

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 733 767**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 47/36</b>	(2006.01)
<b>C08B 31/10</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/61</b>	(2007.01)
<b>C08B 31/12</b>	(2006.01)
<b>C08B 31/18</b>	(2006.01)
<b>A61K 33/26</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.06.2012 PCT/EP2012/061958**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2012 WO12175608**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.06.2012 E 12737229 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2019 EP 2723774**

54 Título: **Método para la fabricación de derivados de hidroxietilalmidón**

30 Prioridad:

**21.06.2011 EP 11170761**

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

**02.12.2019**

73 Titular/es:

**SERUMWERK BERNBURG AG (100.0%)  
Hallesche Landstrasse 105 b  
06406 Bernburg, DE**

72 Inventor/es:

**ZIMMERMANN, WERNER y  
LUKOWCZYK, JAN**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**Observaciones:**

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

ES 2 733 767 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

Método para la fabricación de derivados de hidroxietilalmidón

5 La invención se refiere a un método para fabricar un hidroxietilalmidón de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1.

10 Los pacientes que padecen enfermedad renal en fase terminal en hemodiálisis crónica a menudo muestran anemia por deficiencia de hierro. Esto se basa en el hecho de que la aplicación de eritropoyetina humana recombinante en la hemodiálisis da como resultado un aumento en el requisito de hierro que no puede satisfacerse con la absorción intestinal de hierro. Por lo tanto, la complementación con hierro es necesaria para apoyar una eritropoyesis iniciada por la terapia con eritropoyetina para contrarrestar la anemia renal.

15 Existen varias formulaciones para administrar hierro a los pacientes. Estas formulaciones suelen ser complejos de iones de hierro con carbohidratos poliméricos como el dextrano, o compuestos orgánicos como la sacarosa o el gluconato para formar complejos polinucleares con iones metálicos.

20 En particular, el hierro en complejo con dextrano se ha usado en el pasado para tratar la anemia por deficiencia de hierro. Sin embargo, dichos dextranos tienen comparativamente muchos efectos secundarios y pueden mostrar un efecto anafiláctico, ya que los anticuerpos antiestreptococos pueden reaccionar en los dextranos.

25 Ternes et al.: "Iron availability and complex stability of iron hydroxyethyl starch and iron dextran - a comparative in vitro study with liver cells and macrophages", *Nephrology Dialysis Transplantation* 22 (2007), 2824-2830 describen el uso de hidroxietilalmidón como vehículo para iones de hierro. Sin embargo, hasta la fecha no se ha publicado ningún método de fabricación adecuado por el cual se puedan producir altas cantidades de hidroxietilalmidón de manera fiable.

30 Un objetivo de la presente invención es proporcionar un método para producir un hidroxietilalmidón que sea adecuado como vehículo para iones metálicos.

Este objetivo se logra mediante un método que tiene las características de la reivindicación 1. Este método comprende las siguientes etapas:

35 a) Primero, el hidroxietilalmidón se disuelve en agua.

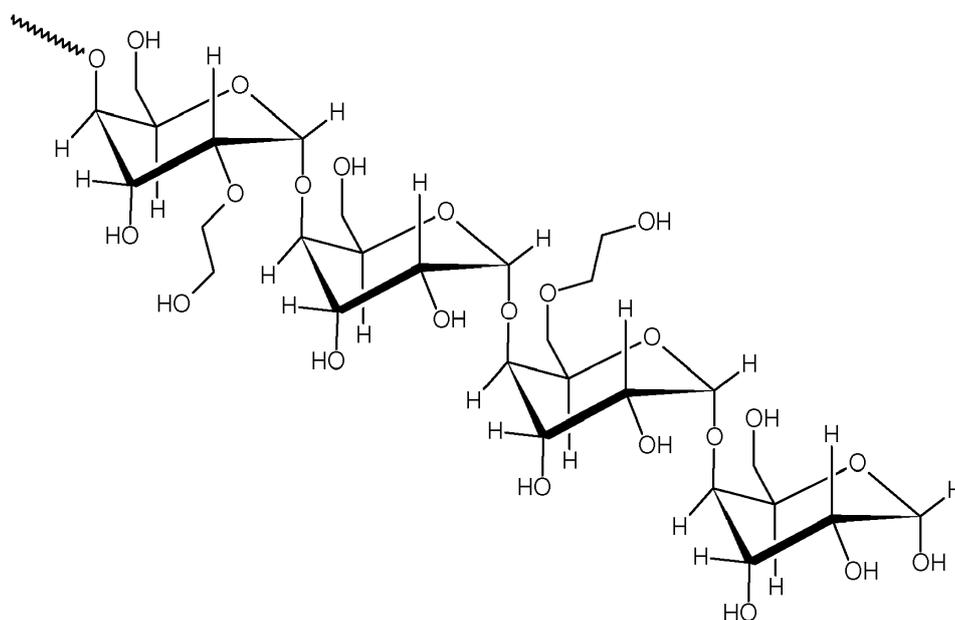
b) Después, el valor del pH se ajusta a un valor de 8,0 a 10,0

40 c) Posteriormente, se añade un compuesto de cianuro a la solución de hidroxietilalmidón. Después, la solución se calienta a una temperatura de 80 a 99 °C y se mantiene a esta temperatura durante un primer periodo de tiempo.

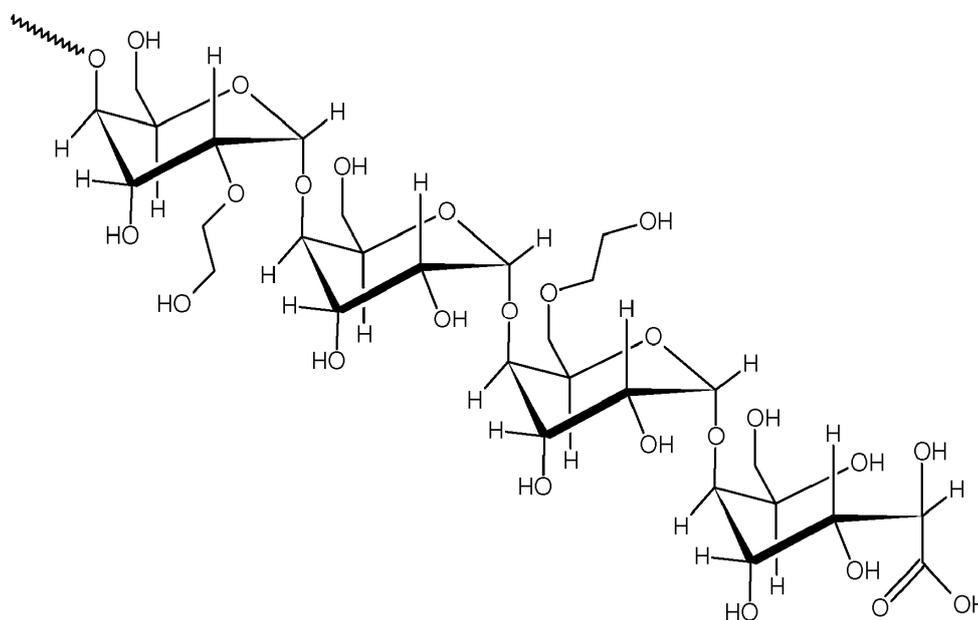
d) Finalmente, el valor del pH se ajusta a un valor de 2,0 a 4,0 y la solución se lleva a una temperatura de 50 a 90 °C y se mantiene a esta temperatura durante un segundo periodo de tiempo.

45 Un almidón fabricado por este método está caracterizado por que transporta un residuo de ácido heptónico en al menos uno de sus extremos. Por lo tanto, dicho almidón podría transportar una cantidad de residuos de ácido heptónico por molécula, dependiendo de la cantidad de residuos de glucosilo terminales que estén presentes en la molécula de almidón. Este residuo de ácido heptónico aumenta la hidrofiliidad del hidroxietilalmidón y aumenta la estabilidad de los complejos formados por este hidroxietilalmidón con ligandos, como, por ejemplo, iones metálicos, tales como iones de hierro.

50 Hablando de manera más general, el hidroxietilalmidón (HES) es un almidón en el que algunos de los grupos hidroxilo de los residuos de glucosilo individuales están sustituidos por un residuo de hidroxietilo. Un extracto a modo de ejemplo de una estructura de hidroxietilalmidón se representa en la siguiente fórmula:



- La cantidad de residuos de hidroxietilo (en el presente caso dos residuos de hidroxietilo por cada cuatro residuos de glucosilo del almidón) debe entenderse solo a modo de ejemplo. En la fórmula representada anteriormente, solo se muestran los enlaces 1,4-alfa glucosídicos entre los residuos de glucosilo individuales. Sin embargo, como se conoce bien por un experto en la técnica, el almidón comprende también enlaces 1,6-alfa glucosídicos que conducen a la ramificación del almidón y al aumento del número de residuos de glucosilo terminales en la molécula de almidón.
- 5
- 10 Si un extremo del hidroxietilalmidón se modifica por un residuo de ácido heptónico, el almidón modificado correspondiente (que transporta un residuo de ácido heptónico) puede representarse de la siguiente manera:



- 15 La modificación por el residuo de ácido heptónico tiene lugar mediante la conversión del residuo de glucosilo terminal del hidroxietilalmidón en un residuo de ácido heptónico. El esquema de reacción específico se explicará más adelante con más detalle.
- 20 Preferiblemente, el hidroxietilalmidón usado en el método tiene un peso molecular promedio en peso ( $P_M$ ) de menos de 200 000 g/mol, en particular de menos de 130 000 g/mol, en particular de menos de 100 000 g/mol, en particular de menos de 90 000 g/mol, en particular de menos de 80 000 g/mol, y muy particular de menos de 75 000 g/mol. Un peso molecular muy adecuado está en el intervalo de 55 000 g/mol a 85 000 g/mol. Un hidroxietilalmidón de este tipo tiene un peso molecular comparativamente más bajo que los hidroxietilalmidones (no modificados) utilizados en el

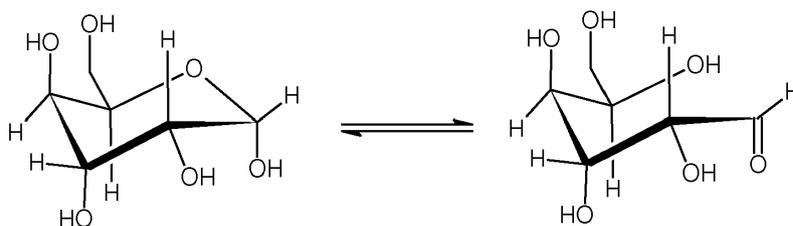
campo médico en la actualidad. Un método adecuado para determinar el peso molecular del hidroxietilalmidón es la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC).

5 En una realización preferida, el hidroxietilalmidón tiene un grado promedio de sustitución molar de 0,4 a 0,6, en particular de 0,45 a 0,55. Un grado promedio de sustitución molar de aproximadamente 0,50 es particularmente preferido. El grado promedio de sustitución molar es una medida de la cantidad de grupos hidroxilo que están sustituidos con un residuo de hidroxietilo por residuo de glucosilo. Dado que cada unidad de glucosa (o residuo de glucosilo) contiene tres grupos hidroxilo, el grado promedio de sustitución molar puede ser tres como máximo. Un grado promedio de sustitución molar de 0,5 indica que (en una base promedio o estadística) en cada segundo residuo de glucosilo, un grupo hidroxilo está sustituido con un residuo de hidroxietilo.

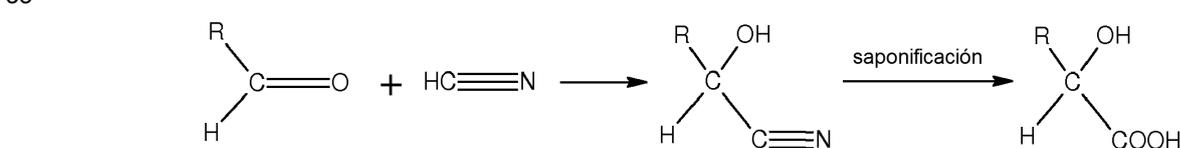
15 En una realización preferida, el hidroxietilalmidón tiene un peso molecular promedio en peso de 55 000 a 85 000 g/mol, preferiblemente aproximadamente 70 000 g/mol, y un grado promedio de sustitución molar de 0,45 a 0,55, en particular aproximadamente 0,50. Tal hidroxietilalmidón con un peso molecular de 70 000 g/mol  $\pm$  15 000 g/mol y un grado promedio de sustitución molar de 0,5  $\pm$  0,05 también puede denominarse HES 70/0,5.

20 Generalmente, el hidroxietilalmidón puede tener diferentes orígenes orgánicos. Por ejemplo, el hidroxietilalmidón se puede producir a partir de almidón de maíz ceroso. Sin embargo, en una realización preferida, el almidón de patata se usa como material de partida para la producción de hidroxietilalmidón que después se modifica adicionalmente para contener al menos un residuo de ácido heptónico. El almidón de maíz ceroso y el almidón de patata difieren en su constitución molar con respecto a la cantidad de enlaces 1,4-alfa glucosídicos y enlaces 1,6-alfa glucosídicos.

25 Las reacciones que tienen lugar durante las etapas de reacción mencionadas anteriormente a) a d) se explicarán ahora con más detalle. Primero, debe apreciarse que los residuos de glucosa del hidroxietilalmidón están presentes en dos formas tautoméricas, concretamente, en una forma de hemiacetal cíclico (que se muestra en el siguiente esquema de reacción a la izquierda) y en una forma de aldehído abierto (que se muestra en el siguiente esquema de reacción a la derecha):



30 El grupo aldehído de tal residuo de glucosilo puede reaccionar con un grupo cianuro de un compuesto de cianuro para formar un nuevo enlace único C-C. Al reducir el valor del pH, se produce una saponificación del grupo nitrilo. El resultado de esta reacción es la introducción de un grupo carboxilo en la molécula existente. El esquema de reacción correspondiente se representa a continuación:



40 En una realización preferida, el hidroxietilalmidón se disuelve en agua que tiene un alto nivel de pureza, como, por ejemplo, agua altamente pura, agua ultra pura o agua para inyección, en la etapa a). En una realización adicional, el almidón se disuelve para alcanzar una concentración de 12,0 a 20,0 °Bx. La unidad de medida °Bx (grado Brix) es una unidad representativa del contenido de azúcar de una solución acuosa. Esta unidad es bien conocida por los expertos en la técnica. 1 °Bx corresponde a 1 g de sacarosa en 100 g de solución. Por lo tanto, 1 °Bx corresponde a 1 por ciento en peso (p/p) de sacarosa. Además, en el caso del almidón como hidroxietilalmidón, se puede realizar una conversión 1:1 de °Bx a porcentaje en peso. Por lo tanto, una solución de hidroxietilalmidón que tiene una concentración del 1 % (p/p) tiene una concentración de almidón de 1 °Bx. En consecuencia, de 12,0 a 20,0 °Bx corresponden a del 12,0 al 20,0 % (p/p) de hidroxietilalmidón.

50 Preferiblemente, la concentración está en el intervalo de 13,0 a 19,0 °Bx y muy preferiblemente es un intervalo de concentración de 14,0 a 18,0 °Bx.

En una realización, el valor del pH se ajusta en la etapa b) a un valor de 8,5 a 9,5. La lejía de sodio (una solución acuosa de hidróxido de sodio) es muy adecuada para este ajuste de pH.

En una realización preferida, el cianuro de sodio se usa como un compuesto de cianuro en la etapa c). En una

realización preferida adicional, la solución se calienta a una temperatura de 83 a 95 °C y particularmente a una temperatura de 86 a 92 °C. Cuando se mantiene la solución a esta temperatura, durante el primer periodo de tiempo, preferiblemente se airea. Esta etapa de reacción también se conoce como tratamiento térmico alcalino. El primer periodo de tiempo es preferiblemente de 3 a 8 horas, en particular de 4 a 7 horas y en particular de aproximadamente 5 horas.

En la etapa d), el valor del pH se ajusta preferiblemente a un valor de 2,5 a 3,5. El ácido clorhídrico es un ácido muy adecuado para este ajuste del pH. En una realización preferida, la solución se lleva a la etapa d) a una temperatura de 60 a 80 °C. La solución se airea preferiblemente mientras se mantiene a esta temperatura durante el segundo periodo de tiempo. Esta etapa de reacción también se conoce como tratamiento térmico ácido. El segundo periodo de tiempo es preferiblemente de 10 a 16 horas, en particular de 12 a 14 horas.

Como ya se ha indicado anteriormente, el hidroxietilalmidón modificado con ácido heptónico se usa bien como un vehículo para iones metálicos que pueden complejarse por el hidroxietilalmidón modificado de una manera muy adecuada. Esto es particularmente cierto si los iones metálicos son iones de hierro. Por lo tanto, en una realización preferida, el hidroxietilalmidón está complejado con iones de hierro. Tal complejo de iones de hierro dentro del hidroxietilalmidón modificado es un vehículo adecuado para proporcionar hierro a un cuerpo humano o animal. A este respecto, el hidroxietilalmidón modificado producido de acuerdo con un aspecto de la invención es una molécula portadora muy adecuada para iones metálicos como iones de hierro.

Para fabricar tal complejo, la etapa d) del método va seguida, en una realización preferida, de etapas del método adicionales que se explican a continuación:

e) La solución se enfría a una temperatura de 10 a 40 °C.

f) Se añade un compuesto de hierro a la solución.

g) El valor del pH de la solución se ajusta a un valor de 2,0 a 4,0 después de que haya transcurrido un tercer periodo de tiempo después de la adición del compuesto de hierro.

h) Finalmente, el complejo de hidroxietilalmidón y el compuesto de hierro se estabiliza mediante al menos un tratamiento térmico. Este tratamiento térmico se realiza calentando la solución a una temperatura de 80 a 99 °C, enfriándola a una temperatura de 10 a 40 °C y después ajustando el valor del pH a un valor de 3,0 a 7,0.

En una realización preferida, la solución se enfría en la etapa e) y/o h) a una temperatura de 15 a 35 °C, en particular de 20 a 30 °C.

En una realización adicional, el compuesto de hierro añadido en la etapa f) es una sal de hierro. Al hacerlo, los iones de hierro son particularmente accesibles para formar un complejo con el hidroxietilalmidón.

En una realización, los iones metálicos están presentes en el complejo en una cantidad del 1 % (p/p) al 20 % (p/p), en particular del 2 % (p/p) al 15 % (p/p), en particular del 3 % (p/p) al 10 % (p/p), en particular del 4 % (p/p) al 6 % (p/p), en particular aproximadamente el 5 % (p/p), en cada caso con respecto al peso total del complejo de hidroxietilalmidón e iones metálicos.

En una realización preferida, los iones de hierro son iones de hierro férrico, es decir, iones de hierro (III). Tienen un número de oxidación de +3 y también pueden escribirse como iones  $Fe^{3+}$ . Los iones férricos pueden proporcionarse, por ejemplo, por sales férricas, óxido férrico o hidróxido férrico. Otros compuestos férricos conocidos *per se* por un experto en la técnica son, por supuesto, también adecuados para proporcionar iones férricos. Por lo tanto, en una realización, la sal de hierro es una sal de hierro (III).

En una realización preferida adicional, el complejo de hidroxietilalmidón e iones de hierro tiene un radio de giro en el intervalo de aproximadamente 30 a 70 nm, en particular de aproximadamente 40 a 60 nm, en particular de aproximadamente 45 a 55 nm, y muy particular de aproximadamente 50 nm. Por lo tanto, el complejo tiene un tamaño que es comparable al de los virus. El tamaño (o el radio de giro) del complejo se puede determinar, por ejemplo, mediante el fraccionamiento de flujo de campo (FFF), en particular si se realiza como FFF de flujo asimétrico. Este método es conocido por el experto en la técnica y no se describirá aquí en detalle.

Una solución final del complejo de hidroxietilalmidón e iones de hierro tiene preferiblemente un color marrón oscuro y exhibe una viscosidad menor o igual a 25 mm<sup>2</sup>/s, una densidad de 1,050 a 1,150 g/ml, un valor del pH de 5,0 a 7,5, un contenido de cianuro de menos de 0,5 ppm, un contenido de hierro libre de menos de 0,1 g/100 ml, un contenido de cloruro de menos de 0,5 g/100 ml, un contenido de hierro total de 4,750 a 5,250 g/100 ml, un contenido de HES de 5 a 15 g/100 ml y/o un contenido de materia seca de 10 a 25 g/100 ml.

En una realización preferida, no se cumplen todos, sino solo algunos de los criterios mencionados anteriormente, en los que es posible cualquier combinación de estos parámetros.

5 En una realización preferida adicional, el valor del pH de la solución se ajusta en la etapa g) a un valor de 2,5 a 3,5. Este ajuste del pH puede realizarse, por ejemplo, mediante un carbonato como, por ejemplo, carbonato de sodio, en particular en forma de una solución de carbonato. El tercer periodo de tiempo es preferiblemente de 12 a 48 horas, en particular de 24 a 36 horas.

10 En una realización, la etapa h) se realiza de tal manera que el valor del pH obtenido después de una etapa de calentamiento adicional que sigue a una etapa de calentamiento anterior es mayor que el valor del pH en la etapa de calentamiento anterior.

En una realización adicional, la etapa de tratamiento térmico h) del método se lleva a cabo realizando las siguientes subetapas:

15 h1) La solución se calienta a una temperatura de 80 a 99 °C, se mantiene a esta temperatura durante un cuarto periodo de tiempo, se enfría a una temperatura de 10 a 40 °C y después el valor del pH de la solución se ajusta a un valor de 3,0 a 5,0.

20 h2) La solución se calienta entonces de nuevo a una temperatura de 80 a 99 °C, se mantiene a esta temperatura durante un quinto periodo de tiempo, se enfría a una temperatura de 10 a 40 °C y después se ajusta el valor del pH de la solución a un valor de 4,0 a 6,0.

25 h3) Finalmente, la solución se calienta una vez más de nuevo a una temperatura de 80 a 99 °C, se mantiene a esta temperatura durante un sexto periodo de tiempo, se enfría a una temperatura de 10 a 40 °C y después el valor del pH de la solución se ajusta a un valor de 5,0 a 7,0.

30 En la realización de estas tres subetapas posteriores h1) a h3), el valor del pH de la solución se aumenta preferiblemente desde la etapa h1) a la etapa h2) a la etapa h3). Preferiblemente, la solución se ajusta a un valor del pH de 3,5 a 4,5 en la etapa h1). En una realización, el valor del pH de la solución se ajusta a un valor de 4,5 a 5,5 en la etapa h2). En una realización adicional, el valor del pH de la solución se ajusta a un valor de 5,5 a 6,5 en la etapa h3).

35 En una realización preferida, la temperatura a la que se calienta la solución está en el intervalo de 85 a 95 °C en cualquiera de las etapas h1), h2) y h3), en la que las temperaturas en todas las etapas de reacción son independientes entre sí.

En otra realización preferida, la solución se enfría a una temperatura de 15 a 35 °C, en particular de 20 a 30 °C en cualquiera de las etapas h1), h2) y h3), en la que la temperatura en todas las etapas de reacción son independientes entre sí.

40 El cuarto, quinto y sexto periodo de tiempo son cada uno preferiblemente de 15 minutos a 3 horas, en particular de 30 minutos a 2 horas, en particular de 45 minutos a 1,25 horas y muy en particular de aproximadamente 1 hora, en los que la duración de cada periodo de tiempo es independiente de la duración de los demás periodos de tiempo.

45 La etapa h), en particular cuando se realiza de acuerdo con cualquiera de las realizaciones preferidas, es decisiva para la formación de la estructura del complejo generado de hidroxietilalmidón y el hierro u otro compuesto metálico.

50 En una realización preferida, el compuesto de hierro a usar para formar un complejo del hidroxietilalmidón y el hierro es una sal de hierro (III). El cloruro de hierro (III) (también conocido como cloruro férrico,  $\text{FeCl}_3$ ) es una sal férrica muy adecuada para este propósito.

55 Para ajustar la concentración de la solución formada, la solución se puede concentrar hasta que se alcance la concentración de hidroxietilalmidón o la concentración de hierro especificada. Si la concentración ya es superior a la deseada, la solución formada se puede diluir. Los medios adecuados para la dilución son agua como, por ejemplo, agua para inyección.

Para ajustar el valor del pH al valor deseado, se puede usar cualquier base o ácido. El hidróxido de sodio y el ácido clorhídrico son medios muy adecuados para ajustar el valor del pH.

60 En una realización, también se controlan la viscosidad y/o la densidad de la solución.

Finalmente, la solución puede filtrarse para reducir la cantidad de gérmenes que están presentes en la solución. Finalmente, se carga en un envase adecuado.

65 Los detalles adicionales de la invención se explicarán mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Fabricación de ácido heptónico HES

Para fabricar hidroxietilalmidón modificado con ácido heptónico, se disolvió HES 70/0,5 en agua para inyección para alcanzar una concentración de 14,0 a 18,0 °Bx. Después, el valor del pH se ajustó a un valor de 8,5 a 9,5 con lejía de sodio. Para la formación del extremo de ácido heptónico del hidroxietilalmidón, se añadió cianuro de sodio y la solución se calentó de 80 hasta 95 °C. A esta temperatura de reacción, la solución se aireó durante 5 h (tratamiento térmico alcalino). Posteriormente, el valor del pH se ajustó a un valor de 2,5 a 3,5 utilizando ácido clorhídrico. Después, la solución se aireó a una temperatura de 60 a 80 °C durante 12 a 14 h (tratamiento térmico ácido). Finalmente, la solución se enfrió a una temperatura de 20 a 30 °C y se ajustó a una concentración de hidroxietilalmidón modificado de 16,0 a 20,0 °Bx.

#### Ejemplo 2: Complejación y estabilización del complejo

Para formar un complejo de hierro HES, se añadió cloruro de hierro (III) al hidroxietilalmidón modificado del ejemplo 1 (también se podría haber usado cualquier otro hidroxietilalmidón modificado con ácido heptónico). Al hacerlo, se utilizó una solución de cloruro de hierro (III) que tiene una concentración de aproximadamente el 40 % (p/v) de cloruro de hierro (III) (contenido de hierro de 190 a 210 mg/ml). La relación de hierro con respecto a hidroxietilalmidón modificado fue de aproximadamente 1:2,7 (kg/kg). En 24 a 36 h, se añadió una solución de carbonato de sodio al 20 % a esta solución de cloruro de hierro (III) e hidroxietilalmidón modificado, hasta que se alcanzó nuevamente un valor del pH de 2,5 a 3,5. Después, el complejo se estabilizó mediante un programa de temperatura-tiempo de tres etapas y un ajuste del pH.

Para realizar el primer tratamiento térmico, la solución se calentó hasta una temperatura de 80 a 95 °C y se agitó durante 1 h. Después de enfriar la solución a una temperatura de 20 a 30 °C, el valor del pH se ajustó a un valor de 3,5 a 4,5.

Para el segundo tratamiento térmico, la solución se calentó de nuevo hasta una temperatura de 80 a 95 °C, se agitó durante 1 h y se enfrió una vez más de nuevo a una temperatura de 20 a 30 °C. Después, el valor del pH se ajustó a un valor de 4,6 a 5,5.

Para el tercer tratamiento térmico, la solución se calentó una vez más de nuevo hasta una temperatura de 80 a 95 °C, se agitó durante 1 h, se enfrió a una temperatura de 20 a 30 °C. Después, el valor del pH se ajustó a un valor de 5,6 a 6,5.

En estos tres tratamientos térmicos posteriores, tuvo lugar una estabilización del complejo debido a la cual los iones de hierro estaban muy bien estabilizados en el hidroxietilalmidón modificado, pero podrían liberarse posteriormente dentro de un organismo después de una captación correspondiente.

El complejo de hierro HES formado en este ejemplo tenía un contenido de hierro del 5,04 % (p/v), es decir, la concentración de hierro era de 5,04 g de hierro por 100 ml de solución.

#### Ejemplo 3: Acabado

Para el acabado, la solución obtenida realizando el ejemplo 2 se filtró previamente a través de una capa de prefiltro. Después de esta prefiltración, tuvo lugar una ultrafiltración. Durante esta ultrafiltración, se eliminaron pequeñas moléculas como sales disueltas y fragmentos con un bajo peso molecular. Esta ultrafiltración se realizó como diafiltración, utilizando agua para inyección como disolvente. Se detuvo una vez que el filtrado alcanzó una conductividad de menos de 3 mS/cm. Después, la solución se concentró hasta alcanzar el contenido de hierro deseado.

Finalmente, el contenido de hierro se ajustó una vez más de nuevo a la concentración de hierro deseada usando agua para inyección como medio de dilución. Además, el valor del pH de la solución se ajustó al valor objetivo mediante hidróxido de sodio o ácido clorhídrico. Para caracterizar la solución formada, se controlaron la viscosidad, la densidad y el contenido de hidroxietilalmidón.

Después de estos ajustes, la solución se filtró a través de una cascada de filtro de una capa de prefiltro y un cartucho de filtro secundario. Después, la solución se retiró en tanques etiquetados para su uso posterior.

La solución final tenía un color marrón oscuro, una viscosidad de 7,2 mm<sup>2</sup>/s, una densidad de 1,090 g/ml, un valor del pH de 5,1, una concentración de cianuro de 0,080 ppm, un contenido de hierro libre de 0,056 g/100 ml, un contenido de cloruro de 0,280 g/ml, un contenido de hierro de 5,04 g/100 ml, un contenido de HES de 8,93 g/100 ml y un contenido de materia seca de 12,26 g/100 ml.

#### Ejemplo 4: Contenido de hierro libre

El hierro libre tiene el potencial de generar especies reactivas de oxígeno. Por lo tanto, el contenido de hierro libre de un complejo de hierro a administrarse a un individuo debe ser lo más bajo posible. Por lo tanto, el contenido de

hierro libre es una medida de la calidad del complejo de hierro en términos de su idoneidad para utilizarse como principio activo para un producto médico o medicamento.

5 Se determinó el contenido de hierro libre del complejo de hierro HES producido en los ejemplos 1 a 3 y se comparó con el contenido de hierro libre de otros complejos de hierro presentes en el mercado. Estos otros complejos de hierro son un hierro dextrano (comercializado con el nombre CosmoFer) que tiene una concentración de hierro de 50 g/l, un hierro sacarosa (comercializada con el nombre Venofer) que tiene una concentración de hierro de 20 g/l y un gluconato de hierro (comercializado con el nombre Ferrlecit) que tiene una concentración de hierro de 12,5 g/l.

10 Para determinar el contenido de hierro libre, se realizó un análisis espectrométrico utilizando un espectrofotómetro UV/VIS. La extinción de las soluciones de calibración y las soluciones de muestra respectivas se midió a una longitud de onda de 533 nm utilizando una celda de medición de 10 mm.

15 Las soluciones de calibración fueron, en cada caso, soluciones de 5,0 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (20 % (p/v)), 10,0 ml de solución de batofenantrolina (33,2 % (p/v)), 5,0 ml de solución de acetato de sodio (10 % (p/v)) y 10 ml de solución de hierro (x ml 0,001 % (p/v)) nitrato de hierro (III) en 0,005 mol de ácido nítrico más (10,0 - x) ml de agua, en las que x fue 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0 y 7,0). Antes de su uso, las soluciones se extrajeron tres veces con 10 ml de cloroformo cada vez. Los extractos de cloroformo (capas inferiores) se llenaron con hasta 100 ml de isopropanol.

20 Las soluciones de muestra fueron, en cada caso, soluciones de 5,0 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (20 % (p/v)), 10,0 ml de batofenantrolina (33,2 % (p/v)), 5,0 ml de solución de acetato de sodio (10 % (p/v)), 2 ml de muestra y 498 ml de agua. Antes de su uso, las soluciones se extrajeron tres veces con 10 ml de cloroformo cada vez. Los extractos de cloroformo (capas inferiores) se llenaron con hasta 100 ml de isopropanol.

25 La extinción de las soluciones de calibración y la solución de prueba se determinaron utilizando isopropanol como blanco.

30 Las extinciones medidas de las soluciones de calibración se usaron para calcular una línea de regresión y la ecuación de regresión correspondiente. La concentración de hierro en las soluciones de muestra se determinó mediante la ecuación de regresión.

35 Los resultados se representan en la Figura 1. El contenido de hierro libre fue del 1,19 % (p/v) en el caso del hierro dextrano, 2,12 % (p/v) en el caso del hierro sacarosa, 1,41 % (p/v) en el caso del gluconato de hierro y solo el 0,24 % (p/v) en el caso del hierro HES.

40 Por lo tanto, el hierro HES producido por un método de acuerdo con la invención muestra una estabilidad del complejo significativamente mejor y un contenido de hierro libre más bajo que otros compuestos de hierro que están actualmente en el mercado. Por lo tanto, el hidroxietilalmidón modificado como se ha descrito en el presente anteriormente es un producto básico valioso para un complejo de hierro HES correspondiente. Este complejo de hierro HES, a su vez, es un compuesto de interés particular para aplicaciones médicas en seres humanos o animales.

45 El método de fabricación reivindicado no puede compararse con los métodos de fabricación divulgados en la técnica anterior en relación con diferentes materiales de partida. Para dar un ejemplo, los métodos de fabricación con dextranos o dextrinas como material de partida aprovechan etapas del método completamente diferentes, ya que la química de los dextranos y dextrinas, por un lado, y el hidroxietilalmidón, por otro lado, es bastante diferente, aunque las estructuras químicas de las sustancias parecen ser similares. Los detalles técnicos obtenidos de los métodos de fabricación que utilizan diferentes materiales de partida no se pueden transferir al presente método reivindicado.

50

## REIVINDICACIONES

1. Método para fabricar un hidroxietilalmidón que lleva un residuo de ácido heptónico en al menos uno de sus extremos, **caracterizado por** las siguientes etapas:
- 5
- a) disolver hidroxietilalmidón en agua,
  - b) ajustar el valor del pH a un valor de 8,0 a 10,0,
  - c) añadir un compuesto de cianuro a la solución de hidroxietilalmidón, calentar la solución a una temperatura de 80 a 99 °C y mantenerla a esta temperatura durante un primer periodo de tiempo, y
  - 10 d) ajustar el valor del pH a un valor de 2,0 a 4,0, llevar la solución a una temperatura de 50 a 90 °C y mantenerla a esta temperatura durante un segundo periodo de tiempo.
2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** el hidroxietilalmidón tiene un peso molecular promedio en peso inferior a 200 000 g/mol según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC).
- 15
3. Método de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizado por que** el almidón tiene un grado promedio de sustitución molar de 0,4 a 0,6.
- 20
4. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** está hecho de almidón de patata.
5. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la etapa d) va seguida de las siguientes etapas:
- 25
- e) enfriar la solución a una temperatura de 10 a 40 °C,
  - f) añadir un compuesto de hierro a la solución,
  - g) después de un tercer periodo de tiempo, ajustar el valor del pH de la solución a un valor de 2,0 a 4,0, y
  - 30 h) estabilizar el complejo de hidroxietilalmidón formado calentándolo al menos una vez a una temperatura de 80 a 99 °C, enfriándolo a una temperatura de 10 a 40 °C y ajustando el valor del pH a un valor de 3,0 a 7,0.
6. Método de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado por que** la etapa h) se realiza de tal manera que el valor del pH obtenido después de una etapa de calentamiento que sigue a una etapa de calentamiento previo es mayor que el valor del pH en la etapa de calentamiento previo.
- 35
7. Método de acuerdo con las reivindicaciones 5 o 6, **caracterizado por que** la etapa h) se realiza mediante las siguientes subetapas:
- 40 h1) calentar la solución a una temperatura de 80 a 99 °C, manteniéndola a esta temperatura durante un cuarto periodo de tiempo, enfriándola a una temperatura de 10 a 40 °C, ajustando el valor del pH a un valor de 3,0 a 5,0,
  - h2) calentar la solución a una temperatura de 80 a 99 °C, manteniéndola a esta temperatura durante un quinto periodo de tiempo, enfriándola a una temperatura de 10 a 40 °C, ajustando el valor del pH a un valor de 4,0 a 6,0, y
  - 45 h3) calentar la solución a una temperatura de 80 a 99 °C, manteniéndola a esta temperatura durante un sexto periodo de tiempo, enfriándola a una temperatura de 10 a 40 °C, ajustando el valor del pH a un valor de 5,0 a 7,0.
8. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, **caracterizado por que** el compuesto de hierro es una sal de hierro.
- 50
9. Método de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado por que** la sal de hierro es una sal de hierro (III).
10. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, **caracterizado por que** el complejo de hidroxietilalmidón y hierro tiene un radio de giro en el intervalo de 30 a 70 nm determinado por fraccionamiento de flujo de campo.
- 55

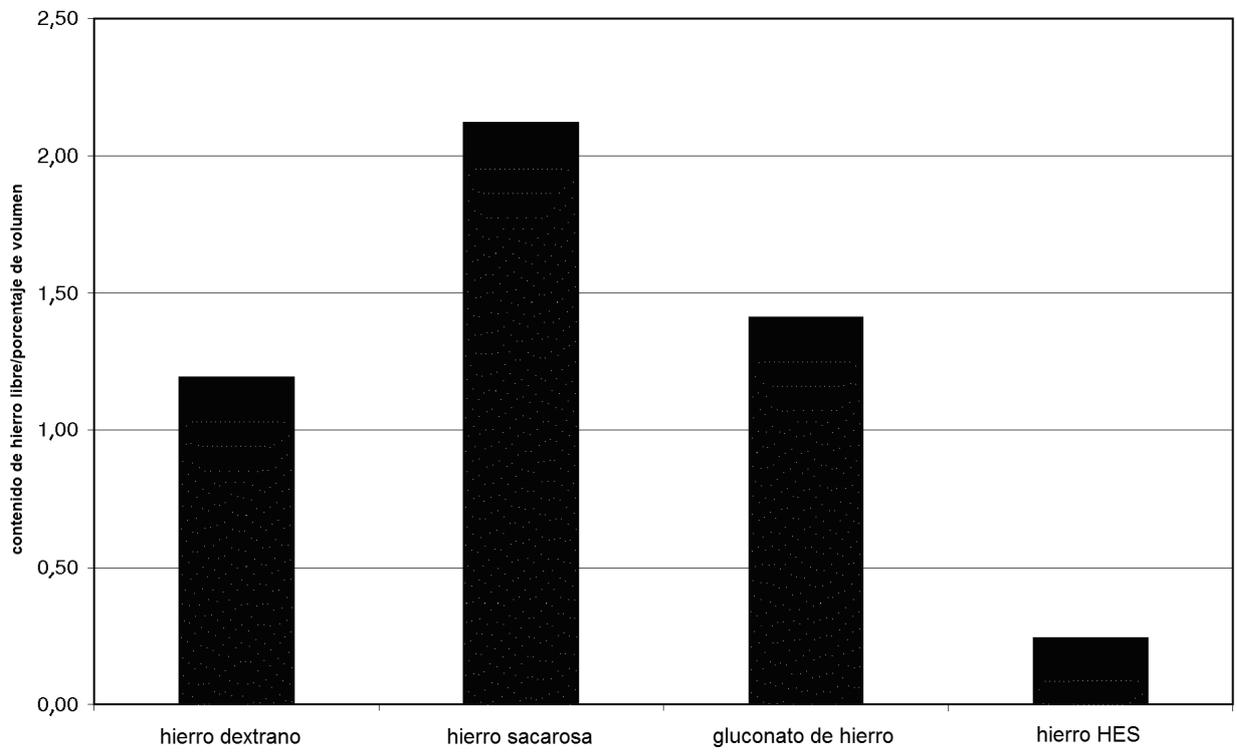


FIG. 1