado (OSCS), en donde el límite de detección del OSCS en la preparación de heparina es 0,05% (p/p), el OSCS se resuelve de un valor basal y el OSCS se resuelve de otros componentes de la preparación de heparina. La evaluación puede consistir, v.g., en determinar la idoneidad para uso como producto farmacéutico o para uso en la fabricación de un producto farmacéutico. El método puede incluir la toma de una decisión, v.g., para clasificar, seleccionar, aceptar o desechar, liberar o retener, procesar en un producto fármaco, transportar, desplazar a un lugar diferente, formular, etiquetar, envasar, poner en el comercio, vender u ofrecer para la venta la preparación, basándose, al menos en parte, en el análisis.
- 20 En una realización, OSCS no está presente o está presente por debajo del límite de detección y la preparación es adecuada para ser utilizada como producto farmacéutico o para la preparación de un producto farmacéutico. En una realización, el método puede incluir proporcionar un registro, v.g., certificado de análisis concerniente al contenido de OSCS, u otra impresión o registro legible por computadora, para una preparación determinada como adecuada para uso como producto farmacéutico o para uso en la fabricación de un producto farmacéutico. El registro puede incluir otra información, tal como un identificador de agente de test específico, una fecha, un operador del método, o información acerca de la fuente o estructura. En una realización, el método incluye adicionalmente la toma de decisión para seleccionar, aceptar, liberar, procesar en un producto fármaco, transportar, desplazar a un lugar diferente, formular, etiquetar, envasar, poner en el comercio, o vender u ofrecer para la venta la preparación.
- 25 En una realización, el OSCS está presente en o por encima del límite de detección y la preparación no es adecuada para ser utilizada como producto farmacéutico o para la preparación de un producto farmacéutico. En una realización, el método puede incluir proporcionar un registro, v.g. certificado de análisis concerniente al contenido de OSCS, u otra impresión o registro legible por computadora, para una preparación determinada como no adecuada para uso como producto farmacéutico o para uso en la fabricación de un producto farmacéutico. El registro puede incluir otra información, tal como un identificador de agente de test específico, una fecha, un operador del método, o información acerca de la fuente o estructura. En una realización, el método incluye adicionalmente la toma de decisión en cuanto a desechar o retener la preparación.
- 30 En una realización, el método incluye además la memorialización de la decisión o paso tomado.
- 35 En una realización, la preparación se selecciona del grupo de un material de partida para la producción de un fármaco, un compuesto intermedio en la producción de un fármaco, una sustancia fármaco o un producto fármaco.
- 40 En una realización, la preparación de heparina es una preparación de heparina no fraccionada.
- 45 En una realización, el método incluye adicionalmente proporcionar una preparación de heparina que no incluye OSCS o incluye OSCS por debajo del límite de detección y evaluar la capacidad de la preparación para inducir una respuesta inmune o reaccionar con un anticuerpo anti-OSCS.
- 50 En una realización, el método incluye adicionalmente proporcionar una preparación de heparina que incluye OSCS en o por encima del límite de detección y evaluar la capacidad de la preparación para inducir una respuesta inmune o reaccionar con un anticuerpo anti-OSCS.
- En una realización, el método incluye adicionalmente calibrar una columna SAX-HPLC con un estándar que incluye entre 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS, v.g., 0,05% (p/p), 0,1% (p/p), 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) de OSCS.

- En una realización, la preparación de heparina se analiza utilizando una columna SAX-HPLC que se ha calibrado con un estándar que incluye entre 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS, v.g., 0,05% (p/p), 0,1% (p/p), 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) de OSCS.
- 5 En una realización, el tiempo de ejecución para la SAX-HPLC no es superior a 1 hora, 45 minutos, 30 minutos, 20 minutos o 15 minutos. En una realización, el tiempo de ejecución para la SAX-HPLC oscila desde aproximadamente 15 a 45 minutos, 20 a 40 minutos o 30 a 35 minutos.
- 10 En un aspecto, la descripción presenta un método de evaluación de una preparación de heparina que incluye: recibir información acerca del contenido de OSCS, en donde la información se ha obtenido por un método descrito en esta memoria, tomar una decisión, v.g., clasificar, seleccionar, aceptar o desechar, liberar o retener, procesar en un producto fármaco, transportar, desplazar a un lugar diferente, formular, etiquetar, envasar, poner en el comercio, vender u ofrecer para la venta la preparación, basándose, al menos en parte, en la recepción de la información.
- 15 En un aspecto, la descripción presenta un método de evaluación de una preparación de heparina que incluye: obtener información concerniente al contenido de OSCS, en donde la información se ha obtenido por un método descrito en esta memoria, y transmitir la información a un tercero que toma una decisión, v.g., clasificar, seleccionar, aceptar o desechar, liberar o retener, procesar en un producto fármaco, transportar, desplazar a un lugar diferente, formular, etiquetar, envasar, poner en el comercio, vender u ofrecer para la venta la preparación, basándose, al menos en parte, en la información.
- 20 En otro aspecto, la descripción presenta un método de detección de OSCS de una preparación de heparina. El método incluye proporcionar una preparación de heparina y analizar la preparación de heparina por un método SAX-HPLC que tiene un límite de detección de 0,05% (p/p), resuelve OSCS de un valor basal y resuelve OSCS de otros componentes de la preparación de heparina, para detectar con ello OSCS en la preparación de heparina.
- 25 En una realización, cuando se detecta OSCS, el método incluye adicionalmente tomar una decisión, v.g., una decisión descrita en esta memoria. Por ejemplo, cuando se detecta OSCS en la preparación de heparina, el método incluye adicionalmente hacer un registro, clasificar, desechar, retener, purificar la preparación de heparina basándose, al menos en parte, en el análisis o cuando no se detecta OSCS en la preparación de heparina, el método incluye adicionalmente hacer un registro, clasificar, seleccionar, aceptar, procesar en un producto fármaco, transportar, desplazar a un lugar diferente, formular, etiquetar, envasar, poner en el comercio, vender u ofrecer para la venta la preparación de heparina, basándose, al menos en parte, en el análisis.
- 30 En una realización, la preparación se selecciona del grupo de un material de partida para la producción de un fármaco, un compuesto intermedio en la producción de un fármaco, una sustancia fármaco o un producto fármaco. En una realización, la preparación de heparina es una preparación de heparina no fraccionada.
- En una realización, el método incluye adicionalmente calibrar una columna SAX-HPLC con un estándar que incluye entre 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS, v.g., 0,05% (p/p), 0,1% (p/p), 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) de OSCS.
- 35 En una realización, la preparación de heparina se analiza utilizando una columna SAX-HPLC que ha sido calibrada con un estándar que incluye entre 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS, v.g., 0,05% (p/p), 0,1% (p/p), 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) de OSCS.
- En una realización, el tiempo de ejecución para la SAX-HPLC no es superior a 1 hora, 45 minutos, 30 minutos, 20 minutos o 15 minutos. En una realización, el tiempo de ejecución para la SAX-HPLC oscila desde aproximadamente 15 a 45 minutos, 20 a 40 minutos o 30 a 35 minutos.
- 40 En un aspecto, la descripción presenta un método de determinación de la cantidad de OSCS en una preparación de heparina. El método incluye proporcionar una preparación de heparina y analizar la preparación de heparina por un método SAX-HPLC que tiene un límite de detección de 0,05% (p/p), resuelve OSCS de un valor basal y resuelve OSCS de otros componentes de la preparación de heparina, a fin de determinar con ello la cantidad de OSCS en la preparación de heparina.
- 45 En una realización, el método incluye proporcionar un registro, v.g., certificado de análisis concerniente al contenido de OSCS, u otra impresión o registro legible por computadora, para una preparación determinada como adecuada para uso como producto farmacéutico o para uso en la fabricación de un producto farmacéutico. El registro puede incluir otra información, tal como un identificador de agente de test específico, una fecha, un operador del método, o información acerca de la fuente, estructura o cantidad de OSCS.
- 50 En una realización, cuando se detecta OSCS, el método incluye adicionalmente la toma de una decisión, v.g., una decisión descrita en esta memoria.
- En una realización, la preparación se selecciona del grupo de un material de partida para la producción de un fármaco, un compuesto intermedio en la producción de un fármaco, una sustancia fármaco o un producto fármaco. En una realización, la preparación de heparina es una preparación de heparina no fraccionada.

En una realización, el método incluye adicionalmente calibrar una columna SAX-HPLC con un estándar que incluye entre 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS, v.g., 0,05% (p/p), 0,1% (p/p), 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) de OSCS.

En una realización, la preparación de heparina se analiza utilizando una columna SAX-HPLC que ha sido calibrada con un estándar que incluye entre 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS, v.g., 0,05% (p/p), 0,1% (p/p), 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) de OSCS.

En una realización, el tiempo de ejecución para la SAX-HPLC no es superior a 1 hora, 45 minutos, 30 minutos, 20 minutos o 15 minutos. En una realización, el tiempo de ejecución para la SAX-HPLC oscila desde aproximadamente 15 a 45 minutos, 20 a 40 minutos o 30 a 35 minutos.

En un aspecto, la descripción presenta una preparación estándar o un conjunto de preparaciones estándar. El estándar incluye un disolvente y OSCS comprendido entre aproximadamente 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS, v.g., 0,05% (p/p), 0,1% (p/p), 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) de OSCS. El conjunto incluye una pluralidad de estándares, cada uno de los cuales tiene una concentración diferente de OSCS. En una realización, el disolvente puede ser una preparación de heparina no fraccionada que no contiene una cantidad detectable de OSCS. El estándar o conjunto de estándares puede(n) utilizarse para calibrar una columna SAX-HPLC. La columna puede utilizarse en los métodos descritos en esta memoria.

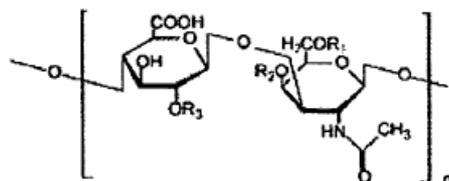
En otro aspecto, la invención presenta la fabricación de una preparación, v.g., una preparación estándar de concentración conocida, proporcionando OSCS en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS, v.g., 0,05% (p/p), 0,1% (p/p), 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) de OSCS, y combinando el mismo con un disolvente, v.g., un disolvente descrito en esta memoria.

Una preparación de heparina, como se utiliza en esta memoria, es una preparación que contiene heparina o una preparación derivada de la misma, e incluye por tanto UFH, LMWH, ULMWH y análogas.

El término "heparina no fraccionada (UFH)", como se utiliza en esta memoria, es heparina purificada de mucosa intestinal de porcino que puede utilizarse como fármaco o como material de partida en el proceso para formar una LMWH.

Los productos fármaco polisacáridos complejos pueden aislarse o derivarse de fuentes naturales y son mezclas complejas de cadenas de polisacárido. Es importante que UFH, tanto si se utiliza con fármaco o como material de partida para la preparación de un fármaco derivado de heparina, v.g., una LMWH, no contiene niveles inaceptables de OSCS. Los métodos descritos en esta memoria son útiles, v.g., desde un punto de vista de proceso, v.g., para monitorizar o asegurar la consistencia o calidad lote a lote y para identificar preparaciones de heparina que pueden dar o no como resultado una reacción adversa en un paciente. Una reacción adversa en un paciente podría ser irritación local, dolor, edema, edema periférico; reacciones locales en el sitio de inyección (v.g., necrosis en la piel, nódulos, inflamación, exudación), lesiones sistémicas alérgicas (v.g., prurito, urticaria, reacciones anafilactoides), coma o muerte.

El sulfato de condroitina sobresulfatado (OSCS), como se utiliza en esta memoria, hace referencia a sulfato de condroitina que tiene la estructura siguiente



en donde  $R_1$  es  $\text{SO}_3\text{H}$ ,  $R_2$  es  $\text{SO}_3\text{H}$  y  $R_3$  es  $\text{H}$  o  $\text{SO}_3\text{H}$ .

El término "límite de detección" se refiere a la concentración mínima de OSCS que puede diferenciarse de otros componentes en una preparación de heparina.

El límite de detección puede utilizarse como valor de referencia. Un valor de referencia puede ser un valor concerniente a la presencia de OSCS en una muestra, v.g., una muestra de referencia. El valor de referencia puede ser numérico o no numérico. V.g., el mismo puede ser un valor cualitativo, v.g., si o no, o presente o no presente a un nivel de detección, o gráfico o pictórico preseleccionado. El valor de referencia puede ser también un estándar de liberación (un estándar de liberación es un estándar que debería cumplirse para permitir la venta comercial de un producto) o estándar de producción, v.g., un estándar que viene impuesto, v.g., por un tercero, v.g., la FDA, sobre una preparación de heparina.

Los métodos SAX-HPLC descritos en esta memoria resuelven OSCS de un nivel basal. El valor basal es un valor o punto de partida del cual puede medirse una reacción. Cuando está presente OSCS en una preparación de

heparina en o por encima del límite de detección, los métodos descritos en esta memoria pueden distinguir OSCS del valor basal en un cromatograma.

Los métodos descritos en esta memoria permiten también resolver OSCS de otros componentes de la preparación de heparina. Los términos "resolver", "resuelto", "resolución", significan interpretar dos cosas como diferentes. Por ejemplo, los métodos descritos en esta memoria distinguen OSCS de otros componentes de la preparación de heparina. Adicionalmente, los métodos descritos en esta memoria distinguen la presencia de OSCS a niveles tan bajos como 0,05% (p/p) respecto a un valor basal.

Los detalles acerca de una o más realizaciones de la invención se exponen en los dibujos que se adjuntan y la descripción que sigue. Otras características, objetos, y ventajas de la invención serán evidentes de la descripción y los dibujos, y de las reivindicaciones.

### DESCRIPCIÓN DETALLADA

Se describe brevemente el dibujo.

La Figura 1 es un cromatograma de heparina sin fraccionar (UFH) impurificada con diversas concentraciones de sulfato de condroitina sobresulfatado (OSCS), a saber 0,5% (p/p) de OSCS, 1,0% (p/p) OSCS y 2,5% (p/p) OSCS.

#### 15 SAX-HPLC.

Se cargan preferiblemente en una columna aproximadamente 100 µl a 300 µl de muestra. Sustratos, v.g., resinas o cuentas, adecuados para SAX-HPLC incluyen aquéllos que poseen grupos aniónicos fuertes tales como grupos amonio cuaternario. El sustrato puede ser de diversos tamaños de partícula, que incluyen 10 µm, 15 µm, 20 µm, 30 µm. Las partículas pueden ser esféricas. En una realización, el sustrato es SOURCE™ 15Q o RESOURCE™ 15Q, de Amersham Biosciences.

Fases móviles útiles incluyen una sal tal como Tris-hidrocloruro, cloruro de sodio, y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la fase móvil utiliza un gradiente de una sal. El gradiente puede ser un gradiente lineal o no lineal. Por ejemplo, el gradiente puede ser multifásico, v.g., bifásico, trifásico, etc. El caudal es con preferencia aproximadamente 1,0 a 1,4 ml/minuto. La fase móvil puede mantenerse a un pH constante o cuasi-constante, v.g., un pH de aproximadamente 7,0, 7,5, 8,0 u 8,5.

La columna puede mantenerse a una temperatura constante a todo lo largo de la separación, v.g., utilizando un calentador de columna comercial. En algunas realizaciones, la columna puede mantenerse a una temperatura de aproximadamente 10°C a aproximadamente 30°C, v.g., aproximadamente 10°C, 15°C, 18°C, 20°C, 22°C, 25°C, 30°C.

El OSCS separado de una preparación de heparina por los métodos descritos en esta memoria puede detectarse por numerosos medios que incluyen, v.g., por absorbancia ultravioleta (v.g., a una longitud de onda de aproximadamente 215 nm).

Adicionalmente, puede utilizarse un estándar en los métodos descritos en esta memoria. Ejemplos de estándares incluyen OSCS a una concentración predeterminada y/o una preparación de heparina sin fraccionar que no tiene un nivel detectable de OSCS. El estándar de OSCS puede estar en un disolvente. En una realización, el estándar de OSCS puede estar en una preparación de heparina que no tiene un nivel detectable de OSCS.

#### Ejemplo

Se utilizó SAX-HPLC para detectar OSCS presente a diversas concentraciones en una preparación de heparina sin fraccionar. Se añadió OSCS a cinco muestras de la preparación de heparina sin fraccionar a las concentraciones siguientes, 5,0 (p/p), 2,5% (p/p), 1,0% (p/p), 0,5% (p/p) y 0,1% (p/p). Adicionalmente, la muestra de heparina sin fraccionar y un estándar de OSCS (1,0% (p/p)) se utilizaron como controles. La fase móvil A (Tris-hidrocloruro 10 mM, pH 7,5) se combinó con cada una de las muestras en viales HPLC de polipropileno. La fase móvil B era Tris-hidrocloruro 10 mM, cloruro de sodio 2 M a pH 7,5.

Las condiciones de gradiente eran como sigue:

<b>Gradiente HPLC Condiciones: Tiempo, minutos</b>	<b>% Fase Móvil A</b>	<b>% Fase Móvil B</b>
0,0	97	3
2,5	97	3
7,5	90	10
22,5	0	100

## ES 2 444 432 T3

25,0	0	100
25,1	97	3
30,0	97	3

5 Las muestras se mantuvieron a 25°C durante el análisis y se inyectaron en la columna 100 µl de muestra. Las muestras se separaron utilizando una columna de anión fuerte Triton SOURCE™ Q15 4,6 x 100 mm (Amersham Biosciences) a 25°C con un caudal de 1,0 ml/min a lo largo de 30 min de tiempo total de ejecución. La absorbancia ultravioleta se detectó a 215 nm. Los resultados se muestran en la Figura 1.

## REIVINDICACIONES

1. Un método de evaluación de una preparación de heparina, que comprende:  
proporcionar una preparación de heparina para determinar su idoneidad para uso como fármaco o en la preparación de un fármaco; y
- 5 2. analizar la preparación de heparina por SAX-HPLC a fin de determinar la ausencia o presencia de sulfato de condroitina sobresulfatado (OSCS), en donde el límite de detección de OSCS en la preparación de heparina es 0,05% (p/p), el OSCS se resuelve de un valor basal y el OSCS se resuelve de otros componentes de la preparación de heparina, para evaluar con ello la preparación de heparina.
- 10 3. El método de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente tomar una decisión acerca de la preparación de heparina basada en el análisis.
4. El método de la reivindicación 2, en donde OSCS está presente en o por encima del límite de detección y la decisión consiste en clasificar, desechar, o retener la preparación.
- 15 5. El método de la reivindicación 2, en donde OSCS no está presente en el límite de detección y la decisión consiste en clasificar, seleccionar, aceptar, liberar, procesar en un producto farmacéutico, transportar, desplazar a un lugar diferente, formular, etiquetar, envasar, poner en el comercio, vender u ofrecer para la venta la preparación.
6. El método de la reivindicación 1, en donde la preparación de heparina es una preparación de heparina no fraccionada.
6. El método de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente calibrar una columna SAX-HPLC con un estándar que incluye entre 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS.
- 20 7. El método de la reivindicación 1, en donde el método SAX-HPLC utiliza una columna SAX-HPLC que ha sido calibrada con un estándar que incluye entre 0,05% (p/p) y 1,0% (p/p) de OSCS.
8. El método de la reivindicación 1, en donde el tiempo de ejecución para la SAX-HPLC no es superior a 45 minutos.
9. El método de la reivindicación 8, en donde el tiempo de ejecución para la SAX-HPLC no es superior a 30 minutos.
- 25 10. El método de la reivindicación 8, en donde el tiempo de ejecución para la SAX-HPLC oscila desde aproximadamente 20 y 40 minutos.
11. Un método de evaluación de una preparación de heparina que comprende:  
recibir información acerca del contenido de OSCS de una preparación de heparina, en donde la información se ha obtenido por un método que comprende proporcionar la preparación de heparina; y analizar la preparación de heparina por SAX-HPLC a fin de determinar la ausencia o presencia de sulfato de condroitina sobresulfatado (OSCS), en donde el límite de detección de OSCS en la preparación de heparina es 0,05% (p/p), el OSCS se resuelve de un valor basal y el OSCS se resuelve de otros componentes de la preparación de heparina; y  
tomar una decisión basada en el análisis, para evaluar con ello la preparación de heparina.
- 30 12. El método de la reivindicación 11, en donde OSCS está presente en o por encima del límite de detección en la preparación de heparina y la adhesión consiste en clasificar, desechar, o retener la preparación.
13. El método de la reivindicación 11, en donde OSCS no está presente en el límite de detección y la adhesión consiste en clasificar, seleccionar, aceptar, liberar, procesar en un producto fármaco, transportar, desplazar a un lugar diferente, formular, etiquetar, envasar, poner en el comercio, vender u ofrecer para la venta la preparación.
- 40 14. El método de la reivindicación 11, en donde la preparación de heparina es una preparación de heparina no fraccionada.
15. Un método de evaluación de una preparación de heparina, que comprende:  
determinar información acerca del contenido de OSCS de una preparación de heparina, en donde la información se ha obtenido por un método que comprende proporcionar la preparación de heparina; y analizar la preparación de heparina por SAX-HPLC a fin de determinar la ausencia o presencia de sulfato de condroitina sobresulfatado (OSCS), en donde el límite de detección de OSCS en la preparación de heparina es 0,05% (p/p), el OSCS se resuelve de un valor basal y el OSCS se resuelve de otros componentes de la preparación de heparina; y
- 45

proporcionar la información a un tercero que toma una decisión acerca de la preparación de heparina basada en el análisis, para evaluar con ello la preparación de heparina.

16. Un método de detección de sulfato de condroitina sobresulfatado (OSCS) en una preparación de heparina, que comprende:

5 proporcionar una preparación de heparina;

analizar la preparación de heparina por un método de cromatografía líquida de alta resolución con intercambio de anión fuerte (SAX-HPLC) que tiene un límite de detección de OSCS en la preparación de heparina de 0,05% (p/p), resuelve el OSCS de un valor basal y resuelve el OSCS de otros componentes de la preparación de heparina, para detectar con ello un OSCS en la preparación de heparina, a fin de detectar de este modo OSCS.

10 17. El método de la reivindicación 16, en donde OSCS se detecta en o por encima del límite de detección en la preparación de heparina, y el método comprende adicionalmente tomar una decisión acerca de la preparación de heparina basada en el análisis.

15 18. El método de la reivindicación 16, en donde OSCS no se detecta en el límite de detección en la preparación de heparina, y el método comprende adicionalmente tomar una decisión acerca de la preparación de heparina basada en el análisis.

19. Un método de determinación de la cantidad de sulfato de condroitina sobresulfatado (OSCS) en una preparación de heparina, que comprende:

proporcionar una preparación de heparina;

20 analizar la preparación de heparina por un método de cromatografía líquida de alta resolución con intercambio de anión fuerte (SAX-HPLC) que tiene un límite de detección de OSCS en la preparación de heparina de 0,05% (p/p), resuelve el OSCS de un valor basal y resuelve el OSCS de otros componentes de la preparación de heparina, a fin de determinar con ello la cantidad de OSCS en la preparación de heparina.

20. El método de la reivindicación 19, en donde el método comprende adicionalmente tomar una decisión basada en la cantidad de OSCS presente en la preparación de heparina.

25 21. El método de la reivindicación 19, en donde el método comprende adicionalmente tomar una decisión acerca de la preparación de heparina basada en la cantidad de OSCS presente en la preparación de heparina.

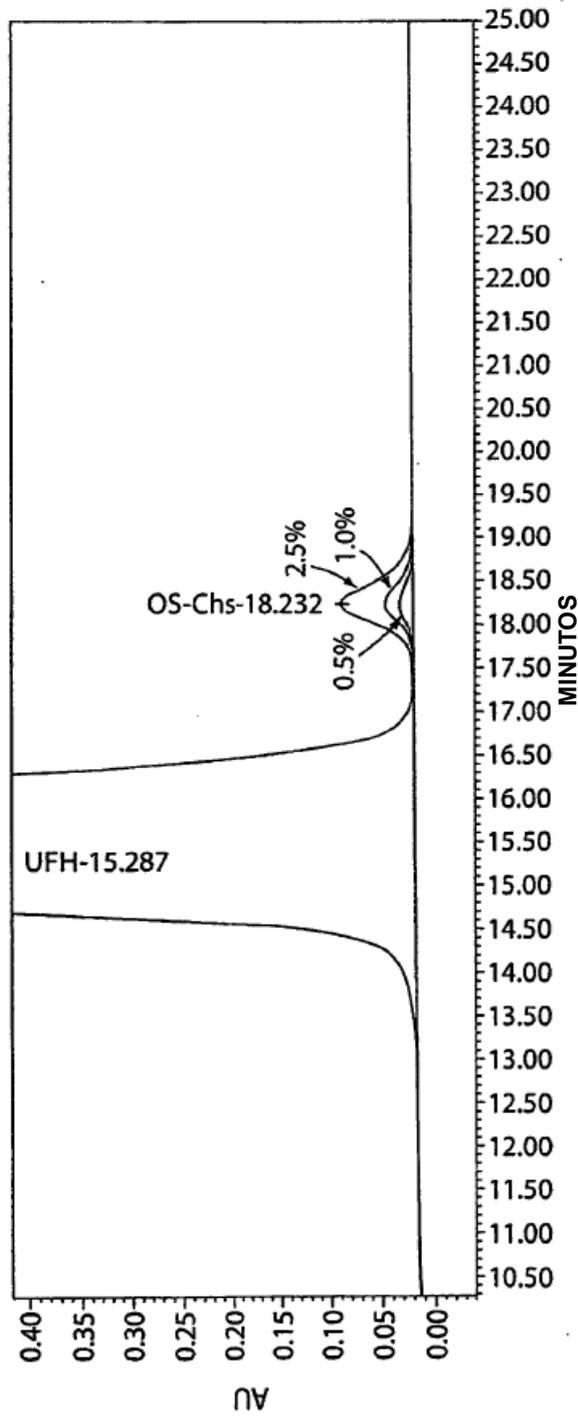


Fig. 1