

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 942**

51 Int. Cl.:

C08B 37/00 (2006.01)

C07H 1/00 (2006.01)

C07F 15/02 (2006.01)

A61K 31/715 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2006** **PCT/IB2006/000560**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.10.2006** **WO06111802**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2006** **E 06765408 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **03.04.2024** **EP 1858930**

54 Título: **Proceso para la preparación de complejos de hierro trivalente con azúcares mono-, di- y polisacáridos**

30 Prioridad:

15.03.2005 IT MO20050056

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente modificada:
08.11.2024

73 Titular/es:

BIOFER S.P.A. (100.0%)
Via Tommaso da Cazzaniga 9/6
20121 Milano (MI), IT

72 Inventor/es:

MARCHI, EGIDIO;
MONTORSI, MAURO y
SACCHI, STEFANIA

74 Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 370 942 T5

DESCRIPCIÓN

Proceso para la preparación de complejos de hierro trivalente con azúcares mono-, di- y polisacáridos

5 Antecedentes de la presente divulgación

El objetivo de la presente divulgación hace referencia a la síntesis de complejos de hierro trivalente (III) con azúcares mono-, di- y polisacáridos. Los productos obtenibles según el método de la presente divulgación pueden ser: hierro gluconato, hierro maltosa, hierro polimaltosa, hierro dextrina, dextrano de hierro, hierro sacarato estabilizado con sacarosa, o complejos nuevos tales como el hierro lactato o hierro maltosa estabilizado con sacarosa u otros.

Estos derivados pueden ser utilizados ventajosamente en la terapia de diferentes patologías, tales como

- deficiencia de hierro funcional en pacientes que sufren de un fallo renal crónico;
- mala absorción del hierro debido a enfermedades intestinales;
- pérdida de sangre crónica también junto con eritropoyetina;
- anemia constitucional.

La síntesis de los complejos de hierro trivalente con azúcares es conocida desde hace muchos años incluso si, aún hoy, la investigación en este campo está activa, ya que varios métodos utilizados para la síntesis llevan a complejos no muy estables o dichos métodos son difíciles de aplicar.

Debería recordarse que los complejos de hierro son producidos sobre todo para ser administrados oralmente, intramuscularmente o de modo intravenoso a pacientes o animales, como medicamentos adecuados para prevenir o tratar patologías relacionadas con la deficiencia de hierro.

Por esta razón, estos derivados de hierro deben tener algunas características fundamentales, tales como: estabilidad fisicoquímica en el tiempo, seguridad en su administración, baja toxicidad, buena biodisponibilidad y facilidad de producción.

En cuanto a la toxicidad y la biodisponibilidad, es conocido que el hierro bivalente tiene una biodisponibilidad oral óptima pero tiene también una toxicidad intrínseca que se expresa a nivel gastrointestinal y hepático, sobre todo debido a la acumulación. Por estas razones, las sales de hierro bivalente no son muy utilizadas en las terapias, incluso si el coste de producción es limitado y pueden ser administradas oralmente, además el nivel de sideremia alcanzado con la terapia debe ser siempre controlado muy de cerca. Por el contrario, el hierro trivalente es menos tóxico cuando se administra en productos que efectivamente estabilizan el hierro a través de la complejación del mismo, ya que ocurre a un nivel biológico por ejemplo por la ferritina que compleja el hierro pero mantiene una buena capacidad de darlo a los sistemas biológicos asignados para transportar o utilizarlos. El hierro trivalente es un fuerte oxidante y de este modo, si no se atrapa en sistemas capaces de almacenar y entregarlo sólo cuando se requiere efectivamente por el sistema endocrino, puede dañar seriamente algunos órganos importantes, tales como el hígado y los riñones.

A partir de lo anterior, se deduce que el complejo debe tener una estabilidad oportuna que debe asegurar, por un lado, la conservación requerida del producto en viales y por otro lado, la igualmente importante capacidad de entregar el hierro sólo a los sistemas proteínicos pretendidos para el almacenamiento o el transporte del hierro mismo. Por lo tanto, la estabilidad del complejo de azúcar Fe^{+++} es una de las características más importantes, porque de ello depende no sólo la vida útil de la forma farmacéutica seleccionada sino también la biodisponibilidad del hierro acomplexado. Un complejo poco estable causará grandes problemas, no sólo en cuanto a la administración sino también la toxicidad, ya que entregará el hierro a todos los sistemas biológicos capaces de producir complejos con el hierro, por ejemplo las proteínas hemáticas, sustrayéndolo de los sistemas biológicos específicamente asignados al transporte y almacenamiento del mismo.

Se ha señalado que el complejo de hierro trivalente con los azúcares es estable si algunas condiciones esenciales son respetadas:

- 1) homogeneidad fisicoquímica del hidróxido férrico,
- 2) uso de polisacáridos con un bajo contenido de pesos moleculares bajos,
- 3) azúcares con el glucósido terminal activado.

1) La primera condición es que el hidróxido férrico debe ser un producto homogéneo, es decir que no debe ser una mezcla de formas polimorfas que pueden acomplejar el hierro de una forma diferente, cada una con una diferente estabilidad. Además, el hidróxido férrico no debe estar cargado y por lo tanto no debe estar ni siquiera parcialmente salificado con aniones, una cosa que puede ocurrir cuando se intenta aislarlo de una solución de una sal suya mediante tratamiento básico.

Por ejemplo, la precipitación, además de $\text{Fe}(\text{OH})_3$, de $\text{Fe}(\text{OH})_2\text{Cl}$, o $\text{NaFe}(\text{OH})_2\text{CO}$ y demás puede ocurrir, obteniendo mezclas de hidróxidos que pueden hacer difícil la formación de complejos y disminuir su estabilidad.

Erni I, et al. *Arzneim.-Forsch./Drug. Res.* 34, (II), N° 11 pág. 1555-1558, 1984, declaran que el hidróxido férrico precipitado y aislado, incluso en condiciones controladas y de reacción repetitiva, siempre consiste en diferentes tipos de hidróxidos.

Todo lo anterior es confirmado por el hecho de que el hidróxido férrico, que es reaccionado con el azúcar, está sólo solubilizado en parte y forma el complejo permaneciendo parcialmente como un cuerpo inferior o, como ocurre a menudo, precipitando el complejo después de un tiempo. Por lo tanto, para obtener una reacción efectiva e irrepetible para la formación del complejo es necesario realizar la reacción de hidratación de hierro en una solución, permitiendo a la reacción misma lentamente reequilibrarse en la presencia de azúcar.

Además, todo el mundo sabe que el aislamiento y la purificación del hidróxido férrico son dos pasos que tienen una dificultad productiva destacable.

2) La segunda condición es que el azúcar debería ser activado, a saber, el grupo terminal no debería estar en forma de aldehído o semiacetal. De hecho, este grupo terminal aparte de ser incapaz de participar en la formación del complejo, puede intervenir reduciendo parcialmente el hierro trivalente trayéndolo al estado de oxidación inferior o hierro bivalente, que es ampliamente biodisponible también oralmente, pero sólo por esta razón se vuelve particularmente dañino para el organismo, requiriendo un control constante de los niveles hemáticos.

Por lo tanto, si el compuesto polihidroxilado que se desea utilizar para formar el complejo con el hierro contiene algunos grupos terminales reductores, tal como un azúcar aldohexosa, puesto que tales grupos pueden desestabilizar el complejo, es necesario que el grupo aldehído, también en forma semiacetal, sea transformado en un grupo estable que pueda contribuir a la formación y estabilización del complejo con el Fe^{+++} . Las transformaciones más adecuadas del grupo terminal aldehído son la reducción a un grupo de alcohol o la oxidación a un grupo carboxi. Esta operación se llama "activación" de azúcar.

Besemer et al., (*Starch/Stärke* 46 (1994) páginas 419-422) describe la oxidación de almidón a almidón dicarboxi y de inulina a inulina dicarboxi con bromuro de sodio e hipoclorito de sodio a pH 9. También de Nooy et al., (*Synthesis*, (10), 1153-1174, 1996) describe un procedimiento para la oxidación de algunos derivados de azúcar con bromuro de potasio acuoso e hipoclorito de sodio acuoso.

Besemer et al, (*Starch/ Stärke* 46 (1994) n° 3, páginas 95-101) hace referencia a la oxidación de almidón a almidón dicarboxi con hipoclorito en una cantidad estequiométrica y bromuro como el catalizador y a la oxidación parcial de maltodextrinas y dextrinas lineales con una cantidad menos que estequiométrica de hipoclorito de sodio y bromuro como el catalizador. Besemer et van Bekkum, (*Recueil de Travaux Chimiques des Pays Bas*, 113 (9), páginas 398- 402, 1994) hace referencia a la oxidación de inulina a inulina dicarboxi con hipoclorito en la presencia de bromuro de sodio como el catalizador. Este mismo asunto es tratado en Besemer et al. (*Starch/ Stärke* 46 (1994) n° 3 páginas 101- 106), en cuanto a inulina y dextrinas lineales, que son oxidadas a dextrinas dicarboxi.

En Deary and Davies, *Carbohydrate Research* 309 (1998) páginas 17-29, se describe la oxidación de bromo de ciclodextrinas. El documento de patente WO2004/037865 muestra la oxidación de maltodextrinas con una solución de hipoclorito y con la presencia opcional de bromuro y el uso de tales maltodextrinas oxidadas para fabricar complejos de hierrocarbhidrato.

Las condiciones aplicadas a diversas síntesis descritas en las patentes no prevén una alteración del azúcar, sin embargo la formación del complejo es realizada en un ambiente básico a una temperatura elevada, por lo que en tales condiciones los grupos terminales pueden sufrir una modificación similar a la descrita por Cannizzaro para los aldehídos sometidos a dismutación en un ambiente básico. Sin embargo, en estas condiciones el azúcar mismo puede sufrir diferentes reacciones de degradación.

En muchas otras patentes se usa el azúcar previamente activado en un ambiente básico a una temperatura elevada. Estas condiciones, aunque sean menos destructivas que las precedentes, ya que la reacción tiene lugar en ausencia de hierro, llevan sin embargo a una mezcla en la que, junto con un azúcar en el que el grupo acetal está parcialmente oxidado a ácido y parcialmente reducido a alcohol, pueden obtenerse azúcares modificados e hidrolizados, como se puede asegurar por el color oscuro de la solución y el fuerte olor a caramelo.

Otras patentes informan de una activación de azúcar a través de oxidación con bromo, bromitos o cloritos que sin embargo representan reactivos de un manejo, preparación y almacenamiento difíciles. Además, es sabido que el uso de tales reactivos, si no se realiza en condiciones de pH, concentración y temperatura de reactivo controladas, puede llevar a reacciones de oxidación movidas con hidrólisis parcial del azúcar final.

3) La tercera condición, en caso de azúcares polisacáridos, es que el azúcar utilizado no debería contener fracciones de peso molecular muy bajo, ya que son capaces de acomplejar una gran cantidad de hierro pero son incapaces de asegurar la solubilidad del complejo. De hecho, fenómenos de gelificación de la solución o precipitación de un cuerpo inferior que efectivamente impide la administración parenteral del preparado pueden ocurrir en el tiempo en preparaciones con un elevado contenido de pesos moleculares muy bajos.

Generalmente, los complejos de hierro con azúcares activados mono- o disacáridos son estabilizados aumentando el pH e introduciendo en la preparación grandes cantidades de azúcar. Estos complejos tienen un pH de entre 8,0 y 12,0 y por lo tanto son administrados solamente de modo intravenoso. Los azúcares con pesos moleculares demasiado elevados también son dañinos para la formación del complejo con el hierro. Especialmente en el caso del dextrano, los pesos moleculares muy elevados pueden causar choque anafiláctico y aumentar la toxicidad general del complejo, sobre todo cuando se administra por vía parenteral.

Es por lo tanto necesario evaluar con gran atención los contenidos de pesos moleculares altos y bajos, y por esta razón hay algunas patentes que reivindican azúcares con pesos moleculares particulares o gamas de peso molecular.

Analizando el estado de la técnica es posible encontrar varias patentes que informan de diferentes sistemas de síntesis en los que las tres condiciones mencionadas anteriormente son rechazadas completa o parcialmente.

Muchas patentes informan, por ejemplo, de la síntesis de complejos hierro/polisacáridos empezando de hidróxido férrico aislado, tal como la patente US 4.180.567 en la que hidróxido férrico dializado y dextrano no activado, dextrinas o glucosa son utilizados como agentes complejadores, o la patente Fr 1.462.959, en la que hidróxido férrico y sorbitol son utilizados como agentes complejadores. También en la patente US 4.749.695 hidróxido férrico es reaccionado con dextrano a una temperatura elevada, mientras que en la patente GB 694.452 el hidróxido férrico aislado es reaccionado con azúcar de caña. El producto obtenido es precipitado y calentado en un horno de temperatura elevada, y tal síntesis lleva a productos no estandarizados y a veces incluso tóxicos.

Por el contrario, hay varias patentes que, para obtener los complejos en cuestión, usan sales de hierro trivalentes en una solución acuosa, entonces el azúcar es añadido elevando simultáneamente el pH y la temperatura. Si la elevación del pH se realiza de forma gradual, puede haber un reequilibrio entre todos los compuestos intermedios hidratados de forma variada del hierro, a saber, por ejemplo, empezando de tricloruro de hierro, aumentando lentamente el pH se obtiene un reequilibrio lento de FeCl_3 a FeCl_2OH entonces a $\text{FeCl}(\text{OH})_2$ a $\text{FeCl}(\text{OH})_3$ o FeOOH , dependiendo del pH final. Debería tenerse en cuenta que también otras formas intermedias de equilibrio son posibles, tales como $\text{NaFeCO}_3(\text{OH})_2$ si se utiliza carbonato de hidrógeno o carbonato para aumentar el pH. Como se ha mencionado anteriormente, el paso de obtención del hidróxido férrico, que siendo insoluble precipita junto con sus formas de equilibrio, es determinante. Un acusado aumento del pH lleva a la obtención de un hidróxido férrico que coprecipita con todos sus componentes de equilibrio, puesto que estos últimos no son capaces de reequilibrarse ellos mismos a favor del producto final, es decir, el hidróxido férrico.

En muchas patentes el azúcar no es activado antes de su reacción con el hidróxido férrico, pero debería mantenerse presente que los azúcares aldohexosa, incluso si tienen el grupo terminal aldehído en forma de semiacetal, cuando se someten a un fuerte calentamiento en un ambiente básico, pueden sufrir, aparte de una acción de demolición, también una reacción de dismutación al correspondiente ácido y alcohol. Esta dismutación es una activación del azúcar que, también no pretendida, hace el azúcar adecuado para la formación de un complejo estable con el hidróxido férrico. El lado negativo de estos métodos de síntesis es el producto final, que es una mezcla de productos que contienen hidróxido férrico más o menos complejo con azúcares al menos parcialmente descompuestos o modificados de una forma incontrolada. De hecho, resulta aparente que también realizando con cuidado estos pasos para la formación de los complejos, considerando las diferentes reacciones de hidrólisis, demolición y activación del azúcar que pueden ocurrir de una forma concomitante, es de esperar, por supuesto, que el producto final contenga complejos de hierro con diferentes especies de azúcares más o menos modificadas. Es típico de estos complejos el olor a caramelo que viene con el producto final en solución, significando que se ha obtenido una demolición parcial del mismo.

Por ejemplo, la patente BE 787662 se encuentra dentro de esta clase de patentes, ya que reivindica un método para la síntesis de complejos obtenidos reaccionando cloruro férrico hexahidratado en solución y un azúcar incluido en una dextrina, maltosa o glucosa de bajo peso molecular con un pH en el rango de 11,0-14,0 y a una temperatura de 90°C: durante la reacción, una mezcla de hidróxidos férricos se precipita y simultáneamente el azúcar es parcialmente hidrolizado y dismutado, a saber, también sufre un proceso que lleva a su activación que sin embargo, teniendo lugar en la presencia de hierro trivalente, puede llevar a un importante nivel de productos de hidrólisis.

Por lo tanto, con este tipo de proceso hay, por un lado, la aplicación de una metodología más simple, pero por otro lado, el proceso es variable tanto para la obtención de hidróxido férrico, que permanece parcialmente no disuelto al final de la reacción, como para la degradación/activación del azúcar. En la patente US 2.820.740 la metodología aplicada prevé una reacción entre el dextrano parcialmente hidrolizado y cloruro férrico o citrato férrico en la presencia de carbonato de sodio a una temperatura que varía entre 65 y 100°C. Permanece algo de hidróxido férrico, que no forma el complejo y que finalmente es filtrado y eliminado. Este residuo muestra que la reacción para obtener el hidróxido férrico ha sido realizada en condiciones incontroladas y, como se ha mencionado anteriormente, lleva a una mezcla polimorfa de hidróxido férrico.

En la patente GB 1.019.513, un azúcar despolimerizado, dextrano, es utilizado en el que el grupo terminal aldehído ha sido eliminado por reducción con NaBH_4 . El azúcar se volvió activado y es capaz de dar un complejo estable, incluso si es necesario eliminar completamente el boro debido a su toxicidad.

La sal férrica utilizada es el tricloruro férrico, al que una cierta cantidad de ácido cítrico, que es un agente complejador de hierro, es añadida.

En la patente US 2.885.393, dextrano despolimerizado es reaccionado y activado con una solución de cloruro férrico traída a pH de 2,3 con carbonato de sodio, calentando el conjunto a 65°C durante 30 minutos.

La patente US 4.180.567 reivindica la activación de azúcares bien a través de reducción con NaBH_4 bien a través de un tratamiento básico a pH 10,5-11,3 durante una hora a 95°C-100°C. Tales azúcares son reactivados con hidróxido férrico dializado a temperatura elevada, entonces la solución es concentrada y el cuerpo inferior es filtrado.

En la patente US 4.599.405 un dextrano con un peso molecular medio igual a 5000 daltones es reaccionado con tricloruro férrico después de que la solución salina ha sido llevada a pH 1,7 mediante la adición lenta de una solución Na_2CO_3 y subsiguientemente se añade NaOH hasta pH 11,0 durante 30 minutos. Una suspensión es formada que es calentada a 100°C durante alrededor de una hora. El sólido que no forma el complejo es eliminado mediante centrifugado y entonces el producto es aislado mediante precipitación con disolventes. También con este método hay la formación de una mezcla de compuestos de hierro hidratado que no forman complejos completamente solubles con los azúcares. Debería señalarse que la elevada temperatura utilizada en la formación del complejo, como se ha observado también para otras patentes, puede llevar a la degradación/activación parcial del sistema que puede ser señalado por el color negro de la solución obtenida y por el olor a caramelo.

En la patente US 6.291.440 un complejo obtenido entre hidróxido férrico y dextrano hidrogenado con un peso molecular entre 700 y 1400 daltones es reivindicado.

La purificación del dextrano es realizada por filtración de membrana con el fin de eliminar tanto los pesos moleculares elevados que son responsables de las reacciones anafilácticas como los pesos moleculares muy bajos que son responsables de la inestabilidad de los preparados.

La patente DK 129353 reivindica un método para formar el complejo entre hierro y un dextrano con un peso molecular máximo de hasta 50000 daltones, preferiblemente entre 1000 y 10000 daltones. El dextrano tiene los grupos terminales oxidados al correspondiente ácido, pero el método para obtener el mismo no es mostrado.

En la publicación de la solicitud de patente WO 00/30657 un dextrano de bajo peso es reivindicado, obtenido por hidrólisis a pH 1,5 y a 90°C. El dextrano es fraccionado por ultrafiltrado con un corte de 5000 daltones y después de la despolimerización, es ultrafiltrado más usando un corte entre 350-800 daltones, con el fin de eliminar los pesos muy bajos. Sobre el dextrano obtenido, una reducción con NaBH_4 es realizada para reducir alrededor del 15% de los grupos semiacetales terminales, y por lo tanto la oxidación con NaClO de los grupos terminales restantes es realizada. La reacción de formación del complejo es realizada a un pH de 1,6 cuando el cloruro férrico ha sido parcialmente neutralizado con carbonato de sodio. También para esta patente, no está claro por qué el azúcar, en este caso el dextrano, es añadido cuando más del 60% del cloruro férrico ya ha sido transformado en hidróxido férrico.

Resulta aparente que la presencia, desde el principio, del azúcar no sólo promueve la formación del complejo durante la transformación del cloruro férrico en hidróxido férrico, sino que promueve la completa transformación de la sal de hierro en hidróxido férrico impidiendo la precipitación del hierro hidratado parcialmente.

Finalmente, la patente EP 0150085 reivindica un dextrano con un peso molecular entre 2000 y 6000 daltones oxidado con clorito de sodio que, según los inventores, oxida de una forma específica el grupo terminal aldehído a diferencia de lo que se declara en la patente US 4.370.476 en la que el bromo es utilizado para la oxidación y también se declara que el hipobromito de sodio, bromito de sodio, cloro, yodo hipoclorito de sodio, clorito de sodio son del mismo modo efectivos en la oxidación de los grupos terminales del dextrano.

Sumario de la invención

La invención como se reivindica en la presente memoria es un proceso para la preparación de un complejo de hierro azúcar activado tal y como se especifica en la reivindicación 1.

Más en particular, la presente invención se refiere a un proceso para la preparación de un complejo de hierro azúcar activado que comprende la etapa de hacer reaccionar un azúcar que presenta un grupo terminal de aldehído con bromo en una solución a un pH entre 7,0 y 9,0, en el que

i) dicho azúcar es seleccionado de entre el grupo que consiste en maltodextrinas, y en el que

ii) dicho bromo es producido *in situ* a través de la adición de un hipoclorito de un metal alcalino o alcalinotérreo a dicha solución que comprende dicho azúcar que debe activarse y un bromuro de un metal alcalino o alcalinotérreo, siendo dicho hipoclorito añadido en cantidades estequiométricas respecto de los grupos terminales aldehídos, en el que dicho hipoclorito es añadido instante a instante, de manera que un exceso de hipoclorito en solución nunca está presente,

en el que, en una etapa siguiente, una sal de Fe (III) soluble en agua, siendo dicha sal tricloruro de hierro hexahidratado, se añade a la solución que contiene el azúcar activado en una relación de peso de hierro a azúcar desde 1:0.5 a 1:4 para reaccionar con dicho azúcar activado para formar un complejo de Fe(III)-azúcar activado,

en el que tras la adición de la sal de hierro a la solución que contiene el azúcar activado, el pH de la solución es controlado a un valor desde 2,3 a 2,7 añadiendo una solución de hidrogenocarbonato de sodio que contiene hidrogenocarbonato de sodio a 15% w/v de en un tiempo entre 1 y 6 horas,

en el que el pH de la solución es llevado posteriormente a un valor entre 8 y 12, a través de la adición de una solución de hidróxido de sodio, para proporcionar una solución que contiene el complejo de Fe(III)-azúcar activado, en el que el complejo de Fe(III)-azúcar activado es sometido a purificación por ultrafiltración,

con una membrana que presenta un corte entre 400 y 50.000 daltones para los azúcares polisacáridos,

en el que dicho complejo se estabiliza calentando la solución que contiene el mismo a una temperatura entre 75°C y 95°C durante un periodo entre 1 y 4 horas a un pH entre 9,0 y 12,0.

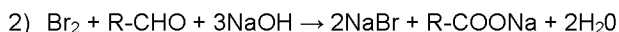
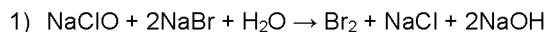
Descripción de la invención

El objetivo de la presente invención hace referencia a un proceso de producción de complejos de hierro trivalente con azúcares, seleccionados de entre el grupo que consiste en maltodextrinas. El proceso incluye diferentes pasos, el primero de los cuales consiste en la activación del azúcar. Es conocido desde hace tiempo que los azúcares que tienen un grupo terminal aldehído, también en forma de forma semiacetal, pueden ser oxidados a través de diferentes métodos usando bromo u otros reactivos, tales como bromitos, cloritos, hipocloritos, hipoyoditos o bromuros y halógenos gaseosos, tal como gas de cloro en un ambiente básico. Todos estos reactivos son o bien difíciles de manejar debido a su peligrosidad, véase bromo y cloro, o bien inestables, o producen reacciones de oxidación no específicas, oxidando aldehídos y alcoholes primarios.

En la patente GB 289280, sólo la oxidación de glucosa y galactosa es descrita, usando bromuros o ioduros y cloro en un ambiente fuertemente alcalino. La reacción es realizada a una temperatura inferior a 15°C para evitar que el bromuro formado se escape del ambiente. El cloro es añadido todo a la vez, esto significa que el ambiente mismo se vuelve saturado con cloro, o bien hipoclorito, y por lo que tanto el bromo que se origina de la oxidación del bromuro como el hipoclorito coexisten como oxidantes de azúcar. Esto impide una reacción limpia y concreta, ya que el hipoclorito es capaz de oxidar también el alcohol primario del carbón en posición-6 dando el ácido glutárico y al mismo tiempo puede hidrolizar los azúcares complejos, tales como los polisacáridos. En la patente US 6.498.269, se informa de la oxidación de azúcares complejos iguales en un ambiente fuertemente alcalino, a través de tratamiento con halógeno, generalmente cloro gaseoso, en la presencia de un catalizador del tipo haluro de oxiamonio, mediante la obtención de un diácido como producto principal.

Sorprendentemente, hemos encontrado que si se quiere usar el bromo como agente oxidante, su peligrosidad y dificultad de manejo son superados produciendo tal agente oxidante *in situ*, introduciendo un hipoclorito en vez de cloro gaseoso en la solución acuosa que contiene un bromuro metálico alcalino o alcalinotérreo y la maltodextrina, dicho hipoclorito siendo añadido en cantidades estequiométricas respecto de los grupos terminales aldehídos, y siendo añadido instante a instante, de forma que un exceso de hipoclorito en solución nunca está presente, a un pH de entre 7,0 y 9,0. La activación de la maltodextrina es realizada ventajosamente de forma industrial debido a la facilidad de manejo de los reactivos y a la repetibilidad de la reacción misma, ya que el agente oxidante es producido *in situ* tratando una pequeña cantidad de un bromuro metálico alcalino o alcalinotérreo con un hipoclorito

metálico alcalino o alcalinotérreo, preferiblemente hipoclorito de sodio a un pH en el rango de entre 7,0 y 9,0. De esta forma el manejo de los reactivos que requieren particulares precauciones, tales como el bromo, es evitado, y la reacción de activación es realizada además en condiciones controladas, de hecho la cantidad de bromuro utilizada está entre 0,5% y 5% por peso de la maltodextrina que debe ser activada, por lo tanto la cantidad de bromo que es formada y es encontrada en el ambiente de reacción durante la fase de activación es realmente baja respecto de la cantidad de maltodextrina que debe ser activada. La cantidad de bromo necesaria para la activación de la maltodextrina es producida instante a instante a partir de la adición del hipoclorito alcalino o alcalinotérreo, que es utilizado en una cantidad estequiométrica respecto del número de aldehídos según las reacciones.



Sorprendentemente, al contrario de lo que ocurre calentando la maltodextrina en un ambiente alcalino con la dismutación del grupo aldehído y la descomposición parcial concomitante de la maltodextrina, con nuestro método se obtiene una reacción unívoca y absolutamente limpia, con la oxidación específica del aldehído final.

De hecho, utilizando cantidades estequiométricas de hipoclorito respecto de los grupos terminales aldehído y añadiéndolo instante a instante, de forma que todo el hipoclorito añadido sólo sirve para la oxidación del bromo y un exceso de hipoclorito en solución nunca está presente, la oxidación específica del grupo aldehído es obtenida, manteniendo inalterada la restante estructura química de la maltodextrina utilizada. La reacción de oxidación es controlada a través del ajuste de pH. De hecho, ya que la formación ácida lleva a un descenso destacable del pH y el consumo de hipoclorito, es suficiente añadir el hipoclorito mismo de forma que el pH no descienda de 7,0 y el valor de 9,0 no sea excedido. Del espectro ^1H NMR que hace referencia a la oxidación de maltosa, mostrada en la figura 1 a efectos comparativos (no comprendida por la invención como se reivindica), puede señalarse la univocidad de la estructura obtenida tras la reacción de activación realizada según el método de la presente invención. Si por el contrario un exceso de hipoclorito también está presente, además del bromo en el ambiente de reacción, podrían ocurrir reacciones secundarias de oxidación que se relacionarían con otras partes del azúcar final y con fenómenos de despolimerización. Por lo tanto es importante mantener la reacción pH en el rango de entre 7,0 y 9,0, puesto que en este rango de pH el consumo de bromo tiene lugar a una velocidad elevada llevando a la oxidación del grupo terminal aldehído. Con azúcares polisacáridos, tales como maltodextrinas, la reacción de activación es realizada utilizando, para el cálculo estequiométrico, el peso molecular medio o más bien el valor equivalente de dextrosa, que muestra los equivalentes de glucosa correspondientes con los grupos terminales aldehídos. De esta forma, la reacción es realizada en condiciones estrictamente alcalinas y es de una repetibilidad simple. Si se añade una cantidad de hipoclorito alcalino o alcalinotérreo diferente de la cantidad estequiométrica, se puede obtener una activación de maltodextrina parcial, si una cantidad inferior de hipoclorito es utilizada, con consecuencias negativas sobre la estabilidad del complejo final, de otra forma, si un exceso estequiométrico de hipoclorito es utilizado, otra oxidación con demolición parcial del azúcar final puede obtenerse, además de la activación descrita. Además, en este último caso, una despolimerización de la maltodextrina misma con formación de oligómeros y pesos moleculares bajos puede obtenerse simultáneamente. En ambos casos, el producto final no es homogéneo, siendo una mezcla de azúcares con una estructura química diferente. La desventaja de utilizar una mezcla similar de maltodextrinas activadas es la obtención de complejos de hierro con estructuras y estabilidad no homogéneas.

En el ámbito de la presente invención, el bromuro preferido es bromuro de sodio y el hipoclorito preferido es hipoclorito de sodio.

El segundo paso del proceso hace referencia a la reacción de complejación de la maltodextrina activada con una sal propia de hierro trivalente soluble en agua; la sal preferida para la ejecución de la presente invención es el tricloruro de hierro hexahidratado en una solución acuosa concentrada. Para el buen resultado de la reacción de complejación es necesario mezclar inicialmente la maltodextrina activada con el tricloruro de hierro hexahidratado antes de aumentar el pH, de forma que la maltodextrina y el agua puedan inmediatamente estabilizar el hierro trivalente facilitando la reacción de hidratación completa del hierro. Esto se señala en que durante el paso de formación del hidróxido de hierro mediante la lenta adición de una base de metal alcalino, que es un carbonato de hidrógeno de sodio, el precipitado del hidróxido de hierro mismo nunca ocurre, y la reacción siempre aparece homogénea. Sólo en el caso del ácido glucónico (no comprendido por la presente invención), cuando se utiliza en una solución concentrada a un pH de entre 3,0 y 4,0, existe la precipitación del hidróxido férrico ya complejo por el azúcar, como de hecho para obtener la completa solubilización del precipitado es suficiente aumentar el pH entre 9,0 y 10,0. Este hecho es importante puesto que en ningún caso es precipitado un sólido ni se deja un cuerpo inferior, como en el caso de procesos en los que el azúcar es añadido después de incluso un aumento parcial de pH con el fin de obtener hidróxido férrico, o después de la complejación del hidróxido férrico aislado. La adición de sal férrica, que es de tricloruro de hierro hexahidratado, a la solución de maltodextrina activada tempranamente no lleva a fenómenos de despolimerización de la maltodextrina misma, incluso si el pH inicial es muy ácido, porque la temperatura de la solución es mantenida por debajo de los 60°C. Este paso es crítico, porque la velocidad de aumento del pH para la obtención del hidróxido férrico debe ser adecuada para realizar la reacción de hidratación

de hierro y al mismo tiempo promover la formación de un complejo inicial Fe-maltodextrina, para permitir la finalización de la reacción de hidratación del hierro mismo sin precipitación de hidróxido.

El tercer paso del proceso consiste en la purificación del complejo hidróxido férrico-maltodextrina, incluso si tal complejo aún no está estabilizado por calentamiento. Sorprendentemente, hemos descubierto que una vez que el pH de la solución inicial que contiene la maltodextrina activada y el hierro ha sido aumentado en el rango de entre 6,0 y 12,0, el complejo hidróxido férrico-maltodextrina, incluso si no está aún estabilizado, puede ser ultrafiltrado a través de una membrana con un corte adecuado. Este proceso permite eliminar todas las sales formadas durante la reacción de hidratación del hierro, obteniendo un compuesto que puede ser almacenado también durante un largo tiempo, esperando a ser sometido a las siguientes reacciones de estabilización.

Después de la purificación, el complejo hierro trivalente-maltodextrina es sometido al paso de estabilización del complejo, en el que está la modificación del hidróxido férrico en oxihidróxido férrico. Este tratamiento tiene lugar a una temperatura de entre 75°C y 95°C por un periodo de entre 1 y 4 horas a un pH de entre 9,0 y 12,0. El tratamiento de estabilización también puede ser realizado antes del tratamiento de purificación a través de ultrafiltrado, obteniendo el mismo resultado. En particular, esto ocurre en la producción del complejo de hierro trivalente con la glucosa activada (no comprendido por la presente invención).

Los complejos obtenidos de este modo y divididos en viales o botellas de cristal pueden ser sucesivamente esterilizados mediante calentamiento en autoclave a 125°C durante 30 minutos sin sufrir ninguna modificación de estabilidad del complejo final. Finalmente, antes de la división en viales, los complejos entre hidróxido férrico y maltodextrina pueden ser mezclados con otros azúcares en una proporción deseada resultando, en algunos casos, en una mayor estabilización del complejo.

Descripción detallada de la invención

El contexto de la presente divulgación se refiere a un proceso para la preparación de complejos de hierro trivalente (Fe^{3+}) con azúcares mono-, di- y polisacáridos, complejos caracterizados por una buena estabilidad fisicoquímica en el tiempo, baja toxicidad, seguridad en su uso también mediante inyección y una buena biodisponibilidad.

Siempre de acuerdo con la presente divulgación, dicho proceso, caracterizado por la facilidad y seguridad de su ejecución, consiste en cuatro pasos:

1. activación de un azúcar mono-, di- o polisacárido;
2. complejación del azúcar activado con hidróxido férrico generado en solución;
3. purificación del complejo hidróxido férrico/azúcar aún no estabilizado;
4. estabilización del complejo hidróxido férrico/azúcar.

Antes del contexto anterior, la invención como se reivindica en la presente memoria se refiere, más en particular, a un proceso para la preparación de un complejo de hierro azúcar activado que comprende la etapa de hacer reaccionar un azúcar que presenta un grupo terminal aldehído con bromo en una solución a un pH entre 7,0 y 9,0, en el que i) dicho azúcar es seleccionado de entre el grupo que consiste en maltodextrinas, y en el que ii) dicho bromo es producido *in situ* a través de la adición de un hipoclorito de un metal alcalino o alcalinotérreo a dicha solución que comprende dicho azúcar que debe activarse y un bromuro de un metal alcalino o alcalinotérreo, siendo añadido dicho hipoclorito en cantidades estequiométricas con respecto a los grupos terminales aldehídos, en el que dicho hipoclorito se añade instante a instante, de manera que un exceso de hipoclorito en la solución no está nunca presente, en el que, en un paso siguiente, una sal de Fe(III) soluble en agua, siendo dicha sal tricloruro de hierro hexahidratado, es añadida a la solución que contiene el azúcar activado en una relación de peso de hierro a azúcar desde 1:0.5 a 1:4 para reaccionar con dicho azúcar activado para formar un complejo Fe(III) -azúcar activado, en el que tras la adición de la sal de hierro a la solución que contiene el azúcar activado, el pH de la solución es controlado a un valor desde 2,3 a 2,7 añadiendo una solución de hidrogenocarbonato de sodio que contiene hidrogenocarbonato de sodio a 15% w/v de en un tiempo entre 1 y 6 horas, en el que el pH de la solución es llevado posteriormente a un valor entre 8 y 12, a través de la adición de una solución de hidróxido sódico, para proporcionar una solución que contiene el complejo Fe(III) -azúcar activado, en el que el complejo Fe(III) -azúcar activado es sometido a purificación por ultrafiltración, con una membrana que presenta un corte entre 400 y 50.000 daltones para los azúcares polisacáridos, en el que dicho complejo es estabilizado calentando la solución que contiene el mismo a una temperatura entre 75°C y 95°C durante un periodo entre 1 y 4 horas a un pH entre 9,0 y 12,0.

El proceso es completado con la posible mezcla del complejo obtenido con otros azúcares, una mezcla que imparte una mayor estabilización del complejo, y con el empaquetado de la medicina a través de filtración esterilizante, subdivisión de la solución en viales o botellas de cristal y esterilización final en autoclave a 125°C durante 30 minutos.

El azúcar utilizado en la ejecución de la presente invención es seleccionado de entre el grupo que consiste en: maltodextrinas.

La activación de la maltodextrina es realizada por oxidación con bromo naciente disolviendo la maltodextrina en agua purificada a una concentración de entre 10% y 50% por peso, basado en el peso de la solución, añadiendo un bromuro metálico alcalino o alcalinotérreo, preferiblemente bromuro de sodio, en una cantidad entre 0,5% y 5% por peso basado en el peso de la maltodextrina, trayendo el pH de la solución a un valor de entre 7,0 y 9,0, con hidróxido de sodio y añadiendo bajo agitación a una temperatura de entre 10°C y 60°C en un periodo de entre 2 y 4 horas una solución acuosa que contiene una cantidad pesada estequiométricamente de un hipoclorito metálico alcalino o alcalinotérreo, preferiblemente hipoclorito de sodio, respecto de los grupos terminales aldehídos existentes en la maltodextrina. Preferido en el ámbito de la invención son soluciones acuosas de hipoclorito de sodio que contienen alrededor del 12% por peso de cloro activo. A través de la reacción de activación de la maltodextrina, el valor pH es controlado y mantenido en el rango fijado, entre 7,0 y 9,0, ajustando la velocidad de adición del hipoclorito. Al final de la reacción, a la solución de maltodextrina activada se le añade bajo agitación una solución acuosa concentrada de una sal férrica, que es un tricloruro de hierro hexahidratado, a una temperatura de entre 15°C y 60°C, de forma que la relación de peso hierro trivalente/maltodextrina esté en el rango de entre 1:0,5 y 1:4. El tricloruro férrico hexahidratado grandemente soluble en agua es utilizado en la ejecución de la invención, con el que se pueden obtener soluciones acuosas muy concentradas, por ejemplo soluciones acuosas que contienen el 40% por peso de cloruro férrico.

Tras la adición de la solución de tricloruro de hierro hexahidratado, a la mezcla bajo constante agitación se añade una solución acuosa de carbonato de hidrógeno de sodio, a 15% w/v, en un periodo entre 1 y 6 horas con, para aumentar lentamente el pH nunca excediendo el valor entre 2,3 y 2,7.

Cuando se ha alcanzado este rango de pH, la agitación de la solución es continuada por un tiempo entre 15 y 60 minutos y solo subsiguientemente, en un tiempo entre una y dos horas, el pH de la solución es traída a valores de entre 8,0 y 12,0 mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido de sodio, preferiblemente a concentraciones de entre 15% y 30% w/w.

La solución del complejo hierro trivalente-maltodextrina obtenida de este modo es sometida a purificación con la eliminación de las sales y todos los productos con un peso molecular bajo, sometiéndola a un ultrafiltrado de membrana con un corte de entre 400 y 50000 daltones para los azúcares polisacáridos, es decir, las maltodextrinas.

El complejo hidróxido férrico-maltodextrina purificado de este modo es estabilizado mediante calentamiento de la solución que contiene el mismo a una temperatura de entre 75°C y 95°C por un tiempo de entre 1 y 4 horas a un pH de entre 9,0 y 12,0. La solución purificada y estabilizada puede ser almacenada durante largo tiempo en un ambiente enfriado y cuando se desee utilizarla para la preparación de especialidades médicas, ha de ser calentada a una temperatura de entre 60°C y 100°C, preferiblemente entre 75°C y 95°C por un tiempo de entre 3 y 6 horas y por lo tanto el producto final puede ser aislado de diferentes formas.

Por ejemplo, puede ser aislado en forma de polvo a través de pulverización o liofilización, después de haber ajustado, si es necesario, el pH de la solución a valores de entre 4,5 y 7,0. De otra forma, es posible añadir la solución del complejo estabilizado y purificado con otra cantidad de azúcar, también diferente de la presente en el complejo, que además estabiliza la solución, que puede ser dividida en viales o botellas de cristal que entonces son esterilizadas a 125°C durante 30 minutos, preferiblemente a 121°C durante 20 minutos, o puede ser liofilizada, obteniendo el producto final en forma de polvo.

En un ejemplo de realización ventajoso, el proceso para la preparación de complejos de hierro trivalente con azúcares seleccionados de entre el grupo que consiste en maltodextrinas incluye la activación de la maltodextrina. La maltodextrina es obtenida disolviendo la maltodextrina en agua purificada a una concentración de entre 10% y 50% por peso basado en el peso de la solución, añadiendo un bromuro metálico alcalino o alcalinotérreo en una cantidad de entre 0,5% y 5% por peso basado en el peso de la maltodextrina, trayendo el pH de la solución a un valor de entre 7,0 y 9,0 y añadiendo bajo agitación en un tiempo entre 2 y 4 horas a una temperatura de entre 10°C y 60°C, un hipoclorito metálico alcalino o alcalinotérreo en solución acuosa en una cantidad estequiométrica respecto de los grupos terminales aldehídos presentes en la maltodextrina.

Subsiguientemente, la complejación de maltodextrina activada es obtenida añadiendo la solución de maltodextrina activada bajo agitación a una temperatura de entre 15°C y 60°C, con una solución acuosa un tricloruro de hierro hexahidratado, de forma que la relación de peso de hierro a azúcar es de 1:0,5 a 1:4, añadiendo en un tiempo de entre 1 a 6 horas, una solución acuosa de 15% p/v de carbonato de hidrógeno de sodio con el fin de traer el pH a un valor de 2,3 a 2,7, manteniendo constante el pH en este rango de valores durante un tiempo de entre 15 y 60 minutos, y por lo tanto trayendo el pH a valores de entre 8,0 y 12,0 mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido de sodio.

Subsiguientemente, el complejo entre hidróxido férrico y maltodextrina es purificado mediante ultrafiltrado de la solución con una membrana que presenta un corte entre 400 y 50.000 daltones. Finalmente, el complejo es estabilizado por calentamiento de la solución ultrafiltrada a una temperatura de entre 75°C y 95°C por un tiempo entre 1 y 4 horas a un pH de entre 9,0 y 12,0.

Como se indica anteriormente, los azúcares son seleccionados de entre el grupo que consiste en maltodextrinas. El bromuro es preferiblemente bromuro de sodio. El pH de la reacción de la activación de la maltodextrina esté entre 7,0 y 9,0. El hipoclorito es preferiblemente hipoclorito de sodio y la sal férrica es tricloruro férrico hexahidratado. La temperatura de estabilización del complejo está entre 75°C y 95°C. El ultrafiltrado es realizado para las maltodextrinas con una membrana con un corte de 400 con el fin de eliminar las sales y con un corte en 30000 y 50000 daltones con el fin de eliminar los pesos moleculares bajos.

La figura 1 adjunta hace referencia a glucosa activada, mientras que la figura 2 adjunta hace referencia a glucosa como tal. Las figuras 1 y 2 se proporcionan a título comparativo y no están comprendidas por la invención como se reivindica.

Los siguientes ejemplos se proporcionan a título comparativo y no están comprendidos por la invención como se reivindica.

Ejemplo 1 [comparativo, no comprendido por la invención como se reivindica]

Preparación de gluconato férrico

Son disueltos 50 gramos de glucosa bajo agitación en 140 ml de agua purificada, y a la solución obtenida se le añaden 0,5 g de bromuro de sodio trayendo simultáneamente el pH de la solución a un valor de entre 7,0 y 9,0 con una solución de hidróxido de sodio.

Durante dos horas, 164 g de solución activa de hipoclorito de cloro y sodio 12% son añadidos, una cantidad correspondiente con un peso molar 1:1 respecto de la glucosa, manteniendo el valor pH entre 7,0 y 9,0 y, al final de la adición, el agitado es continuado durante otros 30 minutos.

El control de la ejecución conseguida es realizado a través de HPLC o a través de lecturas poliarimétricas. La oxidación de glucosa a ácido glucónico es obtenida, como puede ser verificado por el espectro ¹³C NMR mostrado en la figura 1.

La solución de ácido glucónico es traída a una temperatura entre 16°C y 20°C y es añadida con 416 g de una solución de tricloruro férrico 40% a 40% por peso (relación hierro/azúcar = 1:0,87 w/w). El agitado es continuado para una completa homogeneización de la solución y en alrededor de dos horas se añade una solución de carbonato de sodio 15% w/v hasta traer el pH a un valor de entre 2,3 y 2,7.

Una vez que se ha alcanzado dicho valor, la solución es mantenida bajo agitación por un tiempo de 30 minutos controlando que el pH permanezca entre 2,3 y 2,7. Subsiguientemente, con una solución de hidróxido de sodio a 15% w/v, el pH es traído a $11,0 \pm 0,5$ durante 1 hora, y durante el aumento del pH entre 3,0 y 4,0 la formación de un precipitado compuesto de complejo hidróxido férrico-ácido glucónico ocurre, que tiende a solubilizar mientras que el pH aumenta hasta una completa solubilización a un pH por encima de 9,0.

Se obtiene una solución de color marrón que no tiene ningún sólido en suspensión y es traída a la temperatura de $85 \pm 2^\circ\text{C}$ y mantenida bajo estas condiciones durante 2 horas. Al final de la reacción de estabilización del complejo, la solución obtenida es purificada de las sales a través de un sistema de ultrafiltrado equipado con una membrana con un corte de 3000 daltones.

La solución resultante purificada de las sales, traída a un pH de $10,5 \pm 5$, puede ser almacenada en un ambiente enfriado y antes de su uso farmacéutico, es de nuevo calentada a una temperatura de $90 \pm 2^\circ\text{C}$ durante un periodo de 4 horas. El gluconato férrico es aislado mediante pulverización, obteniendo un rendimiento mayor de 85%, computado en el hierro inicial.

Las características fisicoquímicas del complejo son las siguientes:

- peso molecular medio (Mw) = 43347 daltones
- peso molecular numérico (Mn) = 30495 daltones
- polidispersibilidad = 1,4
- contenido Fe^{3+} = 48,6%

Los pesos moleculares han sido determinados utilizando un método de cromatografía de permeación en gel, descrito en la página 1065 por United States Pharmacopoeia (USP) edición 28, que utiliza 2 columnas en series TOSO HAAS columna TSK-GEL G5000PW_{XL} 30 cm x 7.8 cm ID + columna TOSO HAAS TSK-GEL 2500 PW_{XL} 30 cm x 7.8 cm ID y dextranos con un peso molecular medio conocido Mw como un estándar, y con los siguientes pesos moleculares en la parte superior del pico, expresados en daltones: 4440, 9890, 21400, 43500, 66700, 123500, 196300, 276500.

Ejemplo 2 [comparativo, no comprendido por la invención como se reivindica]

Preparación de gluconato férrico

El complejo de gluconato férrico puede ser obtenido utilizando la misma metodología del ejemplo 1, partiendo de ácido glucónico y cloruro férrico comercial.

Son disueltos 24,5 gramos de gluconato de sodio en 120 ml de agua purificada y a la solución obtenida se le añaden 205 g de una solución de cloruro férrico 40% wt (relación hierro/azúcar = 1: 0.87 w/w), manteniendo bajo agitación hasta una completa homogeneización de la mezcla de reacción es alcanzada.

La temperatura de solución es traída entre 16°C y 20°C y durante 2 horas se añade una solución de carbonato de sodio 15% w/v, para traer el pH de la solución a valores entre 2,3 y 2,7.

Cuando se ha alcanzado dicho valor, la solución es mantenida bajo agitación por un periodo de 30 minutos, controlando que el pH permanezca entre 2,3 y 2,7.

Subsiguientemente, con una solución de hidróxido de sodio 15% w/v el pH es traído a $11,0 \pm 0,5$ durante 1 hora, durante este paso con un pH entre 3,0 y 4,0 existe la formación de un precipitado, formado por un complejo hidróxido férrico ácido glucónico que solubiliza mientras que el pH es aumentado hasta una completa solubilización a un pH por encima de 9,0.

Se obtiene una solución de color marrón que no tiene sólidos en suspensión y es traída a la temperatura de $85 \pm 2^\circ\text{C}$ y mantenido bajo estas condiciones durante dos horas. Al final de la reacción de estabilización del complejo, la solución obtenida es purificada de sales a través de un sistema de ultrafiltrado equipado con una membrana de corte de 3000 daltones.

La solución resultante purificada de sales, traída a un pH de $10,5 \pm 5$, puede ser almacenada en un ambiente refrigerado y, antes de su uso farmacéutico, es calentada de nuevo a una temperatura de 90°C por un periodo de 4 horas. El gluconato férrico es aislado como tal mediante liofilización, obteniendo un rendimiento por encima del 85% computado sobre el hierro inicial. Las características fisicoquímicas del complejo, con los pesos moleculares determinados según la metodología descrita en el ejemplo 1 son las siguientes:

- peso molecular medio (Mw) = 53745 daltones
- peso molecular numérico (Mn) = 30976 daltones
- polidispersibilidad = 1,7
- contenido Fe^{3+} = 48,5%

Ejemplo 3: [comparativo, no comprendido por la invención como se reivindica]

Preparación del complejo hidróxido férrico/ maltosa.

Son disueltos 60 gramos de maltosa en 200 ml de agua purificada, a la solución obtenida de este modo 0,6 g de bromuro de sodio son añadidos y el pH de la solución es traída a un valor de entre 7,0 y 9,0 con una solución acuosa de hidróxido de sodio.

Durante dos horas, 98,5 g de hipoclorito activo de cloro y sodio 12% son añadidos, correspondientes con la cantidad estequiométrica respecto de los grupos terminales aldehídos, manteniendo el valor pH entre 7,0 y 9,0. Al final de la adición, la agitación es continuada durante 30 minutos y el control de la activación conseguida es realizado a través de HPLC detectando la relación de maltosa y maltosa activada residual.

A la solución de maltosa activada, traída a una temperatura de entre 16°C y 20°C , se le añaden 257 g de un 40% wt (relación hierro/azúcar = 1:1,7 w/w) continuando la agitación hasta una completa homogeneización de la mezcla de reacción. Por lo tanto, a la solución obtenida se le añade una solución de carbonato de sodio 15% w/v durante tres horas, para traer lentamente el pH a un valor de entre 2,3 y 2,7.

Cuando se ha alcanzado este valor, la solución es mantenida bajo agitación y en estas condiciones durante 15 minutos, comprobando que el valor pH permanece entre 2,3 y 2,7, y por lo tanto el valor pH es traído a $10,5 \pm 0,5$ durante 1 hora, añadiendo una solución de hidróxido de sodio 15% w/v. La precipitación de hidróxido de hierro nunca ocurre, ni siquiera en forma de un complejo. La solución obtenida es purificada de las sales a través de un sistema de ultrafiltrado equipado como una membrana con un corte de 3000 daltones.

La solución resultante purificada de las sales es traída a un pH de $11,5 \pm 0,5$ y calentada a una temperatura de $75^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante un periodo de 2 horas, entonces el complejo es aislado mediante liofilización.

Las características fisicoquímicas del complejo, con los pesos moleculares determinados según la metodología descrita 10 en el ejemplo 1, son las siguientes:

- peso molecular medio (Mw) = 53655 daltones.
- peso molecular numérico (Mn) = 35988 daltones -polidispersibilidad = 1,5
- contenido Fe^{3+} = 41,4%

Ejemplo 4: [comparativo, no comprendido por la invención como se reivindica]

Preparación del complejo hidróxido férrico-lactosa

Son disueltos 50 gramos de lactosa en 250 ml de agua purificada y a la solución obtenida se le añaden 0,5 g de bromuro de sodio trayendo el pH a un valor entre 7,0 y 9,0 con una solución de hidróxido de sodio. Durante dos horas, 98,5 g de hipoclorito de sodio cloro activo 12% son añadidos, correspondientes con la cantidad estequiométrica respecto de los grupos terminales aldehídos, manteniendo el valor pH entre 7,0 y 9,0. Al final de la adición, la agitación es continuada durante 30 minutos y el control de la activación conseguida es realizado a través de HPLC detectando la relación lactosa y lactosa activada residual.

A la solución de lactosa activada, traída a una temperatura de entre 16°C y 20°C , se le añaden 300 g de una solución de cloruro de hierro 40% wt (relación hierro/ azúcar = 1:1,7 w/w) continuando la agitación hasta una completa homogeneización de la mezcla de reacción. Por lo tanto, a la solución obtenida se añade una solución de carbonato de sodio 15% w/v durante tres horas, para traer lentamente el pH a un valor de entre 2,3 y 2,7.

Cuando se ha alcanzado este valor, la solución es mantenida bajo agitación y en estas condiciones durante 15 minutos, comprobando que el valor pH permanezca entre 2,3 y 2,7, y por lo tanto el valor pH es traído a $10,5 \pm 0,5$ durante 1 hora, añadiendo una solución de hidróxido de sodio 15% w/v. La precipitación del hidróxido de hierro nunca ocurre, ni siquiera en forma de un complejo.

La solución obtenida es purificada de las sales a través de un sistema de ultrafiltrado equipado con una membrana con un corte de 3000 daltones.

La solución resultante purificada de las sales es traída a un pH de $11,0 \pm 0,5$ y calentada a una temperatura de $75 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante un periodo de 2 horas y después del enfriamiento y corrección del valor pH a 7, la sustancia activa es aislada mediante pulverización.

Las características fisicoquímicas del complejo, los pesos moleculares determinados según la metodología descrita en el ejemplo 1, son las siguientes:

- peso molecular medio (Mw) = 65571 daltones
- peso molecular numérico (Mn) = 40669 daltones
- polidispersibilidad = 1,6
- contenido Fe^{3+} = 49,6%

Ejemplo 5 [comparativo, no comprendido por la invención como se reivindica]

Preparación del complejo hidróxido férrico-polimaltosa

Son disueltos 70 gramos de maltodextrinas, caracterizadas por un valor de equivalentes dextrosa igual a 19, en 200 ml 45 de agua purificada y se añaden a la solución obtenida 1,4 g de bromuro de sodio.

El pH de la solución es llevado a un valor de entre 7,0 y 9,0 con una solución de hidróxido de sodio y durante 2 horas, 48,66 g de hipoclorito de sodio cloro activo 12% w/v son añadidos, manteniendo el pH dentro de los límites

fijados. Al final de la adición, la agitación es continuada durante 30 minutos y la activación conseguida es controlada a través de la técnica HPLC-GPC.

5 A la solución de maltodextrina activada, traída a una temperatura de entre 16°C y 20°C, se le añaden 300 g de una solución de cloruro de hierro 40% w/v (relación hierro/azúcar = 1:1,7 w/w) y la agitación es continuada hasta una completa homogeneización de la mezcla de reacción.

10 Durante un periodo de 5 horas, una solución acuosa de carbonato de sodio 15% w/v, requerida para traer el pH a un valor de entre 2,3 y 2,7, es añadida bajo agitación, y cuando se ha alcanzado este valor la solución es mantenida en 10 estas condiciones durante 15 minutos, comprobando que el valor pH permanezca entre 2,3 y 2,7.

Con una solución de hidróxido de sodio 15% w/v el pH es traído a un valor de $9,0 \pm 0,5$ durante 1 hora. La precipitación del hidróxido de hierro nunca ocurre, ni siquiera en forma de un complejo.

15 La solución obtenida es purificada de las sales a través de un sistema de ultrafiltrado equipado con una membrana con un corte de 30000 daltones.

20 La solución resultante es calentada a la temperatura de $92 \pm 2^\circ\text{C}$ durante un tiempo de 3 horas y a un pH de $10,8 \pm 0,2$.

La solución enfriada es traída a pH $6,0 \pm 0,5$ y entonces el producto es aislado en el estado seco a través de pulverización.

Las características fisicoquímicas del complejo son las siguientes:

- 25
- peso molecular medio (Mw) = 167319 daltones
 - peso molecular numérico (Mn) = 69319 daltones
- 30
- polidispersibilidad = 2,4
 - contenido Fe^{3+} = 34,8%

35 Los pesos moleculares han sido de terminados utilizando el método de cromatografía de permeación en gel que utiliza una columna TOSO HAAS modelo columna TSK-GEL G5000PW_{XL} 30 cm x 7,8 cm ID y, como un estándar, dextranos con los siguientes pesos moleculares medios Mw expresados en daltones: 48600, 80900, 147600, 273000, 409800, 667800.

40 **Ejemplo 6 [comparativo, no comprendido por la invención como se reivindica]**

Preparación del complejo hidróxido férrico-dextrano

45 Son disueltos 17,5 gramos de dextrano, con un peso molecular medio de entre 2000 y 7800, en 65 ml de agua purificada y a la solución obtenida se le añaden 0,34 g de bromuro de sodio. La solución es calentada a 50°C y el pH es traído a un valor de entre 7,0 y 9,0 con una solución de hidróxido de sodio.

50 Son añadidos 4,14 g de hipoclorito sodio cloro activo 12% w/v (2 mMoles), correspondiendo con el doble de los moles dextrano con un peso molecular medio de 5000 daltones durante dos horas, manteniendo el valor pH entre 7,0 y 9,0.

A la solución dextrano activada traída a la temperatura de 40°C o 30°C, se le añaden 75 g de una solución de cloruro de hierro 40% w/v (relación hierro/azúcar = 1:2 w/w), continuando la agitación hasta una completa homogeneización de la mezcla de reacción.

55 Una solución acuosa de carbonato de sodio 15% w/v requerida para traer el pH a un valor de entre 2,3 y 2,7 es añadida durante dos horas, y cuando se ha alcanzado dicho valor, la mezcla de reacción es mantenida bajo estas condiciones durante 30 minutos, controlando que el pH permanezca constante.

60 Con una solución acuosa de hidróxido de sodio 15% w/v, el valor pH es traído a $11,5 \pm 0,2$ durante 1 hora y la solución obtenida es calentada a $95 \pm 2^\circ\text{C}$ durante tres horas y treinta minutos, por lo tanto, después del enfriamiento, es purificada de las sales a través de un sistema de ultrafiltrado equipado con una membrana con un corte de 400 daltones, con el fin de eliminar las sales contenidas.

65 Una vez desalada, la solución es mantenida a un pH de $11,0 \pm 0,2$, calentada a la temperatura de $95 \pm 2^\circ\text{C}$ por un periodo de al menos 5 horas y por lo tanto enfriada a temperatura ambiente. El pH de la solución es traído al valor de $6,0 \pm 0,2$ y después de la adición de fenol, almacenada en contenedores estériles.

La sustancia activa puede ser también aislada por pulverización. El rendimiento de reacción es mayor de 85% respecto del hierro inicial.

5 Las características fisicoquímicas del complejo, con los pesos moleculares determinados según la metodología descrita en el ejemplo 5, son las siguientes:

- peso molecular medio (Mw) = 226392 daltones
- 10 - peso molecular numérico (Mn) = 125590 daltones
- polidispersibilidad = 1,8
- contenido Fe^{3+} = 36,7%

15 Ejemplo 7

Preparación de complejo hidróxido férrico-dextrano [comparativa, no comprendida por la invención como se reivindica]

20 Son disueltos 17,5 gramos de dextrano, con un peso molecular medio entre 2950 y 7800, en 65 ml de agua purificada y a la solución obtenida se le añaden 0,34 g de bromuro de sodio. La solución es calentada a 50° C y el pH es traído a un valor entre 7,0 y 9,0 con una solución de hidróxido de sodio.

25 Son añadidos 4,14 g de hipoclorito de sodio cloro reactivo 12% w/v correspondiendo con el doble de los moles dextrano con un peso molecular medio de 5000 daltones durante dos horas, manteniendo el valor pH entre 7,0 y 9,0.

30 A la solución dextrano activado, traída a la temperatura de 50°C, se le añaden 42,4 g de una solución de cloruro de hierro 40% w/v (relación hierro/azúcar = 1:3 w/w) continuando la agitación hasta una completa homogeneización de la mezcla de reacción.

35 Una solución acuosa de carbonato de sodio 15% w/v, requerida para traer el pH a un valor de entre 2,3 y 2,7 es añadida durante un periodo de entre dos y cinco horas, y cuando se ha alcanzado dicho valor, la mezcla de reacción es mantenida bajo estas condiciones durante treinta minutos controlando que el pH permanezca constante.

40 Con una solución acuosa de hidróxido de sodio 15% w/v, el valor pH es traído a $11,5 \pm 0,2$ durante una hora y la solución obtenida es purificada de las sales a través de un sistema de ultrafiltrado equipado con una membrana con un corte de 400 daltones: en este caso, sólo las sales existentes son eliminadas, no el exceso no reaccionado de dextrano. Si la eliminación de todo el dextrano no complejoado es deseada, entonces es necesario utilizar una membrana con un corte de 50000 daltones.

45 Una vez desalada, la solución es mantenida a un pH de $11,5 \pm 0,2$, calentada a la temperatura de $95 \pm 2^\circ\text{C}$ por un periodo de al menos 5 horas y por lo tanto enfriada a temperatura ambiente. El pH de la solución es traído al valor de $6,0 \pm 0,2$ y por lo tanto la sustancia activa es aislada mediante pulverización. El rendimiento de reacción es mayor de 85% respecto del hierro inicial.

50 Si se desea mantener la sustancia activa en una solución, se añade fenol y el almacenamiento es realizado a 20°C en contenedores estériles.

55 Las características fisicoquímicas del complejo, con los pesos moleculares determinados según la metodología descrita en el ejemplo 5, son las siguientes:

- peso molecular medio (Mw) = 205127 daltones
- peso molecular numérico (Mn) = 151276 daltones
- polidispersibilidad = 1,4

60 Ejemplo 8 [comparativo, no comprendido por la invención como se reivindica]

65 Preparación del gluconato férrico estabilizado con sacarosa A la solución de gluconato férrico estabilizada y purificada de las sales, obtenida según los procedimientos descritos en los ejemplos 1 y 2, se le añaden 806 g de sacarosa bajo agitación, una cantidad con la que la relación hierro / sacarosa = 1: 15,6 es alcanzado.

La solución obtenida de este modo es liofilizada, dando el gluconato férrico estabilizado con sacarosa.

Ejemplo 9 [comparativo, no comprendido por la invención como se reivindica]

Preparación del complejo hidróxido férrico/maltosa estabilizado con sacarosa

5

A la solución que contiene el complejo hidróxido férrico / maltosa activada, después de la purificación y estabilización realizadas según el procedimiento descrito en el ejemplo 3, se le añaden 458 g de sacarosa bajo agitación, una cantidad con la que la relación hierro/sacarosa igual a 1:15 es alcanzada. La solución obtenida de

10

este modo es liofilizada dando el complejo estabilizado de hidróxido férrico-maltosa en una forma sólida.

REIVINDICACIONES

1. Proceso para la preparación de un complejo de hierro azúcar activado que comprende el paso de reactivar un azúcar que presenta un grupo terminal aldehído con bromo en una solución a un pH de entre 7,0 y 9,0,

en el que

i) dicho azúcar es seleccionado de entre el grupo que consiste en maltodextrinas, y en el que

ii) dicho bromo es producido *in situ* a través de la adición de un hipoclorito de un metal alcalino o alcalinotérreo a dicha solución que comprende dicho azúcar que debe activarse y un bromuro de un metal alcalino o alcalinotérreo, siendo dicho hipoclorito añadido en cantidades estequiométricas respecto de los grupos terminales aldehídos, en el que dicho hipoclorito es añadido instante a instante, de manera que un exceso de hipoclorito en solución nunca está presente,

en el que, en un paso siguiente, una sal de Fe (III) soluble en agua, siendo dicha sal tricloruro de hierro hexahidratado, se añade a la solución que contiene el azúcar activado en una relación de peso de hierro a azúcar desde 1:0.5 a 1:4 para reaccionar con dicho azúcar activado para formar un complejo de Fe(III)-azúcar activado,

en el que tras la adición de la sal de hierro a la solución que contiene el azúcar activado, el pH de la solución es controlado a un valor desde 2,3 a 2,7 añadiendo una solución de hidrogenocarbonato de sodio que contiene hidrogenocarbonato de sodio a 15% w/v en un tiempo entre 1 y 6 horas,

en el que el pH de la solución es llevado posteriormente a un valor entre 8 y 12, a través de la adición de una solución de hidróxido de sodio, para proporcionar una solución que contiene el complejo de Fe(III)-azúcar activado, en el que el complejo de Fe(III)-azúcar activado es sometido a purificación por ultrafiltración, con una membrana que presenta un corte entre 400 y 50.000 daltones para los azúcares polisacáridos,

en el que dicho complejo se estabiliza calentando la solución que contiene el mismo a una temperatura entre 75°C y 95°C durante un periodo entre 1 y 4 horas a un pH entre 9,0 y 12,0.

FIG 1

[COMPARATIVA]

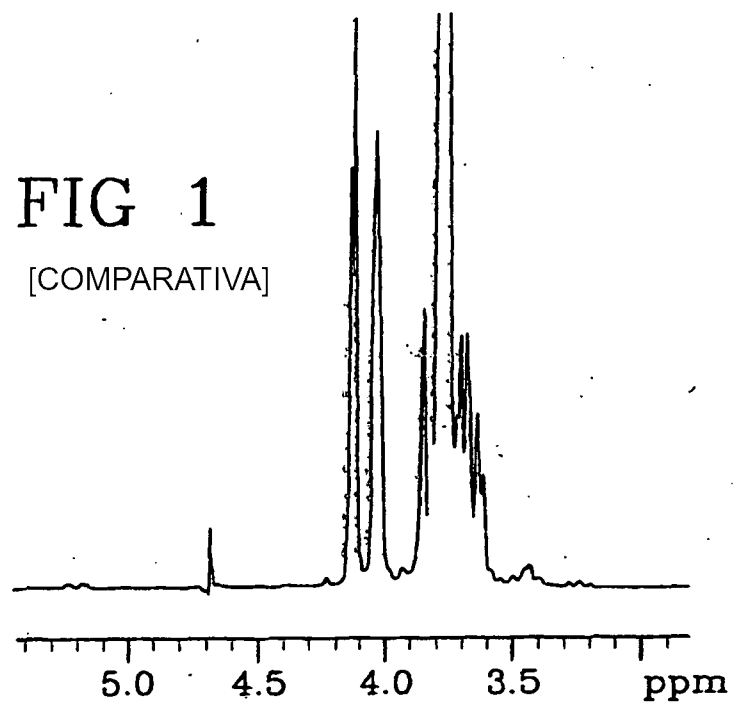


FIG 2

[COMPARATIVA]

