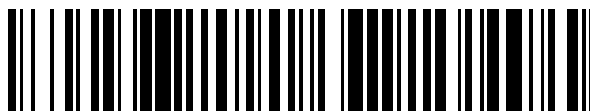


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 658**

51 Int. Cl.:

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.03.2009 PCT/DK2009/050069**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.09.2010 WO2010108493**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.03.2009 E 09776213 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016 EP 2411053**

54 Título: **Compuesto de hierro-oligosacárido estable**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.06.2017

73 Titular/es:

**PHARMACOSMOS HOLDING A/S (100.0%)
Rørvangsvej 30 Postboks 40
4300 Holbæk, DK**

72 Inventor/es:

ANDREASEN, HANS

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 617 658 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

Compuesto de hierro-oligosacárido estable.

- 5 La presente invención se refiere en un primer aspecto a un compuesto de hierro-oligosacárido con una estabilidad mejorada. En un segundo aspecto, la invención se refiere a un proceso para preparar el compuesto de hierro-oligosacárido según el primer aspecto de la invención. Además, en un tercer aspecto, la invención se refiere a la utilización de dicho compuesto para la preparación de una composición para el tratamiento de la anemia ferropénica.
- 10 Debido a su extendida incidencia, la anemia ferropénica persiste como un problema de salud mundial de la mayor preocupación. En los seres humanos y animales domésticos es, por igual, una de las afecciones patológicas observadas más frecuentemente.
- 15 Aunque la anemia ferropénica puede, a menudo, prevenirse o curarse mediante la administración oral de preparaciones que contienen hierro, se prefiere en muchos casos utilizar preparaciones de hierro administrables por vía parenteral para evitar las variaciones en la biodisponibilidad de las administraciones por vía oral y para asegurar una administración eficaz.
- 20 Por lo tanto, las preparaciones que contienen hierro para uso parenteral, es decir, administración subcutánea, intramuscular o intravenosa, han estado durante muchos años a disposición de los veterinarios o de los médicos.
- 25 Aunque se han utilizado diversas sustancias que contienen hierro, o se ha sugerido su utilización, como componentes en preparaciones inyectables por vía parenteral contra la anemia ferropénica, las preparaciones más comunes aceptadas actualmente son las que comprenden un producto combinado de oxihidróxido férrico (o hidróxido férrico) en asociación con un sacárido, en particular dextrano o dextrina. El dextrano es un carbohidrato polimérico producido por el microorganismo *Leuconostoc mesenteroides*, mientras que la dextrina es un producto de despolimerización del almidón.
- 30 Se conocen preparaciones de hierro adicionales para el tratamiento de anemia ferropénica, tales como compuestos de hierro-sacarosa y de hierro-gluconato. Estos compuestos están unidos al hierro de forma menos fuerte, produciendo, como consecuencia, una mayor concentración de iones Fe^{3+} libres, lo que aumenta la toxicidad de los compuestos de hierro cuando se administran por vía parenteral, y pueden producir trastornos en la digestión si se administran diariamente.
- 35 Una preparación que contiene hierro para inyección por vía parenteral debería, obviamente, satisfacer varios requerimientos que incluyen la disponibilidad inmediata del hierro para la síntesis de hemoglobina, la ausencia de efectos secundarios locales o generales y una estabilidad en almacenamiento que posibilite una vida útil satisfactoria a temperatura ambiente.
- 40 En algunos casos es deseable administrar una preparación de hierro por vía oral debido a que esto es lo más conveniente para los receptores. Una desventaja frecuente descubierta después de la administración de preparaciones de hierro por vía oral es la aparición de trastornos en la digestión. Las preparaciones de hierro satisfactorias deberían proporcionar hierro al organismo en el aparato gastrointestinal de una forma controlada con el fin de proporcionar suficiente hierro para que se asimile a través del epitelio intestinal y no deberían tener una
- 45 influencia negativa sobre la digestión como tal.
- Las preparaciones de hierro-sacárido para el tratamiento de anemia se han comercializado durante décadas y se han sugerido muchas variaciones en el proceso de fabricación y en la selección de las materias primas para mejorar la estabilidad de dichas preparaciones y reducir la gravedad de los efectos secundarios encontrados en su
- 50 administración.
- Los resultados obtenidos en investigaciones, ensayos y la experiencia práctica indican que los problemas mencionados anteriormente están relacionados con la distribución del peso molecular de los sacáridos utilizados.
- 55 Se reconoce, en general, que los dextranos de alto peso molecular implican un mayor riesgo de reacciones anafilácticas que los dextranos de bajo peso molecular, pero se ha descubierto que la presencia de carbohidratos de bajo peso molecular tales como monosacáridos, resultantes de una etapa inicial de hidrólisis, también puede crear dificultades. Cuando se hacen reaccionar con hierro precipitando hidróxido férrico en una disolución de un sacárido con una distribución amplia del peso molecular, los carbohidratos de bajo peso molecular se combinan con hierro
- 60 formando sus propios compuestos complejos o de asociación. Estos últimos compuestos son menos estables que el compuesto de hierro-oligosacárido de peso molecular moderado deseado, provocando así la precipitación de hidróxido u oxihidróxido de hierro y/o reacciones de formación de gel, lo que tiene, posiblemente, como consecuencia la solidificación total de la disolución en un periodo de días o meses.
- 65 A partir de la importancia de este problema, se ha puesto una atención considerable en el desarrollo de compuestos de hierro-oligosacárido en los que el componente oligosacárido presenta una distribución de peso molecular

apropiada.

El documento GB 1.076.219 divulga un procedimiento de fabricación de un complejo que contiene hierro, dextrina o dextrano de bajo peso molecular y sorbitol para la prevención o el tratamiento de anemia ferropénica.

La patente US nº 4.927.756 describe un procedimiento de fabricación de un compuesto de hierro-dextrano en el que el peso molecular de los dextranos se encuentra en el intervalo de 2000-4000.

El documento WO 1999/48533 divulga hierro-dextranos que consisten en dextranos que presentan un peso molecular medio en peso de 700 a 1400 y un peso molecular medio en número de 400 a 1400 daltons en asociación estable con oxihidróxido férrico. Los complejos de hierro-dextrano divulgados ocasionan un número reducido de incidencias de efectos secundarios anafilácticos.

El documento WO 2003/087164 divulga unos compuestos de hierro-dextrina que consisten en dextrinas de un peso molecular medio en peso de 3.000 daltons o inferior y un peso molecular medio en número de 400 daltons o superior en asociación estable con oxihidróxido de hierro. Dichos compuestos muestran un grado reducido de toxicidad.

Los documentos US 2003/083310 y WO 00/30657 sugieren la obtención de un compuesto de hierro-dextrano estable reduciendo los grupos aldehído del dextrano hidrolizado solo parcialmente en grupos alcohol antes de la reacción con el componente hierro, mientras que sustancialmente todos los grupos aldehído restantes se oxidan dando grupos carboxílicos.

El documento WO 2006/084782 se refiere al uso terapéutico de compuestos complejos de Fe(III) para producir un medicamento que refuerza la defensa inmunitaria y/o la potencia cerebral.

A partir de los procedimientos conocidos y los compuestos mencionados anteriormente, no obstante, existe aún la necesidad de mejorar adicionalmente la estabilidad de compuestos de hierro-oligosacárido que puedan utilizarse para la preparación de composiciones para el tratamiento o la prevención de anemia ferropénica, de modo que puedan almacenarse durante un periodo de tiempo prolongado a temperatura ambiente sin un deterioro significativo de sus propiedades más importantes.

Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es proporcionar un compuesto de hierro-oligosacárido con una estabilidad potenciada adecuado para su incorporación a composiciones para el tratamiento o la prevención de anemia ferropénica. El compuesto deberá cumplir, además, los requisitos habituales comprendidos en la técnica, que son: 1) alta disponibilidad de hierro para su adsorción en el intestino sin provocar problemas digestivos cuando se administra por vía oral; 2) provisión de hierro en una forma que se adsorba fácilmente en el intestino; 3) alta disponibilidad de hierro sin riesgo de toxicidad provocada por una concentración local elevada de Fe^{3+} cuando se administra por vía parenteral; 4) riesgo mínimo de reacción anafiláctica; 5) alto contenido en hierro y 6) capacidad para formar disoluciones que comprendan una cantidad elevada de hierro, disoluciones que cumplan los requerimientos basales para composiciones farmacéuticas, es decir, ser susceptibles de esterilización, preferentemente mediante esterilización en autoclave, y ser también estables en almacenamiento durante un periodo de tiempo largo a temperatura ambiente.

Para lograr este objetivo, se proporciona un compuesto de hierro-oligosacárido según el primer aspecto de la invención, compuesto que comprende un oligosacárido hidrogenado en asociación estable con oxihidróxido férrico, presentando el oligosacárido hidrogenado un peso molecular medio en peso (Mw) inferior a 3.000 daltons, preferentemente de aproximadamente 1.000 daltons, siendo el contenido de dímero de sacárido en dicho oligosacárido hidrogenado del 2,9% en peso o inferior, en base al peso total del oligosacárido hidrogenado.

A título de ejemplo, la materia prima para la fabricación del oligosacárido hidrogenado utilizado según la invención puede ser Dextrano 1, que satisface la Farmacopea Europea, entrada 01/2009:1506. Esta materia prima tiene según la Farmacopea Europea las especificaciones siguientes: peso molecular medio en peso (Mw): 850 a 1.150 daltons, fracción con una o dos unidades de sacárido (es decir, dímero): menos del 15%, y fracción con más de 9 unidades de sacárido: menos del 20% en peso. Habitualmente, la cantidad de dímero de sacárido en el Dextrano 1 es de aproximadamente el 8% en peso. Eliminando las moléculas más pequeñas por, por ejemplo, filtración con membrana, se obtiene la cantidad deseada de dímero de sacárido del 2,9% en peso o inferior.

En el presente contexto y en adelante, las expresiones "peso molecular medio en peso" y "peso molecular medio en número" se tomarán como los pesos moleculares respectivos del oligosacárido en el momento en el que tiene lugar la formación de complejos, sobre la base de todas las moléculas de oligosacárido a partir del monómero y en adelante.

Se ha descubierto, sorprendentemente, que la cantidad de dímero en el oligosacárido que entra en asociación estable con el oxihidróxido de hierro (III) es un factor clave con respecto a la estabilidad del compuesto final y que el efecto se ejerce de una forma altamente no lineal. Habitualmente, el oxihidróxido de hierro (III) es el único componente utilizado en la composición de hierro-sacárido según la invención. No obstante, para determinadas

aplicaciones, tales como agentes de contraste que tienen capacidades magnéticas, es deseable utilizar una mezcla de óxido de hierro (II) y oxihidróxido de hierro (III). El compuesto de hierro-oligosacárido de la invención incluye compuestos preparados a partir de dicha mezcla.

5 Según la invención, para presentar una estabilidad satisfactoria, el contenido de dímero debe reducirse al 2,9% en peso o a un valor inferior. Por lo tanto, controlando la cantidad de dímero en el oligosacárido antes de que reaccione con el hierro, se proporciona un compuesto de hierro-oligosacárido estable de una forma eficaz y económica. En el caso de dextrano o dextrina, que son ambos polímeros de glucosa que comprenden enlaces α -1,6, así como enlaces α -1,4, los dímeros en cuestión son isomaltosa (dos monómeros de glucosa unidos mediante un enlace α -1,6) y maltosa (dos monómeros de glucosa unidos mediante un enlace α -1,4).

10 Preferentemente, el contenido de monómero de sacárido en dicho oligosacárido hidrogenado es del 0,5% en peso o inferior, en base al peso total del oligosacárido hidrogenado. Esto sirve para minimizar el riesgo de efectos tóxicos debidos a la liberación de iones férricos libres a partir de compuestos de monómero y hierro, especialmente cuando están presentes en preparaciones para administración parenteral. En dichas preparaciones, también puede ser no deseable de por sí una concentración elevada del monómero de sacárido libre, tal como la glucosa.

15 Según una forma de realización de la invención, el oligosacárido hidrogenado utilizado es dextrano hidrogenado que tiene un peso molecular medio en peso (M_w) de entre 500 y 3.000 daltons, un peso molecular medio en número (M_n) superior a 500 daltons, en el que el 90% en peso de dicho dextrano tiene pesos moleculares inferiores a 3.500 daltons, y el M_w de la fracción del 10% en peso de dextrano que tiene los pesos moleculares más elevados es inferior a 4.500 daltons. Preferentemente, el dextrano se ha sometido a procesos de membrana que tienen un valor de corte de entre 340 y 800 daltons. De esta forma se asegura que se minimicen los incidentes de efectos secundarios no deseados.

20 En una forma de realización alternativa, el oligosacárido hidrogenado es dextrina hidrogenada que tiene un peso molecular medio en número (M_n) superior o igual a 500 daltons, en la que la fracción del 10% de dicha dextrina hidrogenada que tiene el peso molecular más elevado tiene un peso molecular medio en peso (M_w) inferior a 4.500 daltons y el 90% de las dextrinas tiene un peso molecular inferior a 3.500 daltons. Dicha dextrina tiene una toxicidad reducida y una viscosidad apropiada que permite una manipulación sencilla y fiable de disoluciones de la dextrina.

25 De forma adecuada, el compuesto de hierro-oligosacárido según la invención tiene un peso molecular aparente (M_p) de 120 a 180 kDa. Preferentemente, el peso molecular aparente (M_p) se encuentra entre 130 y 160 kDa.

30 Esto implica que el peso molecular aparente se mide en una disolución acuosa esterilizada en autoclave preparada disolviendo en 1.000 ml de agua 400 g de oligosacárido hidrogenado en polvo en disolución estable con oxihidróxido férrico, siendo la cantidad de hierro (Fe) del polvo del 25% en peso. Las disoluciones que comprenden los compuestos de la invención preparadas mediante otro procedimiento o en otra concentración pueden dar como resultado un peso molecular aparente que se desvía del peso molecular aparente del presente procedimiento.

35 El peso molecular aparente se mide utilizando cromatografía de exclusión por tamaño. Las columnas están basadas en partículas de sílice que contienen grupos diol polares. La calibración se realiza utilizando dextrano y hierro-dextrano como patrones y azida de sodio al 0,1% como eluyente.

40 La cantidad de hierro en el compuesto de hierro-oligosacárido de la invención puede variar según la utilización deseada de la composición final. En general, la cantidad de hierro en el compuesto de hierro-oligosacárido es del 50% en peso o inferior. De forma adecuada, la cantidad de oligohierro-sacárido es superior al 10% en peso.

45 En una forma de realización, el contenido de dímero en el oligosacárido hidrogenado es del 2,5% en peso o inferior, como alternativa del 2,3% en peso o inferior.

50 Sin desear vincularse a ninguna teoría en particular, se asume que el dímero en cantidades pequeñas se coordina con la partícula coloidal que contiene el complejo entre oligosacárido y $FeOOH$. Cuando el contenido de dímero supera el 2,9%, el dímero aparentemente actúa como "disolvente" de la partícula coloidal, haciendo que el compuesto de oligosacárido y $FeOOH$ resulte inestable y sea capaz de gelatinizarse con el transcurso del tiempo.

55 En una forma de realización de la invención, el compuesto de hierro-oligosacárido está constituido únicamente o parcialmente por un polvo seco que preferentemente presenta un contenido de hierro del 10-50% en peso. Alternativamente, el compuesto de hierro-oligosacárido puede disolverse o dispersarse en un líquido acuoso, proporcionando preferentemente un contenido de hierro en la disolución o la dispersión resultante del 1-30% p/v. Cuando se utilizan como líquidos para inyección, los líquidos que comprenden cantidades elevadas de hierro ofrecen la ventaja de que es preciso inyectar una cantidad más reducida del líquido en el sujeto que se va a tratar, lo que obviamente es una ventaja para el sujeto que se va a tratar y para la persona que realiza el tratamiento.

60 Según otro aspecto de la invención, se proporciona una composición, comprendiendo dicha composición una cantidad farmacológicamente eficaz de un compuesto según el primer aspecto de la invención, así como por lo

menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición puede adaptarse para administración parenteral, oral o cualquier otra forma de administración.

5 Puede prepararse una composición farmacéutica que comprende un compuesto de hierro-oligosacárido según la invención utilizando procedimientos que son bien conocidos por el experto. Los ejemplos de composiciones para uso oral son comprimidos, cápsulas, jarabes, pastas y mezclas.

10 Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de hierro-oligosacárido según la invención pueden formularse con agentes nutricionales o farmacéuticos adicionales, tales como vitaminas, preferentemente vitaminas hidrosolubles, micronutrientes tales como oligometales, por ejemplo cobalto, cobre, cinc o selenio, agentes bacteriostáticos o antibióticos tales como tilosina. Pueden incluso emulsionarse vitaminas insolubles en agua en una disolución acuosa que comprende el compuesto de hierro-oligosacárido según la invención utilizando un emulsionante adecuado.

15 Según otro aspecto de la invención, se proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de hierro-oligosacárido, proceso que comprende las etapas de:

- (a) hidrolizar un polisacárido con el fin de reducir su peso molecular,
- 20 (b) hidrogenar el oligosacárido resultante para convertir grupos aldehído funcionales en grupos alcohol,
- (c) fraccionar el oligosacárido hidrogenado según el peso molecular, de modo que la fracción purificada tenga un peso molecular medio en peso igual o inferior a 3.000 daltons,
- 25 (d) combinar el oligosacárido hidrogenado fraccionado resultante como disolución acuosa con por lo menos una sal férrica hidrosoluble,
- (e) añadir una base a la disolución acuosa resultante para formar hidróxido férrico y
- 30 (f) calentar la disolución básica resultante para transformar el hidróxido férrico en oxihidróxido férrico en asociación con dicho oligosacárido;

35 en el que la etapa (c) comprende un procedimiento de purificación mediante uno o varios procesos de membrana que presentan un valor de corte de entre 340 y 800 daltons, procedimiento que se continúa hasta que el contenido de dímero de sacárido en la fracción purificada de oligosacárido se haya reducido al 2,9% en peso o a un valor inferior, en base al peso total del oligosacárido hidrogenado. En principio, la purificación podría realizarse alternativamente utilizando otros procedimientos para el fraccionamiento de oligosacáridos que sean adecuados para fraccionar a un intervalo más estrecho de pesos moleculares, por ejemplo procedimientos cromatográficos. No obstante, se prefiere la purificación mediante procedimientos de membrana. En cualquier caso, la técnica de fraccionamiento tradicional basada en precipitaciones no es una técnica de fraccionamiento adecuada para la presente invención, dado que la fracción de oligosacáridos obtenida será demasiado imprecisa.

45 Preferentemente, la hidrólisis inicial del polisacárido se realiza como una hidrólisis ácida, utilizando un ácido mineral fuerte tal como ácido sulfúrico, ácido fosfórico o ácido clorhídrico.

En una forma de realización preferida, la hidrogenación del oligosacárido resultante se realiza mediante adición de borohidruro de sodio en disolución acuosa.

50 Preferentemente, la asociación obtenida de oxihidróxido férrico con el oligosacárido se estabiliza mediante la adición de por lo menos una sal de un hidroxiaácido orgánico, preferentemente seleccionada de citratos.

Ventajosamente, dicha purificación mediante uno o varios procesos de membrana que tienen un valor de corte de entre 340 y 800 daltons se continúa hasta que el contenido de monómero en la fracción purificada de oligosacárido se haya reducido al 2,9%(p/p) o a un valor inferior.

55 El término polisacárido se utiliza en la presente memoria para describir cualquier polímero que comprenda unidades monoméricas de glucosa. Según una forma de realización, el polisacárido aplicado es dextrano.

60 El dextrano se purifica preferentemente en la etapa (c) mediante uno o más procesos de membrana que presentan un valor de corte adecuado para retener el dextrano de peso molecular superior a 2.700 daltons.

Cuando se añade base en la etapa (e) a la disolución acuosa resultante con el fin de formar hidróxido férrico, dicha disolución acuosa se ajusta preferentemente a un pH superior a 10.

65 El calentamiento en la etapa (f) se lleva a cabo de forma favorable a una temperatura superior a 100°C hasta que la disolución se vuelve una disolución coloidal negra o marrón oscura, que después de una neutralización se filtra, y se

añaden uno o más estabilizantes. Un filtro útil es un filtro de 0,45 µm. Antes de la adición de dichos estabilizantes, la disolución también puede someterse a otra purificación y estabilización utilizando filtración, calentamiento y procesos de membrana.

5 Finalmente, la disolución básica resultante puede secarse en una forma de realización preferida para obtener un compuesto de hierro-dextrano en forma de un polvo estable. Alternativamente, la operación de secado puede omitirse, de modo que se produzca un líquido para inyección a partir de la disolución purificada sin un secado intermedio del mismo. El polvo contiene, de forma adecuada, una cantidad de hierro (Fe) en el compuesto de hierro-dextrano del 50% en peso o inferior.

10 Según una forma de realización alternativa, el polisacárido utilizado es almidón, o dextrina. Las dextrinas se producen habitualmente mediante despolimerización de almidón utilizando medios de despolimerización conocidos tales como ácidos, bases o enzimas. En función de su origen, el almidón contiene una determinada cantidad de enlaces α -1,6-glucosídicos ubicados en puntos de ramificación de una cadena de poliglucosa. Por lo tanto, las dextrinas también pueden contener una fracción reducida similar de enlaces α -1,6-glucosídicos. Ajustando las condiciones para la despolimerización del almidón puede ser posible favorecer la ruptura de enlaces α -1,4-glucosídicos o de enlaces α -1,6-glucosídicos, de manera que la relación entre estos tipos de enlaces difiera entre el almidón original y las dextrinas preparadas.

15 20 Una de las propiedades características del almidón y de la dextrina consiste en sus propiedades gelificantes. A diferencia del dextrano, el almidón y las dextrinas superiores se gelifican incluso a concentraciones modestas, lo que dificulta su manipulación.

25 La tendencia a la gelificación del almidón y de las dextrinas se mitiga cuando el peso molecular se reduce mediante hidrólisis. No obstante, la hidrólisis no debería ser demasiado extensiva, dado que las dextrinas pequeñas, véase anteriormente, pueden dar lugar a problemas de toxicidad cuando se combinan con hierro en un complejo de asociación. Preferentemente, el almidón se hidroliza hasta que no forma complejos fuertemente coloreados con yodo. Las disoluciones de almidón hidrolizado hasta esta medida comprenden cantidades elevadas de dextrina en el intervalo de tamaño molecular deseado y presentan una viscosidad que es lo suficientemente baja como para permitir una manipulación sencilla y precisa. Para la hidrólisis de almidón, un ácido preferido es el ácido clorhídrico.

30 Antes de combinarlas con hierro, se disminuye la capacidad reductora de las dextrinas. Esto puede realizarse mediante hidrogenación de los grupos aldehído terminales de las dextrinas a alcoholes. Esta reducción puede realizarse utilizando procedimientos bien conocidos. Se prefiere realizar la hidrogenación utilizando borohidruro de sodio. Después de la hidrogenación, la capacidad reductora de las dextrinas debería ser inferior al 3,0% determinada mediante el procedimiento de oxidación cúprica.

35 En una forma de realización preferida, la dextrina de la etapa (c) se purifica para obtener un peso molecular medio en número (Mn) superior o igual a 500 daltons, teniendo la fracción del 10% de dicha dextrina hidrogenada que tiene el peso molecular más elevado un peso molecular medio en peso (Mw) inferior a 4.500 daltons y teniendo el 90% de las dextrinas un peso molecular inferior a 3.500 daltons.

40 En una forma de realización particularmente preferida la fracción del 10% de las dextrinas que tienen los pesos moleculares más elevados tiene un peso molecular medio inferior a 4.000 Da, teniendo el 90% de las dextrinas pesos moleculares inferiores a 3.000 daltons, y la fracción del 10% que tiene los pesos moleculares más reducidos tiene un peso molecular medio en peso de 800 daltons o superior. Una dextrina con dicha distribución del peso molecular muestra una viscosidad apropiada y proporciona complejos de asociación inocuos y estables con hierro.

45 En la etapa (d), la dextrina purificada e hidrogenada en forma de una disolución acuosa se combina con por lo menos una sal férrica hidrosoluble, siendo un ejemplo preferido de la misma el ferricloruro.

50 En la etapa (e), se añade base a la disolución resultante para formar hidróxido férrico, preferentemente hasta obtener un pH superior a 8,5.

55 La disolución básica resultante se calienta en la etapa (f) para transformar el hidróxido férrico en oxihidróxido férrico en asociación con la dextrina y preferentemente el calentamiento se lleva a cabo a una temperatura superior a 85°C hasta que la disolución se vuelve una disolución coloidal negra o marrón oscura, que se filtra después de neutralización, y se añaden uno o más estabilizantes. Antes de la adición de dichos estabilizantes, la disolución también puede someterse a una purificación y estabilización adicionales utilizando filtración, calentamiento y procesos de membrana.

60 Finalmente, la disolución básica resultante puede secarse en una forma de realización preferida para obtener un compuesto de hierro-dextrina en forma de un polvo estable. Alternativamente, la operación de secado puede omitirse, de modo que se produzca un líquido para inyección a partir de la disolución purificada sin un secado intermedio del mismo.

65

Según otro aspecto de la invención, se proporciona la utilización de un compuesto según el primer aspecto de la invención para la fabricación de una composición terapéutica administrable por vía parenteral o por vía oral para la prevención y el tratamiento de anemia ferropénica en sujetos animales o humanos.

5 Según otro aspecto de la invención, se proporciona un oligosacárido hidrogenado que tiene un peso molecular medio en peso (Mw) inferior a 3.000 daltons y un contenido de dímero de sacárido del 2,9% en peso o inferior, y preferentemente un contenido de monómeros del 0,5% en peso o inferior. Dicho oligosacárido es un producto intermedio en la producción del compuesto de hierro-oligosacárido según el primer aspecto de la invención.

10 Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un proceso para preparar dicho oligosacárido hidrogenado intermedio según el aspecto anterior de la invención, proceso que comprende las etapas de:

(a) hidrolizar un polisacárido con el fin de reducir su peso molecular,

15 (b) hidrogenar el oligosacárido resultante para convertir grupos aldehído funcionales en grupos alcohol y

(c) fraccionar el oligosacárido hidrogenado según el peso molecular, de modo que la fracción purificada tenga un peso molecular medio en peso igual o inferior a 3.000 daltons,

20 en el que la etapa (c) comprende un procedimiento de purificación mediante uno o varios procesos de membrana que tienen un valor de corte de entre 340 y 800 daltons, procedimiento que se continúa hasta que el contenido de dímero de sacárido en la fracción purificada de oligosacárido se haya reducido al 2,9% en peso o a un valor inferior, en base al peso total del oligosacárido hidrogenado. Preferentemente, dicha purificación se continúa hasta que el contenido de monómero en la fracción purificada de oligosacárido se haya reducido el 0,5% en peso o a un valor inferior.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un proceso para producir un líquido para inyección que contiene un compuesto según el primer aspecto de la invención, proceso en el que el compuesto de hierro-oligosacárido en forma de un polvo seco se disuelve en un medio acuoso; se ajusta el pH, si es necesario; opcionalmente, se añade estabilizante; y el líquido se esteriliza mediante filtración, antes de cargarlo en ampollas o viales, o mediante tratamiento en autoclave después de cargarlo en dichas ampollas o viales.

Alternativamente, se purifica un líquido que contiene dicho compuesto, se ajusta el contenido de hierro y el pH, se estabiliza y se esteriliza mediante filtración antes de cargarlo en ampollas o viales o mediante tratamiento en autoclave después de cargarlo en dichas ampollas o viales.

Los compuestos de hierro-oligosacárido según la invención son muy solubles en agua, lo que posibilita la preparación de líquidos para inyección que contienen una cantidad elevada de hierro. Según una forma de realización de la invención, se proporciona un líquido para inyección adaptado para administración a un ser humano que comprende el 1-20% (p/v) de hierro. Otra forma de realización de la invención proporciona un líquido para inyección adaptado para administración a un animal que comprende el 10-30% (p/v) de hierro.

Las disoluciones de los compuestos de hierro-oligosacárido según la invención pueden esterilizarse mediante esterilización en autoclave sin cambios físicos sustanciales en las disoluciones. Así, las disoluciones pueden esterilizarse en autoclave sin ningún cambio significativo en los pesos moleculares de los complejos o de la viscosidad de la disolución.

Las disoluciones acuosas del compuesto de hierro-oligosacárido pueden conservarse utilizando cualesquiera técnicas de conservación reconocidas tales como esterilización en autoclave, filtración a través de un filtro de 0,2-0,5 micrómetros en condiciones estériles o la adición de un agente conservante. Como ejemplo de un agente conservante puede mencionarse fenol al 0,5%.

No obstante, la esterilización en autoclave es un procedimiento preferido para conservar las disoluciones acuosas del compuesto según la invención. Se prefiere particularmente la esterilización en autoclave a una temperatura de 121-135°C durante un periodo de 5-40 minutos.

Las disoluciones acuosas del compuesto de hierro-oligosacárido según la invención muestran una estabilidad excelente y no son susceptibles de un deterioro en almacenamiento tal como mediante gelificación o precipitación.

60 A continuación se ilustra la invención con mayor detalle mediante los ejemplos no limitativos siguientes.

Ejemplos

Hidrólisis e hidrogenación de dextrano

65 Una cantidad de dextrano prehidrolizado recogida como permeado de una membrana que tiene un valor de corte

< 5.000 daltons se hidroliza adicionalmente a un pH de 1,5 a una temperatura de 95°C.

5 Se realiza un seguimiento de la hidrólisis utilizando cromatografía de permeación en gel (GPC) y se termina mediante enfriamiento cuando se estima que el peso molecular del material que se está hidrolizando ha alcanzado el valor deseado, es decir, un peso molecular medio en peso de 700-1.400 daltons.

En la hidrólisis se produce dextrano de bajo peso molecular, pero también se forman glucosa e isomaltosa. Después de la hidrólisis, el contenido de disacárido se encuentra en el 7-8% en peso.

10 Después del enfriamiento y la neutralización, la cantidad de monómero y de dímero se reduce mediante procesos de membrana que tienen un valor de corte de 340-800 daltons. Se realiza un seguimiento de la concentración de monosacárido y de disacárido en la disolución mediante cromatografía de permeación en gel, y el fraccionamiento se continúa hasta una concentración de dímero del 2,9% en peso o inferior y una concentración de monómero del 0,5% en peso o inferior.

15 A continuación, el contenido de dextrano se determina mediante rotación óptica y la cantidad de azúcar reductor se determina utilizando reactivo de Somogyi. Para disminuir la capacidad reductora por debajo del 3% se añade borohidruro de sodio a la disolución a pH básico. La relación aplicada de borohidruro de sodio : dextrano fraccionado es de 1 : 34,7.

20 La disolución se neutraliza a pH < 7,0 y a continuación se desioniza. Los pesos moleculares medios y la distribución del peso molecular se determinan cromatográficamente. La cromatografía revela que las condiciones deseadas, a saber, que el 90% en peso del dextrano tenga un peso molecular inferior a 2.700 daltons y que el peso molecular medio en peso (Mw) de la fracción del 10% en peso del dextrano que tiene el peso molecular más elevado sea inferior a 3.200 daltons, se cumplen. El rendimiento final de dextrano después de la desionización es aproximadamente el 50% con respecto a la cantidad inicial de dextrano hidrolizado previamente.

Síntesis de hierro-dextrano

30 Se mezclan 120 kg de dextrano producido como anteriormente en forma de una disolución al 18% con 150 kg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$. A la mezcla agitada se le añaden 93 kg de Na_2CO_3 en forma de una disolución acuosa saturada, después de lo cual el pH se eleva a 10,5 utilizando 24 litros de NaOH concentrado acuoso (27% (p/v)).

35 La mezcla así obtenida se calienta a una temperatura superior a 100°C hasta que se vuelva una disolución coloidal negra o marrón oscura. Después de enfriar, la disolución se neutraliza utilizando 12 litros de ácido clorhídrico concentrado para obtener un pH de 5,8. Después de la filtración, la disolución se purifica utilizando procesos de membrana hasta que el contenido de cloruro en la disolución sea inferior al 0,55% calculado sobre la base de la disolución que contiene el 5% (p/v) de hierro.

40 Si el contenido de cloruro de la disolución es inferior al deseado para obtener una disolución isotónica, se añade cloruro de sodio y el pH se ajusta finalmente a 5,6, y la disolución se filtra a través de un filtro de membrana de 0,45 μm (o alternativamente de 0,2 μm).

45 La disolución se seca por pulverización y el hierro-dextrano en polvo está listo para comercializarlo o para procesarlo adicionalmente.

Alternativamente al secado por pulverización, la disolución puede utilizarse para la producción directa de líquidos para inyección que tengan un contenido de hierro de, por ejemplo, el 10% (p/v), tal como se ha descrito anteriormente.

50 Cuando se utiliza el hierro-dextrano en polvo para producir líquidos para inyección o para infusión, el polvo se vuelve a disolver en un medio acuoso, se comprueba el pH y, si es necesario, se ajusta, y la disolución se carga en ampollas o viales después de esterilizarla por filtración. Alternativamente, la esterilización puede tener lugar mediante esterilización en autoclave después de cargarla en ampollas o viales.

Análisis de la estabilidad de compuestos de hierro-oligosacárido con respecto a su contenido de dímero

60 Una serie de compuestos de hierro-oligosacárido con diferentes contenidos de disacárido se analizaron para determinar su tasa de hidrólisis y su peso molecular aparente, siendo ambos indicativos de la calidad de los compuestos respectivos.

65 La tasa de hidrólisis de Fe^{3+} a partir del compuesto de FeOOH y oligosacárido en disolución ácida (HCl 0,24 M; NaCl al 0,9%) se asume que correlaciona con la velocidad de liberación fisiológica de hierro. Por lo tanto, la tasa de hidrólisis expresada mediante la semivida ($t_{1/2}$) es un parámetro importante de los compuestos investigados.

La hidrólisis de Fe^{3+} se midió mediante absorbancia óptica a 287,3 nm.

Además, se descubrió que la termoestabilidad de oligosacáridos de hierro es función de su peso molecular aparente (M_p). Así, dichos compuestos son inestables en un grado insatisfactorio si el peso molecular aparente supera de forma marcada un valor de 160.000 daltons después de almacenamiento a una temperatura elevada durante tres meses como disoluciones de ensayo.

Los resultados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1

Compuesto de hierro-oligosacárido N°	Cantidad de dímero en el oligosacárido	$t_{1/2}$ /horas	M_p /daltons	Evaluación después de mantenerlo a una temperatura elevada durante 3 meses
1	0,5%	25,5	133,490	estable
2	0,75%	21,7	149,532	estable
3	0,75%	22,5	146,353	estable
4	1,6%	21,6	138,053	estable
6	1,6%	18,3	145,250	estable
7	2,0%	20,9	150,983	estable
8	2,0%	20,3	142,664	estable
9	3,0%	12,1	152,516	inestable
10	5,0%	12,2	185,433	inestable
11	8,0%	9,7	215,143	inestable

Tal como se observa en la tabla 1, el peso molecular aparente se encuentra en un intervalo deseable, a saber, de aproximadamente 130 kDa a aproximadamente 160 kDa, cuando la cantidad de dímero en el oligosacárido es inferior al 3%. Lo mismo se mantiene para la tasa de hidrólisis expresada mediante la semivida. La semivida ($t_{1/2}$) se define como el tiempo al que la absorbancia es la mitad del valor comparado de la absorbancia a $t=0$.

Los resultados mostrados en la tabla 1 anterior pueden disponerse en dos series. Cuando los resultados se representan en un diagrama de $t_{1/2}$ frente a contenido de dímero aparece la figura 1. Las dos líneas rectas ajustadas en las dos series muestran una intercepción a un contenido de dímero del 3,5% en peso y una $t_{1/2}$ de 12,6 horas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Compuesto de hierro-oligosacárido que comprende un oligosacárido hidrogenado en asociación estable con oxihidróxido férrico, presentando el oligosacárido hidrogenado un peso molecular medio en peso (Mw) inferior a 3.000 daltons, caracterizado por que el contenido de dímero de sacárido en dicho oligosacárido hidrogenado es de 2,9% en peso o inferior, sobre la base del peso total del oligosacárido hidrogenado.
- 10 2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el contenido de monómero de sacárido en dicho oligosacárido hidrogenado es de 0,5% en peso o inferior, sobre la base del peso total del oligosacárido hidrogenado.
- 15 3. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el peso molecular aparente (M_p) de dicho compuesto es de 120.000 a 180.000 daltons, medido en una disolución acuosa esterilizada en autoclave preparada disolviendo en 1.000 ml de agua 400 g de polvo de oligosacárido hidrogenado en disolución estable con oxihidróxido férrico, siendo la cantidad de hierro (Fe) del polvo de 25% en peso.
- 20 4. Composición que comprende una cantidad farmacológicamente eficaz de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores y por lo menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 25 5. Proceso para preparar un compuesto de hierro-oligosacárido que comprende las etapas de:
- (a) hidrolizar un polisacárido con el fin de reducir su peso molecular,
- (b) hidrogenar el oligosacárido resultante para convertir unos grupos aldehído funcionales en grupos alcohol,
- 30 (c) fraccionar el oligosacárido hidrogenado según el peso molecular, de manera que la fracción purificada presente un peso molecular medio en peso igual o inferior a 3.000 daltons,
- (d) combinar el oligosacárido hidrogenado fraccionado resultante como una disolución acuosa con por lo menos una sal férrica hidrosoluble,
- 35 (e) añadir una base a la disolución acuosa resultante para formar hidróxido férrico, y
- (f) calentar la disolución básica resultante para transformar el hidróxido férrico en oxihidróxido férrico junto con dicho oligosacárido;
- 40 caracterizado por que la etapa (c) comprende un procedimiento de purificación mediante uno o más procesos de membrana que presentan un valor de corte entre 340 y 800 daltons, siendo dicho procedimiento prolongado hasta que el contenido de dímero de sacárido en la fracción purificada de oligosacárido se haya reducido a 2,9% en peso o menos, sobre la base del peso total del oligosacárido hidrogenado.
- 45 6. Proceso según la reivindicación 5, en el que dicha purificación se prolonga hasta que el contenido de monómero de sacárido en la fracción purificada de oligosacárido se haya reducido a 0,5% en peso o menos, sobre la base del peso total del oligosacárido hidrogenado.
- 50 7. Proceso según la reivindicación 5 o 6, en el que dicho polisacárido es el dextrano.
8. Proceso según la reivindicación 5, en el que dicho polisacárido es el almidón o la dextrina.
9. Proceso según la reivindicación 5, en el que en la etapa (c) la dextrina hidrogenada se purifica para obtener un peso molecular medio en número (Mn) superior o igual a 500 daltons, en el que la fracción de 10% de dicha dextrina hidrogenada que presenta el peso molecular más elevado presenta un peso molecular medio en peso (Mw) inferior a 4.500 daltons y 90% de las dextrinas presentan un peso molecular inferior a 3.500 daltons.
- 55 10. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en el que la estabilización que sigue a la etapa (f) se realiza añadiendo por lo menos una sal de un hidroxácido orgánico.
- 60 11. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la fabricación de una composición terapéutica que puede administrarse por vía parenteral u oral para la profilaxis o el tratamiento de la anemia ferropénica en sujetos animales o humanos.
- 65 12. Oligosacárido hidrogenado que presenta un peso molecular medio en peso (Mw) inferior a 3.000 daltons, caracterizado por que dicho oligosacárido hidrogenado presenta un contenido de dímero de sacárido de 2,9% en peso o inferior, sobre la base del peso total del oligosacárido hidrogenado.
13. Proceso para preparar un oligosacárido hidrogenado, comprendiendo dicho proceso las etapas de:

(a) hidrolizar un polisacárido con el fin de reducir su peso molecular,

5 (b) hidrogenar el oligosacárido resultante para convertir unos grupos aldehído funcionales en grupos alcohol, y

(c) fraccionar el oligosacárido hidrogenado según el peso molecular, de manera que la fracción purificada presente un peso molecular medio en peso igual o inferior a 3.000 daltons,

10 caracterizado por que la etapa (c) comprende un procedimiento de purificación mediante uno o más procesos de membrana que presentan un valor de corte entre 340 y 800 daltons, siendo dicho procedimiento prolongado hasta que el contenido de dímero de sacárido en la fracción purificada de oligosacárido se haya reducido a 2,9% en peso o menos, sobre la base del peso total del oligosacárido hidrogenado.

15 14. Proceso para producir un líquido para inyección que contiene un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el compuesto como un polvo seco se disuelve en un medio acuoso; se ajusta el pH, si es necesario; opcionalmente, se añade estabilizante; y el líquido se esteriliza mediante filtración, antes de introducirlo en ampollas o viales, o mediante tratamiento en autoclave después de introducirlo en dichas ampollas o dichos viales.

20 15. Proceso para producir un líquido para inyección que contiene un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que un líquido que contiene dicho compuesto se purifica; se ajusta con respecto al contenido de hierro y al pH, se estabiliza y se esteriliza mediante filtración antes de ser introducido en ampollas o viales o mediante tratamiento en autoclave después de introducirlo en dichas ampollas o dichos viales

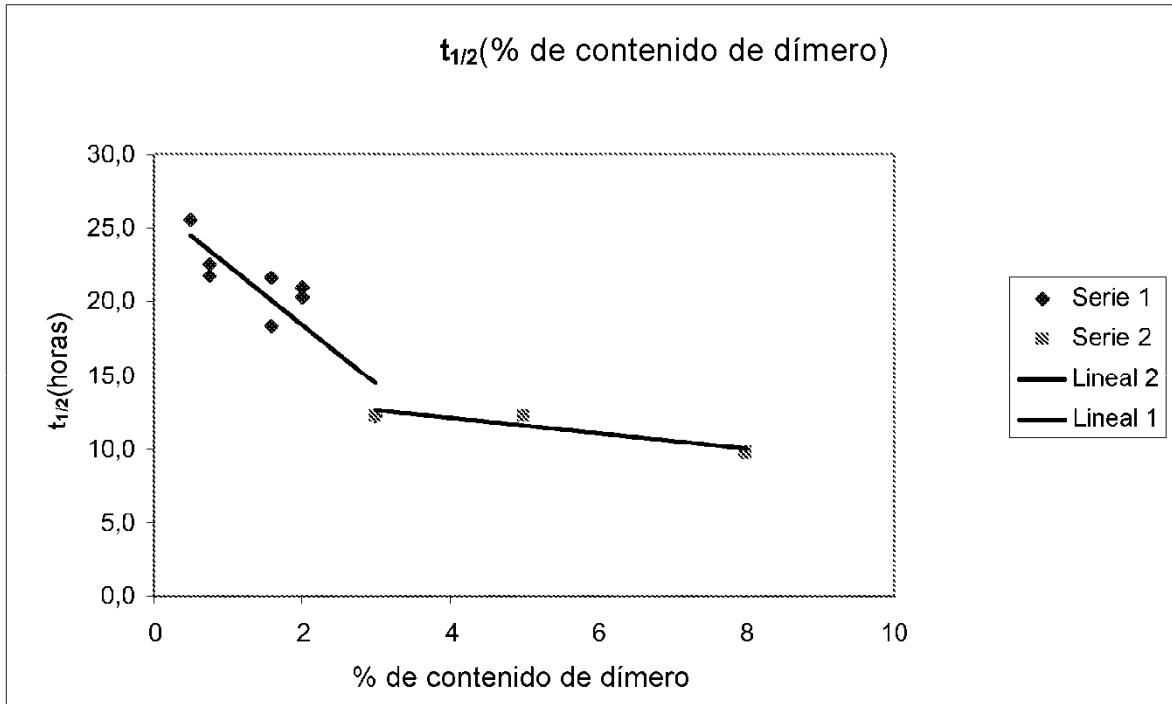


Fig. 1