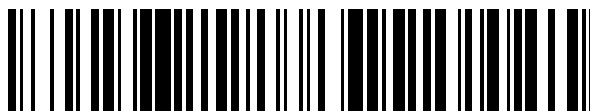


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 740 630**

51 Int. Cl.:

A61K 31/295 (2006.01)

A61K 31/7004 (2006.01)

A61P 3/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.07.2015 PCT/EP2015/067216**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.03.2016 WO16045826**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.07.2015 E 15739647 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2019 EP 3197444**

54 Título: **Complejos de hidróxido de hierro (III) con jarabes de glucosa activados y procedimiento para prepararlos**

30 Prioridad:

22.09.2014 EP 14386023

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

06.02.2020

73 Titular/es:

**TSETI, IOULIA (100.0%)
13 Pavlou Mela Street
145 61 Kifissia Attikis, GR**

72 Inventor/es:

TSETI, IOULIA

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 740 630 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

Complejos de hidróxido de hierro (III) con jarabes de glucosa activados y procedimiento para prepararlos

La presente invención se refiere en general a complejos de carbohidratos y hierro (III) y a procedimientos para la fabricación de los mismos. El producto que se puede obtener de acuerdo con el método de la presente invención se puede usar de manera segura para la población o los animales en general en la terapia de deficiencia de hierro.

Antecedentes de la invención

Los complejos de carbohidratos e hidróxido de hierro (III) se pueden producir haciendo reaccionar carbohidratos adecuados con una disolución de sales férricas y un exceso de álcali.

Se sabe que al calentar una disolución acuosa de dextrina o dextrano junto con una sal férrica y un álcali solubles en agua a un pH de aproximadamente 2,3, se obtiene un complejo de hierro perceptible que puede ser despolimerizado por hidrólisis hasta el tamaño molecular deseado, y, a continuación, se puede convertir por tratamiento con exceso de álcali en un complejo de hierro y dextrano o, si es necesario, se puede someter sin despolimerización al tratamiento con álcali directamente (véanse los documentos US 2.885.393 o US 3.076.798).

El documento GB 1076219 se refiere a preparaciones de hierro parenteral para la profilaxis o el tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro. Se describe un método para la fabricación de un complejo que contiene hierro y dextrina o dextrano de bajo peso molecular con sorbitol. Se forma un complejo de hierro-carbohidrato no iónico con hidróxido férrico y un agente formador de complejos que consiste en una mezcla de sorbitol (aproximadamente 0,4 moles), ácido glucónico (aproximadamente 0,3 moles) y una poliglucosa (aproximadamente 0,3 moles), comprendiendo la poliglucosa dextrina, dextrano, dextrina hidrogenada o dextrano hidrogenado que tienen una viscosidad intrínseca de 0,01-0,025 a 25°C, y pesos moleculares promedio de 500-1200. Las poliglucosas hidrogenadas son sustancialmente no reductoras al reactivo de Somogyi. El complejo se fabrica tratando 1 mol de un compuesto de hierro trivalente en disolución acuosa con aproximadamente 2 moles de agente formador de complejos que tiene la relación molar de sorbitol: ácido glucónico: poliglucosa de aproximadamente 1,15: 0,40: 0,5, y calentando la mezcla en un pH alcalino.

El documento US 2.885.393 describe un complejo de hierro y dextrano formado por la interacción de una sal férrica soluble en agua y dextrano, mediante lo cual se forma dicho complejo. Después de la formación del complejo, se puede aislar mediante la adición de un disolvente orgánico soluble en agua tal como un alcohol inferior, cetona, glicol, mezclas de los mismos, o similares. Preferiblemente se emplean disolventes volátiles tales como los alcanos inferiores, ya que esto facilita la eliminación posterior. El complejo precipitado se puede purificar mediante disoluciones sucesivas en agua, seguido de precipitaciones con alcohol o similares. Además, la disolución del complejo se puede calentar para degradar parcialmente el dextrano y el álcali se añade posteriormente para hacer que la disolución sea muy alcalina. Cualquier hierro sin reaccionar será entonces absorbido por el dextrano. La disolución puede entonces ser neutralizada y el complejo de dextrano aislado. El complejo aislado se disuelve luego en agua para formar una disolución madre que puede llevarse a cualquier concentración deseada. Como sales férricas pueden emplearse sales solubles en agua tales como cloruro, nitrato, sulfato, acetato férrico o similares. El anión específico no es fundamental ya que no entra en la reacción. Los álcalis adecuados incluyen hidróxidos de metales alcalinos, hidróxido de amonio, hidróxido de tetrametilamonio, y similares, así como los carbonatos y bicarbonatos de estos álcalis, aunque se pueden emplear de manera similar cualesquiera de los álcalis solubles en agua.

El documento US 4.927.756 describe un dextrano de hierro soluble en agua que tiene un alto contenido de hierro, que se prepara haciendo reaccionar el dextrano, que tiene una masa molar promedio de 2000 a 4000, con hidróxido de hierro (III) recién precipitado y, si se desea, purificándolo adicionalmente. Se describen específicamente dextranos de hierro que tienen un contenido de hierro de 27 a 33 por ciento en peso y una masa molar promedio del componente dextrano de 2000 a 4000.

El documento US 3.076.798 describe un procedimiento para producir una preparación de hierro para inyecciones que es adecuada para medicación parenteral para el tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro en seres humanos y animales. El complejo de hidróxido férrico-polimaltosa se forma calentando la mezcla de una dextrina soluble en agua y una disolución acuosa que contiene iones férricos y un exceso de un hidróxido alcalino o un carbonato alcalino a una temperatura de 60°C a 100°C.

El documento US 3.908.004 describe un método para fabricar una composición que contiene hierro para ser inyectada para el tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro. Llevando a cabo el método, se polimeriza un monosacárido u oligosacárido y el producto polimerizado se calienta con un álcali acuoso y la mezcla se separa en dos o más fracciones de diferente peso molecular. Luego se selecciona una fracción que contiene el polisacárido deseado y éstos se hacen reaccionar con un compuesto inorgánico de hierro soluble en agua.

El documento US2013/0203698 A1/WO2004037865 (A1) describe complejos de carbohidratos de hierro solubles en agua, preparados oxidando maltodextrinas mediante el uso de, p. ej., hipoclorito.

Los documentos EP1554315 B1 y EP2287204, de la misma familia de patentes que US2013/0203698 A1 también

5 describen un complejo de hierro-carbohidrato soluble en agua obtenido de una disolución acuosa de sal de hierro (III) y una disolución acuosa del producto obtenida oxidando una o varias maltodextrinas con una disolución acuosa de hipoclorito a un valor de pH alcalino. El equivalente de dextrosa de la maltodextrina varía de 5 a 20 si se usa una sola maltodextrina, mientras que el equivalente de dextrosa de la mezcla de varias maltodextrinas varía de 5 a 20 y el equivalente de dextrosa de cada maltodextrina individual contenida en la mezcla varía de 2 a 40 si se utiliza una mezcla de varias maltodextrinas.

10 El documento WO 03/087164 describe un compuesto de hierro-dextrina para el tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro que comprende dextrina hidrogenada que tiene un peso molecular promedio en peso igual o menor que 3.000 Dalton y un peso molecular promedio en número igual o mayor que 400 Daltons, en asociación estable con oxihidróxido férrico. Además, enseña que, como el peso molecular de la dextrina debe ser estrecho, es una característica importante que la fracción del 10% de las dextrinas que tienen el peso molecular más alto tenga un peso molecular promedio de menos que 4500 Daltons, y que el 90% de las dextrinas son las que tienen pesos moleculares de menos que 3000 Daltons. Además, es importante que la fracción del 10% que tiene el menor peso molecular tenga un peso molecular promedio en peso de 340 Daltons o más.

15 El documento US 4.180.567 también describe la preparación de compuestos polihídricos mediante el uso de borohidruro de sodio.

20 El documento EP 1858930 describe un procedimiento para la preparación de complejos de hierro trivalente con azúcares tipo mono, di y polisacáridos, que consiste en la activación del azúcar por oxidación con bromo naciente generado *in situ* por reacción entre un bromuro alcalino o alcalinotérreo y un hipoclorito alcalino, la complejación del azúcar activado en disolución con una sal férrica disuelta en una disolución acuosa, la purificación de la disolución resultante mediante ultrafiltración y finalmente la estabilización del complejo de azúcar-hierro trivalente calentando a una temperatura entre 60°C y 100°C durante un período entre 1 y 4 horas a un pH entre 9,0 y 11,0.

La oxidación de los jarabes de glucosa con bromo u oxidación electrolítica se describe en Gallali et al. (starch/stärke 37 (1985) Nr. 2, páginas 58-61).

25 El documento GB 1.322.102 describe complejos de hierro preparados usando polisacáridos que se han modificado por oxidación o degradación alcalina.

Los documentos US 5.866.533 y EP0755944 A2 se refieren a la oxidación de maltodextrinas que tienen un equivalente de dextrosa por debajo de 20.

30 Aunque se conocen varios complejos de dextrina y hierro (III), todavía existe la necesidad de mejores complejos y métodos para prepararlos. En particular, existe la necesidad de complejos que sean estables y, al mismo tiempo, proporcionen un alto contenido de hierro.

Sumario de la invención

35 La presente solicitud describe complejos estables de hidróxido de hierro (III) con jarabes de glucosa activados y procedimientos para prepararlos. El procedimiento para la preparación de complejos de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa activado, dichos complejos y composiciones farmacéuticas que comprenden dichos complejos de la invención se definen en las reivindicaciones.

Los complejos de la presente invención son estables y muestran una estabilidad sorprendentemente alta en un amplio intervalo de valores de pH de 0 a 14 sin ninguna precipitación de una disolución acuosa al 5% del producto. Por lo tanto, los productos pueden utilizarse para la terapia de la deficiencia de hierro en seres humanos o animales.

40 Descripción de las Figuras

La Figura 1 (FT-IR de azúcar DE21) muestra el espectro FT-IR del jarabe de glucosa con DE21.

Descripción del espectro:

Banda (cm ⁻¹)	Morfología	Atribución
3400-3200	Débil, alargada	O-H
2930	Débil, alargada	C-H
1640-1690	Débil	C=O
1010	Intensa, alargada	C-O

45 La Figura 2 (FT-IR azúcar oxidado DE21) muestra el espectro FT-IR del jarabe de glucosa oxidado (método de la invención)

Descripción del espectro:

Banda (cm ⁻¹)	Morfología	Atribución
3400-3200	Débil, alargada	O-H
2960	Débil, alargada	C-H
1640-1690	Media, alargada	C=O
1010	Intensa, alargada	C-O

Las diferencias entre estos espectros de IR (de DE21 y DE21 oxidado) se pueden observar fácilmente a partir de la intensidad de la banda de carbonilo en 1640-1690 cm⁻¹. Por lo tanto, la espectroscopia IR es una herramienta útil para distinguir los jarabes de glucosa oxidados de los no oxidados.

- 5 La Figura 3 (FT-IR del azúcar oxidado del Ejemplo 1 del documento US2013/0203698) muestra el espectro FT-IR del azúcar oxidado según el método del Ejemplo 1 descrito en el documento US2013/0203698.

Descripción del espectro:

Banda (cm ⁻¹)	Morfología	Atribución
3400-3200	Débil, alargada	O-H
2960	Débil, alargada	C-H
1640-1690	Media, alargada	C=O
1010	Intensa, alargada	C-O

- 10 La Figura 4 (espectro de ¹³C RMN del azúcar (DE21) antes de la oxidación) muestra el espectro de ¹³C RMN del azúcar (DE21) antes de la oxidación. Como se espera, no se observa ningún desplazamiento químico en el área de campo bajo de 160 a 200 ppm (grupos carbonilo) en el espectro de ¹³C RMN del azúcar de partida. Esto se presenta por razones de comparación con la Figura 5 y la Figura 6.

- 15 La Figura 5 (espectro de ¹³C RMN de DE21 oxidado (presente invención) muestra el espectro de ¹³C RMN del azúcar DE 21 oxidado (presente invención). La espectroscopia de ¹³C RMN confirma la oxidación del azúcar (DE21) utilizando como reactivo oxidante el H₂O₂. Hay cuatro desplazamientos químicos distinguidos asignados a los grupos carbonilo a 178,8, 177,2, 176,3 y 169,7 ppm en el azúcar oxidado de acuerdo con la oxidación de la presente invención.

- 20 La Figura 6 (espectro ¹³C RMN de azúcar oxidado según el Ejemplo 1 del documento US2013/0203698) muestra el espectro ¹³C RMN del azúcar oxidado según el Ejemplo 1 de la patente US2013/0203698. Este espectro presenta dos desplazamientos químicos distinguidos asignados a los grupos carbonilo a 178,4 y 171,2 ppm. Esto podría representar una evidencia de que la oxidación de acuerdo con la presente invención usando H₂O₂ es diferente y proporciona más azúcar oxidado como producto en la etapa de activación, en contraste con el Ejemplo 1 de la patente US2013/0203698 (oxidante NaClO).

Conclusiones de la espectroscopia de resonancia magnética de ¹³C:

- 25 Los espectros de ¹³C RMN (Figura 5 y Figura 6) confirman que los dos azúcares oxidados (presente invención frente al Ejemplo 1 de la patente US2013/0203698) son estructuralmente diferentes en la banda de carbonilo (168 - 180 ppm). El azúcar oxidado de la presente invención puede presentar 4 grupos carbonilo distinguidos, lo que demuestra que el grado de oxidación de este azúcar es mayor que 2 grupos carbonilo del azúcar oxidado de la técnica anterior.

- 30 Los espectros de ¹³C RMN proporcionan evidencia espectroscópica de que todos los azúcares examinados están oxidados y también que hay una diferencia distintiva entre el procedimiento de oxidación y los productos de oxidación de la presente invención en contraste con los procedimientos y productos de oxidación de la técnica anterior.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de complejos de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa activado que comprende, preferiblemente que consiste en, las etapas de:

- 35 (i) Proporcionar una disolución acuosa de jarabe de glucosa, que tiene un equivalente de dextrosa (DE) de al menos 21, según se determina por análisis gravimétrico a una temperatura en el intervalo de 25°C a 80°C y a un pH en el intervalo de 6 a 13;
- 40 (ii) Añadir uno o más agentes blanqueantes oxidantes, y opcionalmente una cantidad catalítica de un catalizador de oxidación, a la disolución de (i), mientras se mantiene el pH y la temperatura dentro del intervalo definido en la etapa (i), permitiendo que la disolución se enfríe a una temperatura en el intervalo de 10°C a 45°C, manteniendo la disolución a esta temperatura durante 5 minutos a 24 horas, obteniendo de este modo el jarabe de glucosa activado;
- (iii) Convertir dicho jarabe de glucosa activado en un complejo con hidróxido de hierro (III); y

- (iv) Obtener un complejo de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa activado, en donde el o los agentes blanqueantes se usan en una cantidad total de 0,0005-0,01 moles/g (jarabe de glucosa) multiplicado por el factor de corrección: (equivalente de dextrosa del jarabe de glucosa)/21, en donde el complejo tiene un contenido de hierro en el intervalo de 27 a 35% en peso, basado en el peso del complejo; y en donde el complejo obtenido de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa activado tiene más que dos grupos -COOH por molécula de glucosa, lo que indica que el jarabe de glucosa está activado y en donde el jarabe de glucosa de la etapa (i) no tiene ningún grupo -COOH por/en la molécula de glucosa.

El agua que se usa en la etapa (i) es preferiblemente agua purificada, que cumple con los requisitos de la versión actual de la Farmacopea de la UE en la fecha de presentación de la presente solicitud. Al disolver los jarabes de glucosa, preferiblemente con agitación, se obtiene una disolución clara. El pH en la etapa (i) está en el intervalo de 6 a 13, tal como 8,5 a 11,5, preferiblemente está en el intervalo de 10,5 a 11,0. El ajuste del pH en la etapa (i) se puede realizar mediante la adición de bases inorgánicas tales como hidróxido de sodio en disolución acuosa (por ej., 40% p/p). La temperatura de la disolución en (i) se establece en un valor en el intervalo de 25°C a 80°C, preferiblemente entre 45°C y 60°C, más preferiblemente entre 48°C y 55°C. Se puede obtener un mayor contenido de hierro cuando se realiza la etapa (ii) a un pH más alto (véanse el Ejemplo 1 y el 2). Por lo tanto, se prefiere un intervalo de pH de 10,5 a 13 ó de 10,5 a 11,5.

El catalizador de oxidación opcional, tal como NaBr, o la mezcla de catalizadores de oxidación se usa en cantidades catalíticas tales como 50 nanomoles (nM) por g de jarabe de glucosa.

En la etapa (ii), preferiblemente el agente blanqueante oxidante se añade lentamente a la disolución de la etapa (i), por ej. poco a poco, durante un período de tiempo, por ejemplo de 1 a 4 horas. A modo de ejemplo, el Ejemplo 1, como se describe en el presente documento, añade 31 g de una disolución acuosa de peróxido de hidrógeno al 35% (p/p) a aproximadamente 0,25 mL/min.

En la etapa (ii), el jarabe de glucosa está "activado", lo que significa que está completamente oxidado. Esto significa que la presente invención oxida en mayor medida que los procedimientos de la técnica anterior. Durante la adición del agente blanqueante oxidante, la temperatura se mantiene en el intervalo de 25°C a 80°C, preferiblemente entre 45°C y 60°C, más preferiblemente entre 48°C y 55°C.

Después de que se haya añadido la cantidad completa de agente blanqueante oxidante, la mezcla de reacción se deja reaccionar durante algún tiempo en las mismas condiciones, p. ej., durante 5 a 15 minutos, y luego se deja enfriar a una temperatura de 10-45°C y se mantiene a esta temperatura durante un período de tiempo tal como 5 minutos a 24 horas, p. ej. 5 horas, mientras se mantiene el pH en el intervalo de 6 a 13, tal como 8,5 a 11,5, preferiblemente en el intervalo de 10,5 a 11,5, tal como 10,65 a 10,85.

La etapa (iii) de obtener un jarabe de glucosa activado puede incluir mantener la disolución a una temperatura en el intervalo de 18°C a 25°C durante un período de tiempo de 1 a 10 horas después de enfriar la disolución después de completar la adición del agente blanqueante oxidante y antes del uso de dicho jarabe de glucosa activado para preparar el complejo deseado, tal como realizando las etapas (iii)(a) - (iii)(c) a continuación.

El equivalente de dextrosa (DE) del jarabe de glucosa activado está preferiblemente en el intervalo de 0,1 a 1,0, preferiblemente es de aproximadamente 0,3 y/o el complejo obtenido de hidróxido de hierro (III) y el jarabe de glucosa activado tiene más que dos, preferiblemente más que tres grupos -COOH por molécula de glucosa, lo que indica que el jarabe de glucosa está activado.

El peso molecular del complejo está preferiblemente en el intervalo de 100 a 150 kDa, medido por cromatografía de líquidos de alta resolución - cromatografía de permeación por gel (HPLC - GPC).

La etapa de convertir dicho jarabe de glucosa activado en un complejo con hidróxido de hierro (III) comprende preferiblemente las etapas de:

(iii)(a) Añadir una disolución de FeCl₃ a la disolución de (ii) a una temperatura dentro del intervalo de 10 a 30°C; preferiblemente, la cantidad de FeCl₃ está en el intervalo de 30% en peso a 120% en peso de la cantidad de jarabe de glucosa.

(iii)(b) Añadir una base inorgánica a la mezcla de reacción de la etapa (iii)(a) hasta que el pH esté dentro de un intervalo de 1,5 a 2,5; y

(iii)(c) Calentar la mezcla de reacción de la etapa (iii)(b) a una temperatura dentro del intervalo de 40 a 60°C.

A la disolución obtenida en la etapa (ii), se añade una disolución acuosa de FeCl₃ en la etapa (iii)(a). El pH de la disolución se ajusta luego en la etapa (iii)(b) mediante el uso de bases inorgánicas tales como Na₂CO₃. En la etapa (iii)(c), la mezcla de reacción se calienta durante algún tiempo, tal como de 30 minutos a 1 hora, luego, preferiblemente, el pH se ajusta lentamente a 9-12, se prefiere más 10-11, utilizando bases inorgánicas, tales como una disolución acuosa de NaOH. Después de algún tiempo de reacción a alta temperatura, preferiblemente en el intervalo de 50°C a 60°C, por ejemplo durante 1-3 horas, la mezcla de reacción se enfría a una temperatura en el intervalo de 18 a 25°C

y luego se ajusta el pH para que esté en un intervalo de 4 a 7, preferiblemente 5-6. El complejo obtenido se puede a continuación purificar de las sales mediante: a) ultrafiltración con un peso molecular de corte de 30 kDa, b) precipitación con etanol (2:1 a 1:5 / disolución:etanol). A continuación, el producto final puede ser aislado, por ej., secado, por ejemplo utilizando un atomizador.

5 El agente de blanqueo oxidante es el peróxido de hidrógeno.

En una realización, se utilizan 0,001-0,003 moles/g de jarabe de glucosa. En una realización, se utilizan aproximadamente 0,0019 moles/g de jarabe de glucosa, preferiblemente con peróxido de hidrógeno como agente de blanqueo.

El catalizador de oxidación incluye preferiblemente bromo e iones de yodo.

10 La presente invención también se refiere a un complejo de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa obtenible u obtenido por el procedimiento de la presente invención.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un complejo de la invención. Dicho complejo o composición farmacéutica puede usarse como medicamento. Específicamente, dicho complejo o composición farmacéutica se puede usar en un método para tratar la deficiencia de hierro en seres humanos y animales. El tratamiento puede comprender administrar parenteralmente dicho complejo o composición farmacéutica. Las dextrinas son carbohidratos de bajo peso molecular, que pueden producirse por hidrólisis del almidón o glucógeno. Las dextrinas son mezclas de polímeros de unidades de D-glucosa unidas por enlaces glicosídicos α -(1-4) o α -(1-6).

Las dextrinas se pueden producir a partir de almidón utilizando enzimas como las amilasas, como durante la digestión en el cuerpo humano y durante el malteado y el macerado, o aplicando calor seco en condiciones ácidas (pirólisis o tostado). Durante el tostado en condiciones ácidas, los hidrolizados del almidón y las partes del almidón de cadena corta se vuelven a ramificar parcialmente con enlaces α -(1,6) a la molécula de almidón degradado.

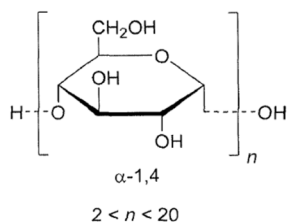
Las dextrinas son polvos blancos, amarillos o marrones que son parcial o totalmente solubles en agua, que producen disoluciones ópticamente activas de baja viscosidad. La mayoría se puede detectar con disolución de yodo, dando una coloración roja; se distingue la eritrodextrina (dextrina que se colorea de rojo) de la acrodextrina (que no da color).

25 La maltodextrina consiste en unidades de D-glucosa conectadas en cadenas de longitud variable. Las unidades de glucosa están vinculadas principalmente con enlaces glicosídicos α -(1 \rightarrow 4). La maltodextrina está compuesta típicamente por una mezcla de cadenas que varían de tres a diecisiete unidades de glucosa.

Las maltodextrinas se clasifican por el DE (equivalente de dextrosa) y tienen un DE entre 3 y 20. Cuanto mayor sea el valor de DE, más cortas serán las cadenas de glucosa, mayor será la dulzura, mayor será la solubilidad y menor la resistencia térmica.

30 Por encima de un DE de 20, el código CN de la Unión Europea lo denomina jarabe de glucosa, en el DE 10 o inferior la nomenclatura del código CN de la aduana clasifica las maltodextrinas como dextrinas.

La maltodextrina (véase la fórmula a continuación) y el jarabe de glucosa son polisacáridos que se usan como aditivos alimentarios. Se producen a partir de almidón por hidrólisis parcial y, usualmente, se encuentran como polvos blancos higroscópicos secados por atomización.



El equivalente de dextrosa (DE) es una medida de la cantidad de azúcares reductores presentes en un producto de azúcar, en relación con la dextrosa (a.k.a glucosa), expresado como un porcentaje en base seca. Por ejemplo, una maltodextrina con un DE de 10 tendría el 10% del poder reductor de la dextrosa (que tiene un DE de 100). La maltosa, un disacárido constituido por dos moléculas de glucosa (dextrosa) tiene un DE de 52, corregido por la pérdida de agua en el peso molecular cuando se combinan las dos moléculas (180/342). Para disoluciones constituidas por almidón, es una estimación del porcentaje de azúcares reductores presentes en el producto de almidón total.

El equivalente de dextrosa (DE) se puede medir gravimétricamente como se describe en el documento US 2013/0203698 A1: Las dextrinas se hacen reaccionar en una disolución acuosa en ebullición con una disolución de Fehling. La reacción se lleva a cabo cuantitativamente, es decir, hasta que la disolución de Fehling ya no se decolora. El óxido de cobre (I) precipitado se seca a 105°C hasta alcanzar un peso constante y se mide gravimétricamente. El contenido de glucosa (equivalente de dextrosa) se calcula a partir de los resultados obtenidos como % peso/peso de

la sustancia seca de dextrina.

Es posible, por ejemplo, utilizar las siguientes disoluciones: 25 mL de disolución de Fehling I, mezclada con 25 mL de disolución de Fehling II; 10 mL de disolución acuosa de maltodextrina (10% m/vol) (disolución de Fehling I: 34,6 g de sulfato de cobre (II) disuelto en 500 mL de agua; disolución de Fehling II: 173 g de tartrato de sodio y potasio y 50 g de hidróxido de sodio disueltos en 500 mL de agua) (además del método mencionado anteriormente para determinar los valores de DE, véase también "THE UNIFICATION OF REDUCING SUGAR METHOD", L. S. Munson and P.H. Walker, J. Am. Chem. Soc. 28 (6), 663-686 (1906)).

En todos los polímeros de glucosa, desde el almidón nativo hasta el jarabe de glucosa, la cadena molecular comienza con un azúcar reductor que contiene un aldehído libre. A medida que el almidón se hidroliza, las moléculas se vuelven más cortas y hay más azúcares reductores presentes. Por lo tanto, el valor de DE describe el grado de conversión del almidón en dextrosa, en donde se utilizan las siguientes definiciones en el contexto de la presente invención: el almidón está cerca de 0, la glucosa/dextrosa es 100 (porcentaje), las dextrinas varían entre 1 y 13, las maltodextrinas varían entre 3 y 20, los jarabes de glucosa contienen un mínimo de 20% de azúcares reductores, es decir, un DE de 20. Los jarabes de glucosa utilizados en la presente invención tienen un DE de al menos 21 y un DE máximo de 60.

El DE da una indicación del grado promedio de polimerización (DP) de los azúcares de almidón no tratados, es decir, no oxidados. La regla general es $DE \times DP = 120$.

La presente invención se refiere a productos que comprenden hidróxido de hierro (III) y jarabes de glucosa activados. La activación de los jarabes de glucosa se realiza usando agentes blanqueantes oxidantes tales como peróxido de hidrógeno, persulfato de amonio, permanganato de potasio, etc. El objetivo principal del blanqueo del jarabe de glucosa es mejorar la calidad de los carbohidratos y facilitar la producción y estabilidad del complejo con sales de hierro (III) en una etapa posterior.

Sorprendentemente, en comparación con la técnica anterior que describe métodos para la producción de complejos de hidróxido de hierro (III) con productos de oxidación de dextrinas con hipoclorito, los presentes inventores han encontrado que se puede producir, según la presente solicitud, complejos estables mediante la oxidación prolongada, la cual sorprendentemente da jarabes de alto contenido de glucosa oxidada y complejos de hierro estables en contraste con los resultados de la técnica anterior.

Es bien sabido en la técnica que la química de la oxidación con hipoclorito de los almidones es relativamente compleja y principalmente implica los carbonos 2, 3 y 6 de una unidad de D-glucopiranosilo. En general, se acepta que aproximadamente el 25% del reactivo oxidante se consume en la división carbono-carbono, mientras que aproximadamente el 75% oxida los grupos hidroxilo.

En el contexto de la presente invención, se ha encontrado que la activación a través del tratamiento de blanqueo de los jarabes de glucosa, proporciona complejos estables con hidróxido de hierro (III).

El 5% p/p de las disoluciones acuosas de estos complejos muestra más allá de todas las expectativas, estabilidad en un amplio intervalo de pH y ninguna precipitación a un pH en el intervalo de 0 a 14 a 25°C.

Ejemplos

Ejemplo 1

A un reactor de vidrio se añaden con agitación continua 168,0 g de dextrina con DE21 en 268,8 g de agua purificada. La disolución transparente se calienta a 50°C y se agregan 840 mg de bromuro de sodio. El pH de la disolución se ajusta a $10,8 \pm 0,1$ con la adición de una disolución de hidróxido de sodio al 40% p/p. A esta disolución se añaden lentamente 31 g de una disolución de peróxido de hidrógeno al 35% p/p ($0,25 \pm 0,02$ mL/min) y el pH de la disolución permanece entre 10,65 - 10,90 con la adición de una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p. Durante la adición de peróxido de hidrógeno, la temperatura permanece entre 50 y 55°C. Una vez finalizada la activación del jarabe de glucosa, la disolución se enfría a temperatura ambiente y permanece durante 5 horas a esta temperatura con la regulación del pH en el intervalo de 10,65 a 10,85.

A esta disolución se añaden 296,35 g de una disolución de $FeCl_3$ al 36,8% p/p con agitación. A esta disolución se añade lentamente Na_2CO_3 anhidro en polvo (0,35 a 0,4 g/min) hasta que el pH de la disolución alcanza el valor de $2,4 \pm 0,2$. La disolución se calienta a 50°C y permanece a este pH con agitación continua durante 30 min. Una vez finalizado este período, el pH de la disolución se ajusta lentamente a $10,5 \pm 0,2$ con una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p.

El complejo de hidróxido de hierro (III) con el jarabe de glucosa activado se estabiliza con el calentamiento de la disolución a $67 \pm 2^\circ C$ durante 2 horas y luego se enfría a temperatura ambiente. El pH de la disolución se lleva a $5,5 \pm 0,2$ y, después de eso, el complejo se purifica de las sales a través de un equipo de un sistema de ultrafiltración con una membrana con un peso molecular de corte de 30 KDa. El producto final se aísla en estado seco con el uso de un secador por atomización.

El análisis fisicoquímico del complejo es el siguiente:

Peso molecular promedio: 100 KDa.

Contenido de hierro (III): 31,4%.

Ejemplo 2

5 A un reactor de vidrio se añaden con agitación continua 168,0 g de dextrina con DE21 en 268,8 g de agua purificada. La disolución transparente se calienta a 50°C y se añaden 840 mg de bromuro de sodio. El pH de la disolución se ajusta a $8,5 \pm 0,1$ con la adición de una disolución de hidróxido de sodio al 40% p/p. A esta disolución, se añaden lentamente 31 g de una disolución de peróxido de hidrógeno al 35% p/p ($0,25 \pm 0,02$ mL/min) y el pH de la disolución permanece entre 8,40 - 8,60 con la adición de una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p. Durante la adición de peróxido de hidrógeno, la temperatura permanece entre 50 y 55°C. Una vez finalizada la adición de peróxido de hidrógeno, la disolución se enfría a temperatura ambiente y permanece durante 20 horas a esta temperatura con la regulación del pH en el intervalo de 8,40-8,60.

15 A esta disolución se añaden 296,35 g de una disolución de FeCl_3 al 36,8% p/p con agitación. A esta disolución, a temperatura ambiente, se añade lentamente Na_2CO_3 anhidro en polvo (0,35 a 0,4 g/min) hasta que el pH de la disolución alcance el valor de $2,4 \pm 0,2$. La disolución se calienta a 50°C y permanece a este pH con agitación continua durante 30 min. Después del final de este período, el pH de la disolución se ajusta lentamente a $10,5 \pm 0,2$ con una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p.

20 El complejo de hidróxido de hierro (III) con el jarabe de glucosa activado se estabiliza con el calentamiento de la disolución a $67 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 horas y luego se enfría a temperatura ambiente. El pH de la disolución se lleva a $5,5 \pm 0,2$ y, después de eso, el complejo se purifica de las sales a través de un equipo de un sistema de ultrafiltración con una membrana con un peso molecular de corte de 30 KDa. El producto final se aísla en estado seco con el uso de un secador por atomización.

El análisis fisicoquímico del complejo es el siguiente:

Peso molecular promedio: 150 KDa.

25 Contenido de hierro (III): 29,2%.

Ejemplo 3

30 A un reactor de vidrio se añaden con agitación continua 168,0 g de dextrina con DE21 en 268,8 g de agua purificada. La disolución transparente se calienta a 50°C y se añaden 840 mg de bromuro de sodio. El pH de la disolución se ajusta a $9,5 \pm 0,1$ con la adición de una disolución de hidróxido de sodio al 40% p/p. A esta disolución, se añaden lentamente 31 g de una disolución de peróxido de hidrógeno al 35% p/p ($0,25 \pm 0,02$ mL/min) y el pH de la disolución permanece entre 9,40 - 9,60 con la adición de una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p. Durante la adición de peróxido de hidrógeno, la temperatura permanece entre 50 y 55°C. Una vez finalizada la activación del jarabe de glucosa, la disolución se enfría a temperatura ambiente y permanece durante 5 horas a esta temperatura con la regulación del pH en el intervalo de 9,40-9,60.

35 A esta disolución se añaden 296,35 g de una disolución de FeCl_3 al 36,8% p/p con agitación. A esta disolución, a temperatura ambiente, se añade lentamente Na_2CO_3 anhidro en polvo (0,35 a 0,4 g/min) hasta que el pH de la disolución alcance el valor de $2,4 \pm 0,2$. La disolución se calienta a 50°C y permanece a este pH con agitación continua durante 30 min. Después del final de este período, el pH de la disolución se ajusta lentamente a $10,5 \pm 0,2$ con una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p.

40 El complejo de hidróxido de hierro (III) con el jarabe de glucosa activado se estabiliza con el calentamiento de la disolución a $67 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 horas y luego se enfría a temperatura ambiente. El pH de la disolución se lleva a $5,5 \pm 0,2$ y, después de eso, el complejo se purifica de las sales a través de un equipo de un sistema de ultrafiltración con una membrana con un peso molecular de corte de 30 KDa. El producto final se aísla en estado seco con el uso de un secador por atomización.

45 El análisis fisicoquímico del complejo es el siguiente:

Peso molecular promedio: 145 KDa.

Contenido de hierro (III): 30,6%.

Ejemplo 4

50 A un reactor de vidrio se añaden con agitación continua 168,0 g de dextrina con DE25 en 268,8 g de agua purificada. La disolución transparente se calienta a 50°C y se añaden 840 mg de bromuro de sodio. El pH de la disolución se ajusta a $8,5 \pm 0,1$ con la adición de una disolución de hidróxido de sodio al 40% p/p. A esta disolución se añaden

5 lentamente 31 g de una disolución de peróxido de hidrógeno al 35% p/p ($0,25 \pm 0,02$ mL/min) y el pH de la disolución permanece entre 8,40 - 8,60 con la adición de una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p. Durante la adición de peróxido de hidrógeno, la temperatura permanece entre 50 y 55°C. Una vez finalizada la adición de peróxido de hidrógeno, la disolución se enfría a temperatura ambiente y permanece durante 20 horas a esta temperatura con la regulación del pH en el intervalo de 8,40-8,60 con el fin de tener la activación completa del jarabe de glucosa.

10 A esta disolución se añaden 296,35 g de una disolución de FeCl_3 al 36,8% p/p con agitación. A esta disolución, a temperatura ambiente, se añade lentamente Na_2CO_3 anhidro en polvo ($0,35$ a $0,4$ g/min) hasta que el pH de la disolución alcance el valor de $2,4 \pm 0,2$. La disolución se calienta a 50°C y permanece a este pH con agitación continua durante 30 min. Después del final de este período, el pH de la disolución se ajusta lentamente a $10,5 \pm 0,2$ con una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p.

El complejo de hidróxido de hierro (III) con el jarabe de glucosa activado se estabiliza con el calentamiento de la disolución a $67 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 horas y luego se enfría a temperatura ambiente. El pH de la disolución se lleva a $5,5 \pm 0,2$ y, después de eso, la disolución se divide en dos partes alícuotas iguales y el complejo se purifica de las sales con los siguientes métodos:

- 15 a) A través de un equipo de un sistema de ultrafiltración con una membrana con un peso molecular de corte de 30 KDa. El producto final se aísla en estado seco con el uso de un secador por atomización.
- b) Precipitación del complejo con etanol en un intervalo de 1:1. El complejo precipitado se seca en un secador a vacío a 48°C.

El análisis fisicoquímico del complejo es el siguiente y es independiente del método de purificación:

20 Peso molecular promedio: 110 KDa.

Contenido de hierro (III): 29,8%.

Ejemplo 5

25 A un reactor de vidrio se añaden con agitación continua 168,0 g de dextrina con DE21 en 268,8 g de agua purificada. La disolución transparente se calienta a 50°C y se añaden 840 mg de bromuro de sodio. El pH de la disolución se ajusta a $9,5 \pm 0,1$ con la adición de una disolución de hidróxido de sodio al 40% p/p. A esta disolución se añaden lentamente 31 g de una disolución de peróxido de hidrógeno al 35% p/p ($0,25 \pm 0,02$ mL/min) y el pH de la disolución permanece entre 9,40 - 9,60 con la adición de una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p. Durante la adición de peróxido de hidrógeno, la temperatura permanece entre 50 y 55°C. Una vez finalizada la adición de peróxido de hidrógeno, la disolución se enfría a temperatura ambiente y permanece durante 20 horas a esta temperatura con la regulación del pH en el intervalo de 9,40-9,60 con el fin de tener la activación completa del jarabe de glucosa.

30 A esta disolución se añaden 296,35 g de una disolución de FeCl_3 al 36,8% p/p con agitación. A esta disolución, a temperatura ambiente, se añade lentamente Na_2CO_3 anhidro en polvo ($0,35$ a $0,4$ g/min) hasta que el pH de la disolución alcance el valor de $2,4 \pm 0,2$. La disolución se calienta a 50°C y permanece a este pH con agitación continua durante 30 min. Después del final de este período, el pH de la disolución se ajusta lentamente a $10,5 \pm 0,2$ con una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 40% p/p.

El complejo de hidróxido de hierro (III) con el jarabe de glucosa activado se estabiliza con el calentamiento de la disolución a $67 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 horas y luego se enfría a temperatura ambiente. El pH de la disolución se lleva a $5,5 \pm 0,2$ y, después de eso, la disolución se divide en dos partes alícuotas iguales y el complejo se purifica de las sales con los siguientes métodos:

- 40 a) A través de un equipo de un sistema de ultrafiltración con una membrana con un peso molecular de corte de 30 KDa. El producto final se aísla en estado seco con el uso de un secador por atomización.
- b) Precipitación del complejo con etanol en un intervalo de 1:1. El complejo precipitado se seca en un secador a vacío a 48°C.

El análisis fisicoquímico del complejo es el siguiente y es independiente del método de purificación:

45 Peso molecular promedio: 112 KDa.

Contenido de hierro (III): 30,9%.

Determinación del peso molecular de complejos de hierro (III)

50 En el contexto de la presente invención, el peso molecular de los complejos de carbohidratos de hierro comerciales se determinó mediante cromatografía de líquidos de alta resolución-cromatografía de permeación por gel (HPLC-GPC), véase United States Pharmacopeia (USP) gel-permeation chromatography method, 28 ed. página 1065.

El producto Ferinject® (de Vifor Pharma) tiene un peso molecular de 200 kDa. El producto Ferrum Hausmann® de Vifor Pharma (disolución oral) es un complejo de polimaltosa de hierro que tiene un peso molecular de 50 kDa. El producto Ferrum Hausmann® de Vifor Pharma (disolución inyectable) tiene un peso molecular de 350 kDa. Además, el Ejemplo 3 del documento US2013/0203698 A1 se repitió dos veces y se determinó que el peso molecular era de 400 kDa y 450 kDa respectivamente.

5

Tabla 1. Peso molecular y contenido de hierro de los complejos de hierro (III).

	Peso molecular (MW)	Contenido de hierro
Ejemplo 1	100 KDa	Ensayo _{Fe(III)} : 31,4% p/p
Ejemplo 2	150 KDa	Ensayo _{Fe(III)} : 29,2% p/p
Ejemplo 3	145 KDa	Ensayo _{Fe(III)} : 30,6% p/p
Ejemplo 4	110 KDa	Ensayo _{Fe(III)} : 29,8% p/p
Ejemplo 5	112 KDa	Ensayo _{Fe(III)} : 30,9% p/p
US2013/0203698 A1 (Ejemplo 3)	140 KDa (datos dados en la referencia)	Ensayo _{Fe(III)} : 26,8% p/p (datos dados en la referencia)
US2013/0203698 A1 (Ejemplo 3 - reelaborado)	Ensayo 1 400 KDa Ensayo 2 450 KDa	Ensayo 1 Ensayo _{Fe(III)} : 25,2% p/p Ensayo 2 Ensayo _{Fe(III)} : 25,4% p/p
US2013/0203698 A1 (Ejemplo 1 - reelaborado)	> 450 KDa	Ensayo _{Fe(III)} : 24,6% p/p
US2013/0203698 A1 (Ejemplo 2 - reelaborado)	> 450 KDa	Ensayo _{Fe(III)} : 12,8% p/p
US2013/0203698 A1 (Ejemplo 8 - reelaborado)	450 KDa	Ensayo _{Fe(III)} : 15,9% p/p

Una comparación de US2013/0203698 con un complejo de la presente invención proporcionó los siguientes resultados:

10 Tabla 2. Diferencias entre el Ejemplo 1 del documento US2013/0203698 y la presente invención.

	Ejemplo 1 del documento US2013/0203698	Ejemplo 2 de la presente solicitud
Reactivo oxidante	NaClO al 15%	H ₂ O ₂ al 35%
¹³ C RMN	2 grupos carbonilo (-COOH)	4 grupos carbonilo (-COOH)
DE del azúcar	9,6	21
DE del azúcar activado	1,1	0,3
MW del complejo	> 450 kDa	150 kDa
Contenido de Fe (III)	24,6%	29,2%

Bibliografía citada

Gallali et al. "Oxidized Glucose Syrup - Production, Parameters and Food Applications", starch/stärke **37** (1985) Nr. 2, pages 58-61.

15 L. S. Munson and P.H. Walker, "THE UNIFICATION OF REDUCING SUGAR METHOD", J. Am. Chem. Soc. 28 (6), 663-686 (1906).

EP0755944 A2. EP1554315 B1. EP1858930 A1. EP2287204 A1. GB 1.322.102.

GB 1076219. US 3.908.004. US 4.180.567. US 2013/0203698 A1/WO2004037865 (A1).

US 3.076.798. US 5.866.533. US 4.927.756. US 3.076.798. US 2.885.393.

20 WO 03/087164.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento para la preparación de complejos de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa activado, en donde el peso molecular del complejo está en el intervalo de 100 kDa a 150 kDa, medido por cromatografía de líquidos de alta resolución-cromatografía de permeación por gel (HPLC- GPC), comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- (i) Proporcionar una disolución acuosa de jarabe de glucosa, que tiene un equivalente de dextrosa (DE) de al menos 21 y como máximo 60, según se determina por análisis gravimétrico, a una temperatura en el intervalo de 25°C a 80°C y a un pH en el intervalo de 6 a 13;
- 10 (ii) Añadir peróxido de hidrógeno, y opcionalmente una cantidad catalítica de un catalizador de oxidación, a la disolución de (i), mientras se mantiene el pH y la temperatura dentro del intervalo definido en la etapa (i), permitiendo que la disolución se enfríe a una temperatura en el intervalo de 10°C a 45°C, manteniendo la disolución a esta temperatura durante 5 minutos a 24 horas, obteniendo de este modo el jarabe de glucosa activado;
- (iii) Convertir dicho jarabe de glucosa activado en un complejo con hidróxido de hierro (III); y
- 15 (iv) Obtener un complejo de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa activado, en donde el peróxido de hidrógeno se usa en una cantidad total de 0,0005-0,01 moles/g (jarabe de glucosa) multiplicado por el factor de corrección: (equivalente de dextrosa del jarabe de glucosa)/21, en donde el complejo tiene un contenido de hierro en el intervalo de 27 a 35% en peso, basado en el peso del complejo; y en donde el complejo obtenido de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa activado tiene más que dos grupos -COOH por molécula de glucosa y en donde el jarabe de glucosa de la etapa (i) no tiene ningún grupo -COOH en la molécula de glucosa.
- 20 2. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que el equivalente de dextrosa (DE) del jarabe de glucosa activado está en el intervalo de 0,1 a 1,0, preferiblemente es aproximadamente 0,3 y/o el complejo obtenido de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa activado tiene al menos tres grupos -COOH por molécula de glucosa, lo que indica que el jarabe de glucosa está activado.
- 25 3. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que la etapa de convertir dicho jarabe de glucosa activado en un complejo con hidróxido de hierro (III) comprende las etapas de:
- (iii)(a) Añadir una disolución de FeCl₃ a la disolución de (ii) a una temperatura dentro del intervalo de 10 a 30°C; la cantidad de FeCl₃ está en el intervalo de 30% en peso a 120% en peso de la cantidad de jarabe de glucosa.
- 30 (iii)(b) Añadir una base inorgánica a la mezcla de reacción de la etapa (iii)(a) hasta que el pH esté dentro de un intervalo de 1,5 a 2,5; y
- (iii)(c) Calentar la mezcla de reacción de la etapa (iii)(b) a una temperatura dentro del intervalo de 40 a 60°C.
4. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el catalizador de oxidación incluye bromo e iones de yodo.
- 35 5. Complejo de hidróxido de hierro (III) y jarabe de glucosa, obtenible u obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-4.
6. Composición farmacéutica, que comprende el complejo según la reivindicación 5.
7. Complejo según la reivindicación 5 o composición farmacéutica según la reivindicación 6, para uso como medicamento.
- 40 8. Complejo según la reivindicación 5 o composición farmacéutica según la reivindicación 6, para uso en un método para tratar la deficiencia de hierro en seres humanos y animales.
9. El complejo o composición farmacéutica para uso según la reivindicación 8, en donde el tratamiento comprende administrar parenteralmente dicho complejo según la reivindicación 5 o composición farmacéutica según la reivindicación 6.

Figura 1

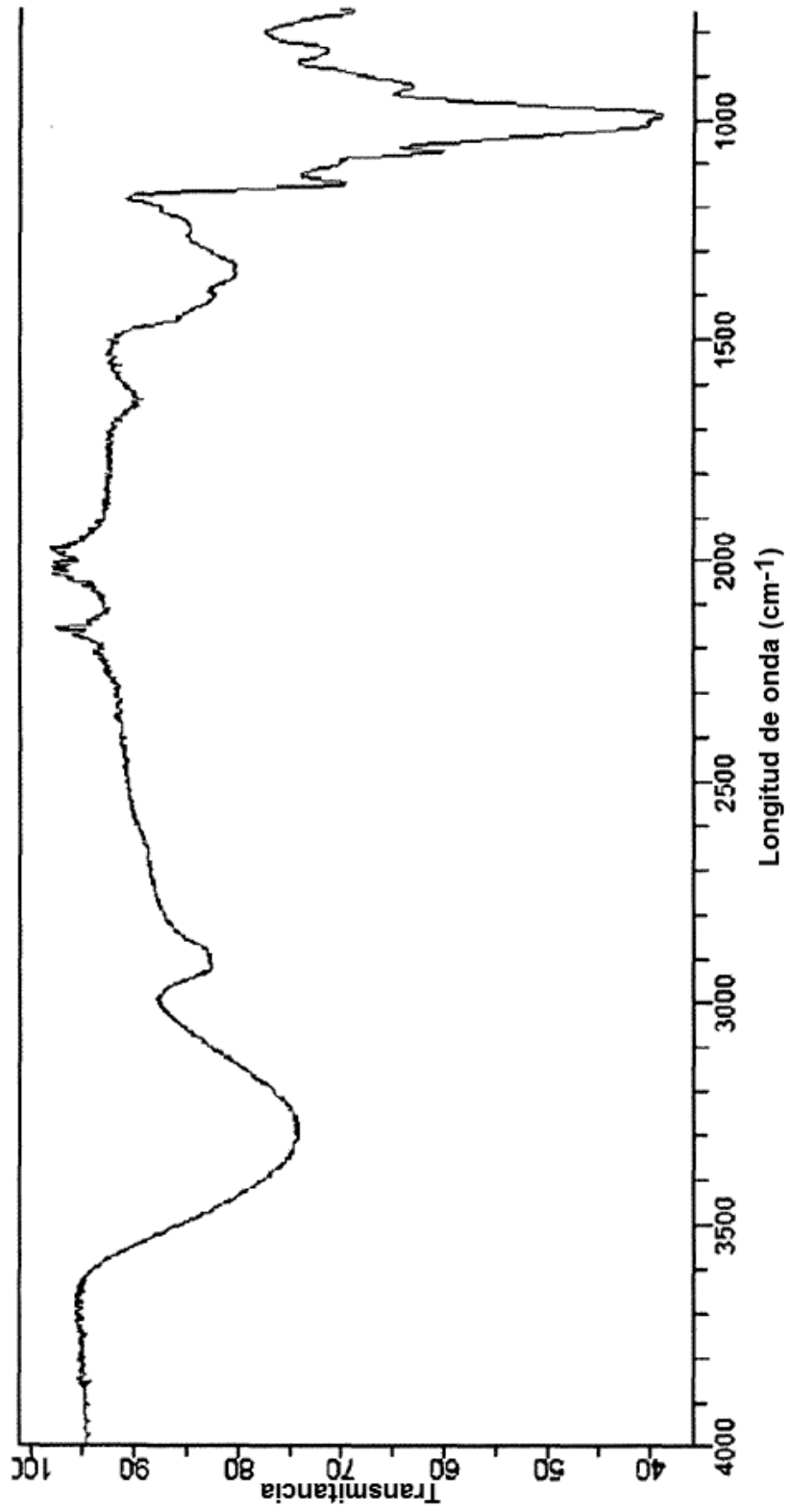


Figura 2

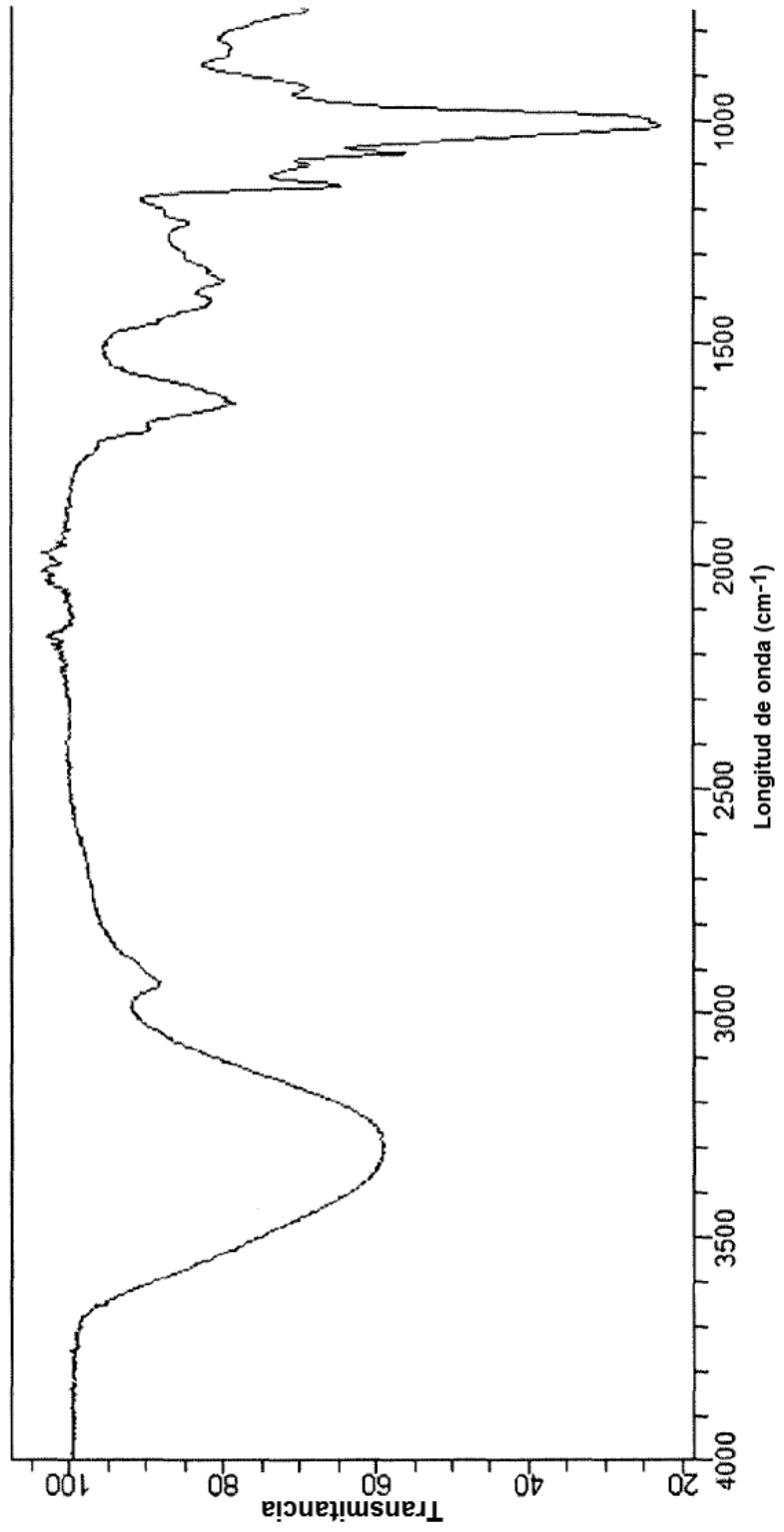


Figura 3

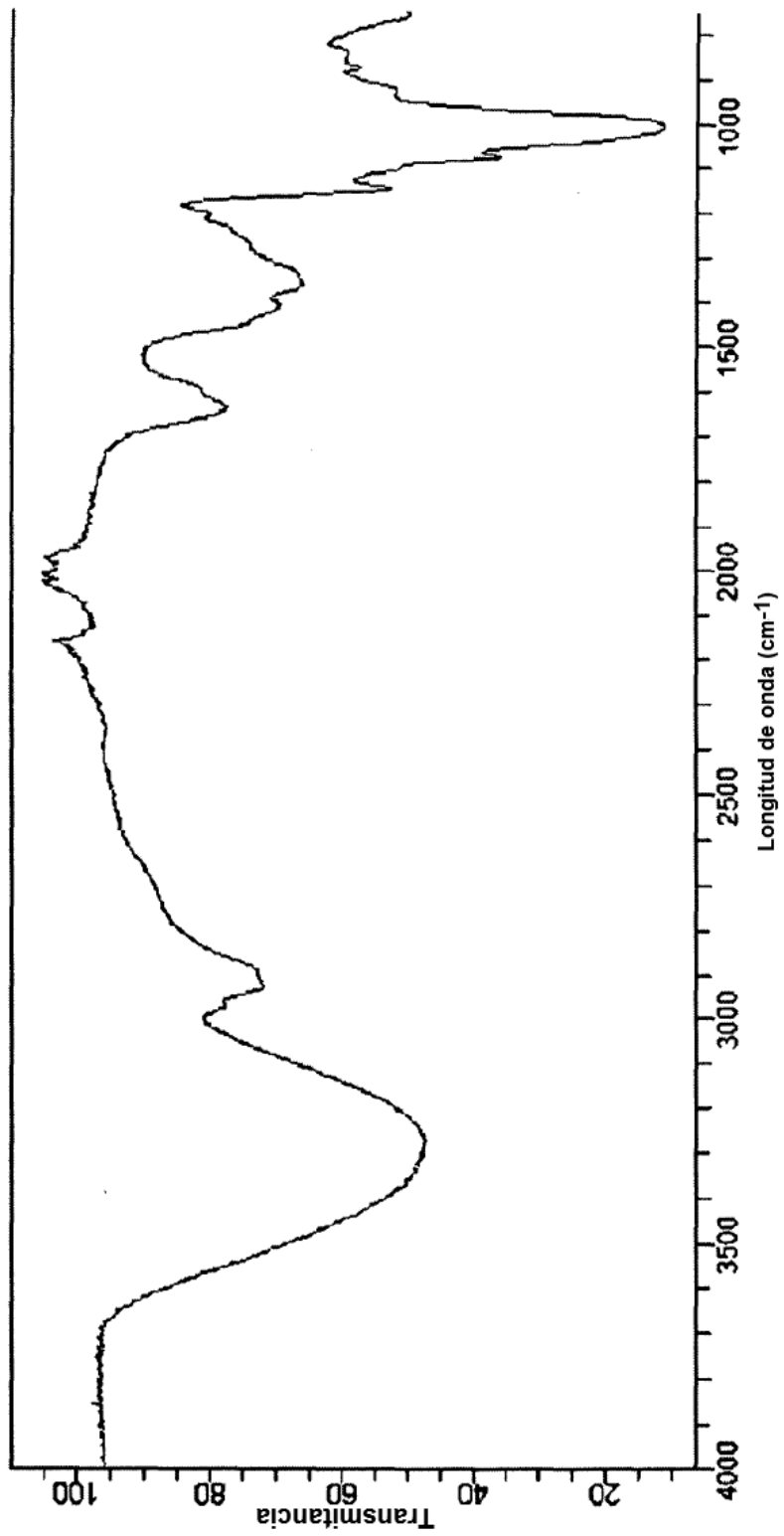


Figura 4

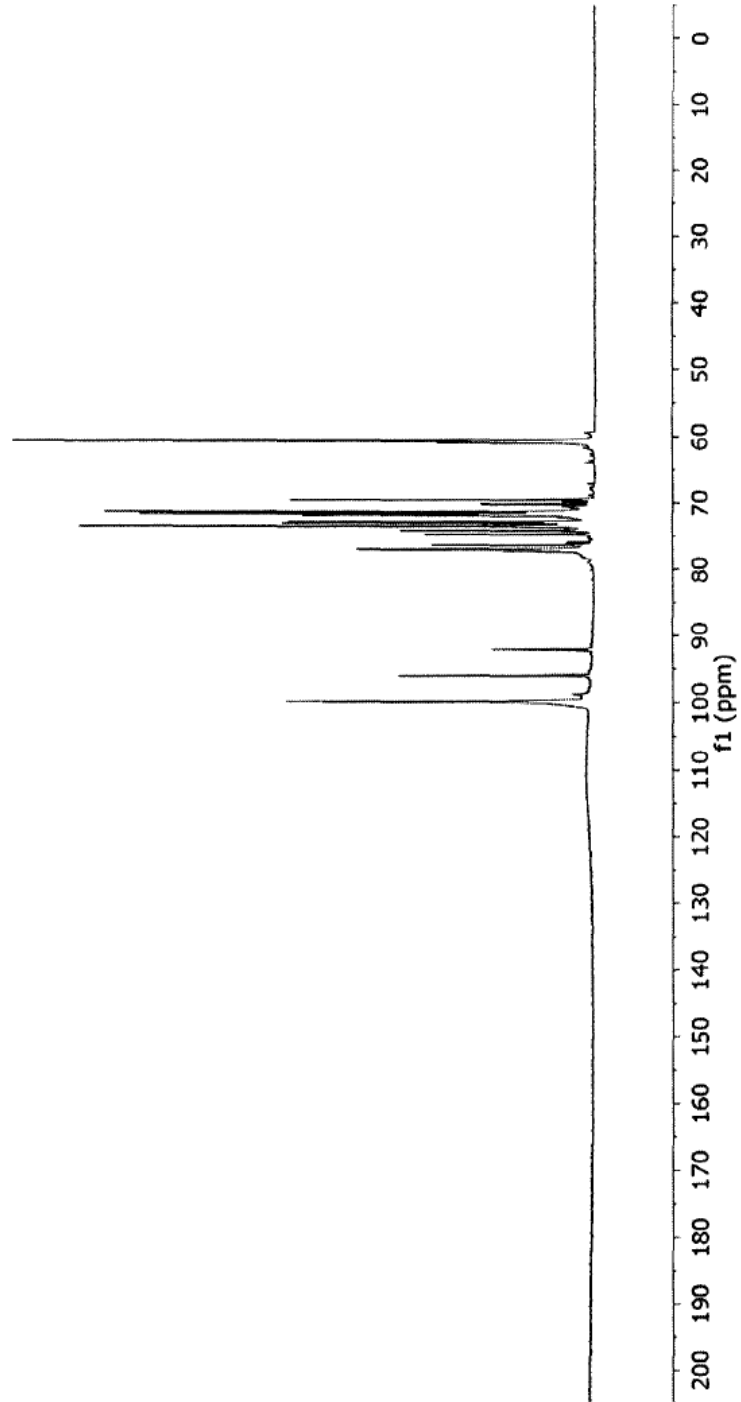


Figura 5

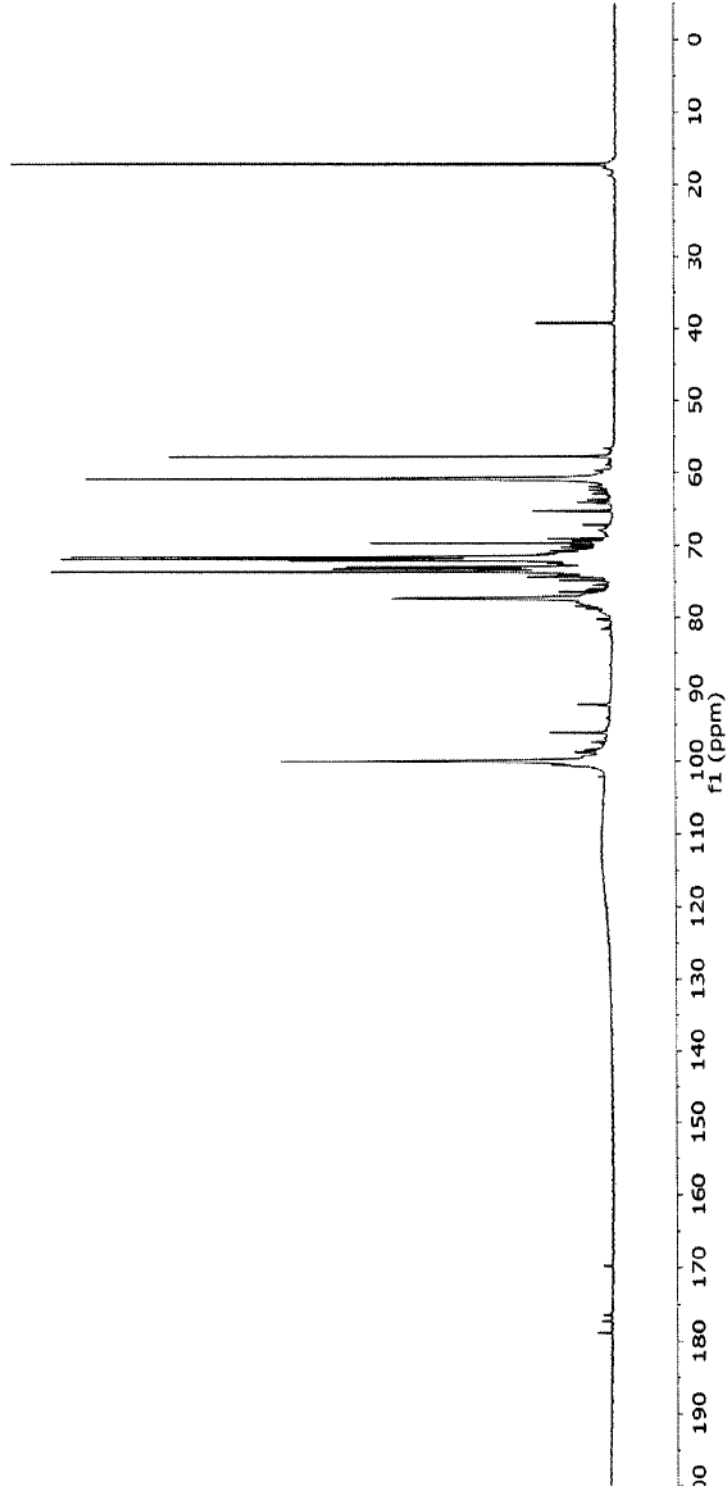


Figura 6

