



發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：92105813

※ 申請日期：92.7.5

※IPC 分類：C08B 37/10,

A61K 31/727,

H 26B 17/30

壹、發明名稱：(中文/英文)

製備固態形式肝素之新方法

NEW METHOD TO PRODUCE A SOLID FORM OF HEPARIN

貳、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

瑞典商輝瑞健康公司

PFIZER HEALTH AB

代表人：(中文/英文)

葛洛渥 F 弗樂 二世

FULLER, GROVER F. JR.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

瑞典斯德哥爾摩市

SE-112 87 STOCKHOLM, SWEDEN

國 籍：(中文/英文)

瑞典 SWEDEN

參、發明人：(共 2 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 蘭葛納森 拉哈凡

RAGHAVAN, RANGANATHA

2. 賈 李 傑特

JETT, JAY LEE

住居所地址：(中文/英文)

1.-2.均美國俄亥俄州法蘭克福市工業大道160號

160 INDUSTRIAL DRIVE, FRANKLIN, OHIO 45005, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

1.-2. 均美國 U.S.A.

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

☒ 本案申請前已向下列國家（地區）申請專利：

1. 美國；2003年03月07日；60/452,701
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

☒ 主張國際優先權(專利法第二十四條)：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國；2003年03月07日；60/452,701
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

☐ 主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

- 1.
- 2.

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

本申請案主張2003年3月7日申請之美國臨時申請案第60/452,701號之優先權。

【發明所屬之技術領域】

本發明提供一種將溶劑或溶劑之混合物中含有肝素、肝素鹽或肝素複合物之溶液加工成固態形式肝素產物的新方法，其特徵為在大氣壓力或真空及適合的乾燥溫度下使用一轉鼓乾燥器。

【先前技術】

肝素、肝素鹽及肝素複合物(在此稱作"肝素")作為抗凝血劑、抗血栓劑及醫療裝置之塗飾劑廣泛應用於保健。亦將肝素鹽用作起始材料以製備低分子量之肝素，例如Fragmin[®](達肝素鈉(Dalteparin Sodium))[WO 80/01383]。肝素可以從動物組織及器官中萃取，且其通常含有若干生物所衍生之雜質，諸如蛋白質及糖胺聚糖(glycosaminoglycan)，例如硫酸皮膚素(Dermatan Sulfate)。已開發了為數眾多的萃取方法，例如彼等美國專利：US 2571679、US 2954321、US 3337409、US 6232093B1及其中所引用之參考文獻所揭示之方法。

在典型的肝素製造及純化過程中，為製備固態形式的肝素，將肝素自其水溶液中沈澱出來，該水溶液中存在大量的水溶性有機溶劑，例如乙醇[US 2571679、US 2954321]、甲醇[US 2884358、US 2797184、US 3337409]、丙酮[US 2954321]及類似物。將該沈澱出之肝素以水溶性溶劑來脫

水或藉由過濾來收集，且其後通常在約40-75°C下真空乾燥。亦使用其他乾燥方法來乾燥在水中重新構成之糊狀物肝素沈澱，隨後冷凍乾燥，如凍乾法[US 3817831]。

中國專利申請案CN 1218058A(公佈於1999-06-02)揭示一種噴霧乾燥肝素溶液的方法。藉由霧化肝素溶液並將其進入噴霧乾燥器之190-200°C的熱空氣中乾燥，可得到具有128 u/mg之比活性的乾粉。

習知過程中以該方法來製備固態形式的肝素存在著固有的問題。其中該等問題中最重要之問題為：過度使用具有潛在危險及易燃性的有機溶劑、要求在乾燥過程中精確控制真空度及溫度、要求多重加工階段(包括沈澱、乾燥、研磨及再乾燥步驟)、要求極長的加工周期、要求較高的資金及操作成本、要求相對較長時間的勞動、要求頻繁清洗噴嘴、由於處理及夾帶(entrainment)所造成之顯著的產品損耗，及對該感熱性的肝素產物所造成之潛在不利的質量影響。通常，為保存抗凝特性(效能(potency))，溫度不能超過100°C，其會導致需要更長的時間，尤其為乾燥階段的時間。

單轉鼓或雙轉鼓乾燥器廣泛應用於化學及製藥工業。將該等轉鼓乾燥器用於加工溶液以在單段操作中製備固態產物，例如無機鹽[US 2034599]、三級胺氧化物[US 3330327]及多糖[US 6485945]。一雙轉鼓乾燥器由兩個反向旋轉或共旋轉的轉鼓組成，藉由蒸汽或其它適合的熱流體來自其內部對該等轉鼓加熱。在雙轉鼓乾燥器中，將待乾燥的溶液裝至(load into)轉鼓之間的輓隙(nip)中且將其在轉鼓表面

擠壓成薄層，其中藉由熱的轉鼓表面來乾燥該薄層。用刀將乾燥的固體刮去且用料斗來收集以進一步用於後續加工。就感熱性的化學製品而言，其可在真空下操作。該乾燥過程之停留時間很短且只需幾秒鐘。此對於感熱性產物特別有利。可以分批、半連續或連續之模式來運行該乾燥過程。

【發明內容】

本發明提供一種在大氣壓力或真空及適合之乾燥溫度下以轉鼓乾燥器來將含有肝素的溶液加工成固態形式之肝素的新方法。較佳使用一雙轉鼓乾燥器。本發明進一步揭示於附加之申請專利範圍內。

本發明所加工之溶液的主要成份為肝素。其可為肝素純化或製造過程中的溶液；具有污染物之動物黏膜、組織或器官的Q萃取溶液；或為具有自吸附肝素之樹脂(resins absorbed heparin)所溶離之污染物的溶液。該等污染物可為(例如)糖胺聚糖、蛋白質、細菌、硫酸皮膚素、病原體，等等。

藉著應用本發明方法，自肝素溶液製備固態肝素係藉由轉鼓乾燥器使用單步操作來替代習知萃取、製造或純化過程中的多重步驟。具體而言，本發明提供極佳的優點：無需使用大量危險且昂貴之有機溶劑、縮短加工周期、容許連續乾燥程序之加工性、改良能量效率且降低在處理有機溶劑過程中之人員安全的風險。

本發明提供了一種使用單轉鼓或雙轉鼓乾燥器(雙轉鼓

乾燥器較佳)來處理在溶劑(諸如水)或溶劑混合物中含有肝素、肝素鹽或肝素複合物(較佳為肝素鈉)主要成份之溶液以獲得固態形式肝素產物的新穎方法，該溶劑混合物可為例如水與一種或多種水可溶混之有機溶劑如醇(乙醇、甲醇、正丙醇或異丙醇)或丙酮混合；或若為特定肝素複合物，例如肝素-氯苄烷銨複合物，則為醇類。

在雙轉鼓乾燥器中，進料溶液在轉鼓之間的輓隙中加熱至一定的溫度直至溶液達到最佳特性(如黏度)，然後黏附至轉鼓表面用以進一步乾燥。在較佳藉由預熱進料溶液且利用適宜裝載技術之單轉鼓乾燥器的狀況下，採用類似的途徑來乾燥肝素溶液。

本發明之方法在自開始與轉鼓接觸之小於1分鐘的時間內提供肝素溶液之乾燥的固態形式。例如，在短於30秒之時間內可自溶液獲得乾燥的固態形式之肝素。

藉由以下程序可獲得經乾燥之固態形式肝素：

- 1)藉由使用本發明的乾燥方法。
- 2)其後藉由一組刮刀將該經乾燥之固態形式肝素自轉鼓表面移除，該肝素主要為含有可接受之低含量揮發物及水分的薄片及粉末形式。
- 3)將固態形式之肝素收集在給料斗或其它類型之容器中且將其輸送用於進一步的加工及研磨。

待裝載於轉鼓乾燥器上之含有肝素之溶液的濃度可在1%到50%之重量/體積(g/mL)的範圍內，較佳為約10-17%重量/體積(g/mL)的濃度。

待裝載於轉鼓乾燥器上之含有肝素之溶液的溫度在環境溫度至低於該溶液之沸點溫度的範圍內，較佳為環境溫度。

乾燥溫度在20-210°C之範圍內，較佳在約 130-170°C。可藉由調節鼓內之蒸汽壓力來調整該溫度。

轉鼓乾燥器中之操作壓力可在真空(低至0.01 mmHg)至大氣壓力的範圍內，較佳在大氣壓力下。

轉鼓乾燥器之最佳操作設定視所使用之乾燥器的具體類型及饋入該轉鼓乾燥器之含有肝素溶液的濃度而定。通常，根據本發明，含有肝素之溶液的乾燥過程及轉鼓乾燥器的最佳條件可(但不限於)藉由調節以下條件來實現：進料速率、進料溶液之溫度、轉鼓之轉動速度、產物刮刀之位置、轉鼓之表面積、轉鼓表面之操作溫度及乾燥爐罩中之操作壓力。熟習此項技術者可決定該等最佳條件。

本主張之乾燥方法為迅速的。其可以分批、半連續或連續模式來執行。藉由本發明之方法所乾燥之產物的質量屬性類似於或優於彼等習知方法所製得的產物。經乾燥之產物之水分及其它揮發物的含量通常低於5重量%。

本發明之方法提供一種效能至少為100 u/mg之乾燥的固態形式肝素。例如，本發明之方法提供一種效能至少為140 u/mg之乾燥的固態形式肝素。在另一實例中，本發明之方法提供一種效能至少為160 u/mg之乾燥的固態形式肝素。

本發明之方法同樣適用於經純化之肝素溶液以及粗肝素之溶液，其中該粗肝素包含蛋白質及糖胺聚糖雜質。本發明可用於乾燥各種(粗產物或精細產物)肝素產物之溶液以

獲得相應之固態形式的肝素產物，例如游離肝素、肝素與例如鈉之鹼金屬的鹽、肝素與例如鈣之鹼土金屬的鹽、肝素與銨或四級銨或三級銨或任何有機鹼的鹽、肝素與四級銨或三級銨或任何有機鹼與無機酸或有機酸所形成的鹽之複合物，例如肝素-氯苄銨複合物、肝素-氯三(十二烷基)甲基銨複合物。本發明之較佳用途為乾燥肝素鈉在溶劑或溶劑之混合物中之溶液。

本發明係用於將包含肝素作為主要成份之溶液加工成可變為具有各種肝素純度之固態的肝素產物，該溶液可來自(但不限於)肝素純化或製造過程；含有污染物之動物黏膜、組織、或器官的萃取溶液；自經樹脂吸附之肝素之溶離所得到的含有污染物之溶離溶液。該等污染物可為(例如)糖胺聚糖、蛋白質、細菌、硫酸皮膚素、病原體，等等。本發明之方法亦可根據所需之生產率成比例放大(scaled-up)或縮小。

本發明之優點為使用少量有機溶劑，以使得操作方法較習知方法安全得多。藉由施用本發明，可將含有肝素之溶液在單個步驟中乾燥成固態形式從而消除了習知乾燥過程中固有的問題。具體言之，本發明降低了對大量具有潛在危險之有機溶劑的需求、將分批生產之周期減至最小、降低了資金及操作成本且將每批的勞動需求減至最小。

以下實例用以說明本發明且無論如何不應將其看作對本發明之任何限制。

【實施方式】

式肝素鈉，對應於1.04磅/小時/平方英尺(10.152 kg/hour/m²)之乾燥速率。藉由實例1中所使用之相同的分析方法將該產物之分析結果列於表1。

實例3：對照實驗，藉由標準方法來乾燥

肝素鈉的樣品溶液係來自實例1及實例2中所使用之相同母液。首先以每升溶液約750 mL SDA-3A醇來處理該溶液以沈澱該肝素鈉。然後將清液層(supernatant liquid)傾析。藉由加入約8倍重量之肝素鈉，以SDA-3A醇來將殘餘之糊狀懸浮液脫水。傾析該清液層。脫水步驟係藉由加入相同比率之SDA-3A醇再重複兩次。然後沈澱物藉由盤式乾燥器在真空下、40℃與75℃之間乾燥60小時以上，研磨且再乾燥額外一天。使用的分析方法與上述實例1相同。結果列於表1。

表1. 經乾燥經純化之肝素的分析結果

項目	效能	殘餘水分 (LOD)	殘餘乙醇/甲醇	400 nm處之 吸光度
實例 1	162 u/mg	3.2%	<0.1% /<0.1%	0.06 A.U.
實例 2	160 u/mg	4.8%	<0.1% /<0.1%	0.05 A.U.
實例 3	157 u/mg	0.9%	8%/<0.1	0.04 A.U.

實例4：轉鼓乾燥含有超過90重量%粗肝素及殘餘為硫酸皮膚素及其它雜質的糖胺聚糖溶液("粗產物肝素")

將1.5升含9.5重量%粗肝素及5重量%SDA-3A醇的水溶液於環境溫度下裝入Bufflovac 6"×8"雙轉鼓乾燥器中，轉速為3轉/分鐘、蒸汽壓力為75磅/平方英吋(5.1巴且蒸汽溫度

為 161°C)、轉鼓間距為 0.006 英吋 (0.15 mm)、乾燥器內壓力為大氣壓力。將 60 g 經乾燥之粗肝素粉末收集在附著於乾燥器之給料斗內。整個操作時間為 10 分鐘。產物的分析結果列於表 2。藉由美國藥典中所規定的標準方法來測定樣品的效能。藉由氣相色譜法來測定產物中殘餘的乙醇及甲醇。藉由紫外可見分光光度計來測定產物的顏色。在此狀況下用作粗肝素之 1%(g/ml) 的經轉鼓乾燥的產物的水溶液具有較高的吸光度，此歸因於肝素製造過程中其中間步驟存在的雜質。結果列於表 2，從表 2 的資料可見，該實例中經乾燥之粗肝素的效能與實例 3 中藉由標準方法所乾燥之經純化肝素的效能相當。

然後，將該經乾燥之粗肝素樣品在實驗室中藉由標準的化學純化步驟進行純化且將其凍乾。將純化該源自經轉鼓乾燥之粗肝素所得到之肝素的分析結果示於表 2A 中。

表 2. 經乾燥之粗肝素的分析結果

項目	效能	殘餘水分 (LOD)	殘餘乙醇/甲醇	400 nm處之吸光度(1%溶液)
實例 4	151 u/mg	2.8%	<0.5%	0.07 A.U.

表 2A: 純化經轉鼓乾燥之粗肝素所得到之肝素的分析結果

項目	效能	殘餘水分 (LOD)	殘餘乙醇/甲醇	400 nm處之吸光度(1%溶液)
實例 4	175 u/mg	0.1%	<0.6%	0.05 A.U.

伍、中文發明摘要：

本發明提供一種將在溶劑或溶劑混合物中含有肝素、肝素鹽或肝素複合物之溶液加工成固態形式肝素產物的新穎方法，其特徵為在大氣壓力或真空及適合的乾燥溫度下使用一轉鼓乾燥器。

陸、英文發明摘要：

The present invention provides a new method to process a solution containing heparin; heparin salts or heparin complexes in a solvent or a mixture of solvents to a solid form of heparin products characterized by use of a drum dryer at atmospheric pressure or under vacuum and at a suitable drying temperature.

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

實例

實例 1：以雙轉鼓乾燥器在大氣壓力下乾燥

在環境溫度下，將含 13%(以重量計)肝素鈉及 4%(以重量計)SDA-3A Alcohol 之水溶液(1.0 公升)裝入 Buflovake® 6"×8" 真空及大氣雙轉鼓乾燥器(Vacuum and Atmospheric Double Drum Dryer)中，轉鼓的轉速為 2.6 轉/分鐘、蒸汽壓力為 72.5 磅/平方英吋(4.96 巴，蒸汽溫度為 159°C)、輥隙水平(level)約為 3/8 英吋(9.5 毫米)、轉鼓間隙為 0.008 英吋(0.203 毫米)且乾燥器中之壓力為大氣壓力。將 0.3 磅(131.6 克)經乾燥之固態形式的肝素鈉收集在連接於乾燥器之給料斗中。整個操作時間為 10.25 分鐘，相當於 0.88 磅/小時/平方英尺(8.292 kg/hour/m²)的乾燥速率。產物的分析結果列於表 1。藉由美國藥典所規定之標準方法來測定樣品效能。藉由氣相色譜法來測定殘餘溶劑(乙醇及甲醇)之含量。藉由紫外-可見分光光度計來測定產物顏色。使用經乾燥之產物 25%(g/mL)的水溶液且產物規格要求吸光度小於 0.15 A.U.。結果為 0.06 A.U.(表 1)。

實例 2：以雙轉鼓乾燥器在減壓下乾燥

使用與實例 1 中相同之雙轉鼓乾燥器及同批肝素鈉溶液。除了乾燥器之轉鼓的操作轉速為 3 轉/分鐘、蒸汽壓為 50 磅/平方英吋(3.45 巴，蒸汽溫度為 148°C)、轉鼓間隙為 0.009 英吋(0.229 毫米)、在 64 mmHg 之減壓下加工之外，該程序與實例 1 相同。進料溶液之溫度為環境溫度。在 7.5 分鐘內自 1 升之該溶液獲得 0.26 磅(117.9 克)之經乾燥的固態形

拾、申請專利範圍：

1. 一種用於將在溶劑或溶劑混合物中含有肝素之溶液加工成乾燥固態形式肝素的方法，其特徵在於在大氣壓力或真空及適合之乾燥溫度下使用轉鼓乾燥器。
2. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該肝素為游離肝素；或肝素與鹼金屬、或鹼土金屬、或銨、或四級銨、或三級銨或任何有機鹼的鹽；或肝素與無機鹽或諸如銨鹽之有機鹽、或四級銨鹽或三級銨鹽所形成的複合物。
3. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該肝素為肝素鈉。
4. 如申請專利範圍第2項之方法，其中該肝素為肝素鈉。
5. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該肝素溶液之溶劑為水、或水與可與水相混溶之有機溶劑，或醇。
6. 如申請專利範圍第5項之方法，其中該有機溶劑為醇或醇混合物。
7. 如申請專利範圍第5項之方法，其中該有機溶劑為丙酮。
8. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該轉鼓乾燥器為雙轉鼓乾燥器。
9. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該轉鼓乾燥器為單轉鼓乾燥器。
10. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該乾燥溫度在20-210 °C 之間。
11. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該乾燥溫度在130-170°C 之間。
12. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該壓力在0.01 mmHg

至大氣壓力之間。

13. 如申請專利範圍第11項之方法，其中該壓力為大氣壓力。
14. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該乾燥之固態形式肝素係在該含有肝素之溶液與轉鼓開始接觸之1分鐘之內製得。
15. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該乾燥之固態形式肝素係在該含有肝素之溶液與轉鼓開始接觸之30秒之內製得。
16. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該乾燥之固態形式肝素係具有至少140 u/mg的效能。
17. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該乾燥之固態形式肝素係具有至少160 u/mg的效能。