

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7645331号
(P7645331)

(45)発行日 令和7年3月13日(2025.3.13)

(24)登録日 令和7年3月5日(2025.3.5)

(51)国際特許分類

F I

C 0 8 B 37/10 (2006.01)

C 0 8 B 37/10

請求項の数 11 外国語出願 (全14頁)

(21)出願番号	特願2023-175399(P2023-175399)	(73)特許権者	517176375
(22)出願日	令和5年10月10日(2023.10.10)		バイオロジカル イー リミテッド
(62)分割の表示	特願2020-543148(P2020-543148)		インド国 5 0 0 0 2 0 テランガーナ、
	)の分割		ハイデラバード、アザマバード 1 8 /
原出願日	平成31年2月14日(2019.2.14)		1 アンド 3
(65)公開番号	特開2023-178347(P2023-178347	(74)代理人	110000855
	A)		弁理士法人浅村特許事務所
(43)公開日	令和5年12月14日(2023.12.14)	(72)発明者	チンタクンタ、バムシー クリシュナ
審査請求日	令和5年10月24日(2023.10.24)		インド 5 0 0 0 2 0 テランガーナ、
(31)優先権主張番号	201841005592		ハイデラバード、アザマバード、1 8 /
(32)優先日	平成30年2月14日(2018.2.14)		1 アンド 3、バイオロジカル イー リ
(33)優先権主張国・地域又は機関	インド(IN)	(72)発明者	ミテッド
			ベデューラ、マノハール サルマ
			インド 5 0 0 0 2 0 テランガーナ、ハ
			イデラバード、アザマバード、プロット
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

(a) ヘパリンナトリウム水溶液を、酸の存在下、ヘパリンナトリウムに対して 2 . 5 ~ 3 . 5 重量%の亜硝酸ナトリウム水溶液で解重合するステップと、

(b) ステップ (a) で得られた生成物をヘパリンナトリウムの重量に対して 2 . 0 モル当量以下の還元剤で還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

(c) ステップ (b) で得られた前記粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

(d) ステップ (c) で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

(e) ステップ (d) で得られた前記沈殿物を水に溶解し、波長 2 5 4 n m および出力 4 ~ 4 0 W の紫外線照射に 1 0 秒 ~ 6 0 秒間供するステップと、

(f) ステップ (e) で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含む方法。

【請求項 2】

前記解重合が、2 . 0 ~ 4 . 0 の範囲の p H で行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記酸が塩酸、酢酸または硫酸である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記還元剤が水素化ホウ素ナトリウム、水素化ホウ素カリウムまたは水素化ホウ素リチウムである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記還元が室温で 1.0 ～ 3.0 時間行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記凍結乾燥が、ステップ (e) で得られた前記ダルテパリンナトリウム溶液にアルコールを添加することによって行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記アルコールが、ステップ (e) で使用される前記水に対して 5 ～ 15 体積%の濃度である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記アルコールがエタノールである、請求項 6 または請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

(a) ヘパリンナトリウム水溶液を、pH 2 ～ 4 の塩酸の存在下、5 ～ 10 °C の温度で、ヘパリンナトリウムに対して 2.5 ～ 3.5 重量%の亜硝酸ナトリウム水溶液で解重合するステップと、

(b) ステップ (a) で得られた生成物をヘパリンナトリウムの重量に対して 1.5 ～ 2.0 モル当量の水素化ホウ素ナトリウムで還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

(c) ステップ (b) で得られた前記粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

(d) ステップ (c) で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

(e) ステップ (d) で得られた前記沈殿物を水に溶解し、波長 254 nm および出力 4 ～ 40 W の紫外線照射に 10 秒 ～ 60 秒間供するステップと、

(f) ステップ (e) で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、純粋な粉末形態の、10 ppm 未満の N-NO 含有量を有するダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含む方法。

【請求項 10】

ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

(a) ヘパリンナトリウム水溶液を、pH 2 ～ 4 の塩酸の存在下、5 ～ 10 °C の温度で、ヘパリンナトリウムに対して 2.5 ～ 3.1 重量%の亜硝酸ナトリウム水溶液で解重合するステップと、

(b) ステップ (a) で得られた生成物をヘパリンナトリウムの重量に対して 1.5 ～ 2.0 モル当量の水素化ホウ素ナトリウムで還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

(c) ステップ (b) で得られた前記粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

(d) ステップ (c) で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

(e) ステップ (d) で得られた前記沈殿物を水に溶解し、波長 254 nm および出力 4 ～ 40 W の紫外線照射に 10 秒 ～ 60 秒間供するステップと、

(f) ステップ (e) で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含み、

いずれのクロマトグラフィー精製ステップも伴わない方法。

【請求項 11】

UV 照射が、1 つまたは複数の UV ランプが組み込まれた連続光化学反応器で行われる、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、全体が参照により本明細書に組み込まれる、2018年2月14日に出願されたインド仮特許出願番号201841005592に対する優先権の利益を主張するものである。

【0002】

本発明は、ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法に関する。

【背景技術】

【0003】

一般に「血液希釈剤」と呼ばれる抗凝固剤は、急性の動脈および静脈の血栓性障害の予防および治療のための主力療法として役立っている。未分画ヘパリンおよび低分子量ヘパリン(LMWH)は、有効で安全でかつより便利のため、長期療法専用の抗凝固剤として使用されている。各市販のLMWHは、粘膜ヘパリンの独自の化学的または酵素的解重合から調製される。

【0004】

ダルテパリンナトリウムは、このようなLMWHの1つであり、フィブリノーゲンをフィブリンに変換する主要な凝固原であるトロンビンの間接的阻害を介して作用する強力な抗凝固剤である。ダルテパリンナトリウムは、Fragmin(登録商標)の商品名で販売されている。

【0005】

ダルテパリンナトリウムは、ブタ腸粘膜からのヘパリンナトリウムの制御された亜硝酸解重合と、それに続くクロマトグラフィー精製方法によって生成され、

・それらの鎖の非還元末端に2-O-スルホ- α -L-イドピラノースウロン酸(idopyranosuronic acid)および還元末端に6-O-スルホ-2,5-アンヒドロ-D-マンニトール

を含有し、

・質量平均相対分子質量は、5600~6400ダルトン(Da)に及び、特徴的な値は約6000Daであり、

・硫酸化度は、二糖単位当たり2.0~2.5であり、

・抗第Xa因子は、110IU/mg以上210IU/mg以下であり、

・抗第IIa因子は、35IU/mg以上100IU/mg以下であり、

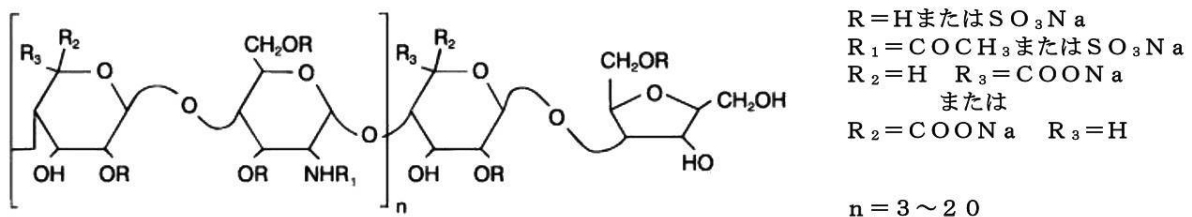
・抗第Xa因子活性の抗第IIa因子活性に対する比は1.9~3.2

である。

【0006】

ダルテパリンナトリウムは以下に示されるように構造的に表される：

【化1】



【0007】

ダルテパリンナトリウムは、国際公開第80/01383号パンフレットおよび米国特許第4,303,651号明細書で最初に開示され、亜硝酸によるヘパリンナトリウムの解重合によって、または過ヨウ素酸酸化とそれに続く水素化ホウ素ナトリウム還元によって調製される。亜硝酸および水素化ホウ素ナトリウムを使用すると、亜硝酸塩(NO_2^-)、N-ニトロソ(N-NO)化合物および元素状ホウ素が最終生成物の不純物として生

成される。N－NO含有量についての限度は欧州薬局方（P h . E u r）で指定されていないが、亜硝酸塩およびホウ素の許容限度に関するP h . 要件は非常に厳しい。E u r モノグラフでは、潜在的遺伝毒性不純物に対する警告部分構造があるため、この不純物を制御する必要がある。工業規模でのダルテパリンナトリウムの製造は、これらの試薬の大量の取り扱いを伴うため、ダルテパリンナトリウムの品質を維持すると同時に、規制要件を満たすために、これらの不純物を制御する必要がある。

【表 A】

不純物の P h . E u r 限度		
NO ₂ ⁻ (p p m)	N－NO (p p m)	ホウ素 (p p m)
5	指定されていない	1

10

【0008】

薬局方要件を満たすために、様々な解重合、還元、単離および精製手順を使用してダルテパリンナトリウムを調製するいくつかの方法が知られている。例えば、水性媒体中での亜硝酸によるヘパリンナトリウムの解重合（米国特許第4,500,519号明細書）；ヘパリンの制御された解重合とそれに続くアルコール沈殿または精製（米国特許第5,019,649号明細書、欧州特許第0014184号明細書および欧州特許第0076279号明細書）；ヘパリンの制御された解重合とそれに続く熱処理またはマイクロ波処理（欧州特許第1773890号明細書）；過マンガン酸塩を使用したヘパリンの酸化による、グリコセリン含有量が減少したLMWHの調製（米国特許出願公開第2008/0318328号明細書）。さらに、特に精製技術が異なるダルテパリンナトリウム調製方法を開示した、例えば中国特許第101942038号明細書；中国特許第102558393号明細書；中国特許第103232558号明細書；中国特許第101942038号明細書；中国特許第102558393号明細書；中国特許第104045743号明細書；中国特許第104045744号明細書；中国特許第104098716号明細書；中国特許第105884934号明細書；中国特許第105440160号明細書；中国特許第106317258号明細書；中国特許第106699929号明細書；中国特許第106986954号明細書；中国特許第107141373号明細書；中国特許第107236057号明細書などのいくつかの中国特許または特許出願が存在する。

20

30

【0009】

先行技術の方法は、より大量の亜硝酸ナトリウムおよび水素化ホウ素ナトリウムの利用を伴い、それにより、これらの試薬のために生成された不純物を除去するために追加のステップおよび／またはクロマトグラフィー精製が必要となる。さらに、文献の手順は、N－NO基を制御するために、解重合およびUV照射への長時間の曝露（20～30分間など）中に高温を利用する、または熱処理もしくはマイクロ波処理を使用するが、これらは、製造中には実行できず、最終生成物の収率および品質に影響を与える可能性がある。

【0010】

さらに、高出力ランプによる長時間またはUV波長が254ナノメートル（nm）未満のUV照射により、熱、オゾンガスが発生し、結果として生成物に色が付く。

40

【0011】

本出願人らは、UVランプを生成物溶液に10分超曝露／挿入することによって実施されたUV反応が、小規模ではN－NO含有量の減少を示すが、より高い規模では再現性がないことを発見した。

【0012】

したがって、1つまたは複数の先行技術の方法の欠点の1つまたは複数を克服する、ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法が必要とされている。さらに、生成物の色の問題に対処し、商業規模で実施される場合にN－NO含有量を制御するためのシステ

50

ムおよび／または装置が要求され得る。

【発明の概要】

【0013】

本発明は、ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

(a) ヘパリンナトリウムを、酸の存在下、2.5～3.5重量%の亜硝酸ナトリウムで解重合するステップと、

(b) ステップ(a)で得られた生成物を2.0モル当量以下の還元剤で還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

(c) ステップ(b)で得られた粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

(d) ステップ(c)で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

(e) ステップ(d)で得られた前記沈殿物を水に溶解し、波長254nmおよび出力4～40Wの紫外線照射に10秒～8分間供するステップと、

(f) ステップ(e)で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含む方法を提供する。

【0014】

この改善された方法は、ダルテパリンナトリウムの調製のために効率的で、費用対効果が高く、かつ工業的に実現可能である。さらに、本発明は、薬局方の基準によって設定された限度を下回る亜硝酸塩(NO_2^-)、N-NOおよびホウ素不純物を有するダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】本方法で使用される光化学反応器の図である。

【発明を実施するための形態】

【0016】

本開示の方法をより詳細に記載する前に、方法は記載される特定の実施形態に限定されず、よって当然変化し得ることが理解されるべきである。本方法の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるため、本明細書で使用される用語は特定の実施形態を説明することのみを目的としており、限定することを意図していないことも理解されるべきである。

【0017】

範囲の値が提供される場合、文脈上明らかにそうでないと指示されていない限り、下限の単位の10分の1まで、その範囲の上限と下限の間のそれぞれの介在値、および他の明言される値またはその明言される範囲内の介在値が、本方法の範囲内に包含されると理解される。これらのより小さな範囲の上限および下限は、独立により小さな範囲に含まれてもよく、また明言される範囲内の任意の具体的に除外された限度を条件として、本方法内に包含される。明言される範囲が限度の一方または両方を含む場合、含まれる限度のいずれかまたは両方を除外した範囲も本方法に含まれる。

【0018】

数値の前に「約」という用語がある一定の範囲が本明細書で提供される。「約」という用語は、本明細書において、それが先行する正確な数、ならびにその用語が先行する数に近いまたは近似の数を文字通り支持するために使用される。数が具体的に列挙された数に近いまたは近似であるかどうかを決定する際に、近いまたは近似の非列挙数は、それが提示される状況で、具体的に列挙された数の実質的な等価物を提供する数であり得る。

【0019】

「含んでいる」または「含む」という用語は、本発明に必須であるが、必須であろうとなかろうと指定されていない要素の包含を受け入れる組成物、方法、およびそのそれぞれの1つまたは複数の構成要素に関して使用される。

【0020】

「反応器」という用語は、システム、モデル、装置または機器に関して使用される。

【0021】

一実施形態では、本発明は、ダルテパリンナトリウム、より具体的には薬局方の基準によって設定された限度を下回る亜硝酸塩 (NO_2^-)、 $\text{N}-\text{NO}$ およびハウ素不純物を有するダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法を提供する。

【0022】

本発明は、ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

(a) ヘパリンナトリウムを、酸の存在下、2.5～3.5重量%の亜硝酸ナトリウムで解重合するステップと、

(b) ステップ(a)で得られた生成物を2.0モル当量以下の還元剤で還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

(c) ステップ(b)で得られた粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

(d) ステップ(c)で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

(e) ステップ(d)で得られた前記沈殿物を水に溶解し、波長254nmおよび出力4～40Wの紫外線照射に10秒～8分間供するステップと、

(f) ステップ(e)で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含む方法を提供する。

【0023】

前記方法を列挙される順序で行うことによって、このようにして得られたダルテパリンナトリウムが、分子量分布、 NO_2^- イオン含有量、 $\text{N}-\text{NO}$ 含有量およびハウ素含有量に関して薬局方および品質の要件を満たすことが分かった。

【0024】

ヘパリンナトリウムは亜硝酸を使用して解重合される。亜硝酸は直接添加することができる、あるいは制御された量の酸および亜硝酸の誘導体を使用してその場で生成することもできる。適切な酸は、塩酸、酢酸、硫酸、およびより好ましくは塩酸から選択され得る。亜硝酸の適切な誘導体は、塩、エーテル塩、またはより好ましくはアルカリもしくはアルカリ土類塩であり得る。好ましい実施形態では、亜硝酸の塩、水溶性塩、より好ましくは、亜硝酸ナトリウム (NaNO_2) などのアルカリ塩が使用される。解重合中、亜硝酸塩はヘパリンの N -硫酸基と反応して不安定な N -ニトロソ化合物を中間体として形成し、次いで、これが分子内で環化して2,5-アンヒドロ-D-マンノースを形成する。

【0025】

ヘパリンナトリウム溶液の解重合は、ヘパリンナトリウムに対して2.5重量%～3.5重量%、好ましくは2.5重量%～3.1重量%の亜硝酸ナトリウムの存在下、5～35℃の範囲の温度で、好ましくは5℃～15℃の温度で実施される。解重合ステップは、塩酸を使用することによって、2.0～4.0の範囲のpHで実施される。亜硝酸ナトリウムを最適な量で使用することが重要である。亜硝酸ナトリウムの量が2.5%未満では、解重合が不完全になる可能性があり、亜硝酸ナトリウムの量が3.5%を超えると、解重合が過剰になる可能性がある。これらの方法のいずれかで得られた生成物は、平均分子量および分布の公的要件を満たさない場合がある。

【0026】

還元末端に2,5-アンヒドロ-D-マンノースのアルデヒド基を有する解重合ヘパリンは、2,5-アンヒドロ-D-マンニトールに還元される。本発明による還元は、水素化ハウ素ナトリウム、カリウムまたはリチウムなどの還元剤を使用して行われる。好ましい実施形態では、還元剤が水素化ハウ素ナトリウムである。還元で使用される水素化ハウ素ナトリウムの量は、ヘパリンナトリウムの重量に対して2.0モル当量以下である。還元は、室温で約1.0～3.0時間、より好ましくは約1時間行われる。水素化ハウ素ナトリウムの最適量は、ハウ素不純物を低レベルに制限するのに有益で、精製ステップを最小限に抑えるのに役立つ。

10

20

30

40

50

【0027】

次いで、ステップ（c）によると、粗ダルテパリンナトリウムの単離は、ステップ（b）で得られた生成物を水に5～35℃の範囲の温度で溶解し、引き続いて塩化ナトリウムを添加することによって行われる。この後、ステップ（d）で、粗ダルテパリンナトリウムを、水およびアルコールを含む溶媒混合物中で攪拌し、濾過してダルテパリンナトリウムの沈殿物を得る。使用されるアルコールは、メタノール、エタノール、イソプロパノールなどから選択される。

【0028】

さらに別の実施形態では、本発明は、上記で得られたダルテパリンナトリウム沈殿物を水に溶解することによって調製されたダルテパリンナトリウムの溶液を紫外線照射に供することを含む、ステップ（e）によるN－NO含有量の効率的な除去を提供する。照射時間は、使用する照射システム、放射線の出力、および生成物溶液から除去されるN－NO含有量の量に依存する。好ましくは、紫外線照射システムは4～40Wのランプを備え、ダルテパリン溶液は254nmのUV放射に10秒～8分間曝露される。UV照射システムとして、ダルテパリンナトリウムの溶液のUV放射線源への曝露を可能にする閉鎖型または開放型装置のいずれかを想定することが可能である。

【0029】

一定の実施形態では、UV照射が、1つまたは複数のUVランプを備えた任意の光化学反応器（例えば、UV光化学反応器）で行われ得る。一定の実施形態では、光化学反応器は、1つまたは複数のUVランプが組み込まれた連続光化学反応器であり得る。さらなる実施形態では、当技術分野で知られている任意のUV光化学反応器が使用され得る。さらに他の実施形態では、光化学反応器は、石英シースが取り付けられたUVランプで構成される。ダルテパリンナトリウムを含有する溶液は、石英シースによって保護されたUVランプの周囲を循環する。本方法で使用される光化学反応器の例示的な例を図1に示す。

【0030】

別の実施形態では、ステップ（f）による本方法は、凍結乾燥ステップを含む。凍結乾燥ステップは、ステップ（e）で得られた溶液にアルコールを添加して、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得ることを含む。凍結乾燥は、当技術分野で知られている手順を使用して行われる。アルコールは、メタノール、エタノール、イソプロパノールなどを含む群から選択される。一定の実施形態では、凍結乾燥は、ステップ（e）で使用される水に対して5～15体積%の濃度のアルコールを使用して行われる。先行技術に記載されているように水のみが使用される場合、残留水分を伴うケーキとしてダルテパリンナトリウムが生成される。ケーキの硬度は、凍結乾燥パラメータの変化に応じて変化し、自由流動粉末を得るためには、製粉などの粉末処理ステップが必要である。一方、本発明によって調製されるダルテパリンナトリウムは、良好な肌理、改善された安定性および低い有機揮発性不純物（OVI）含有量を有する。

【0031】

好ましい実施形態では、本発明は、ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

（a）ヘパリンナトリウムを、酸の存在下、2.5～3.5重量%の亜硝酸ナトリウムで解重合するステップと、

（b）ステップ（a）で得られた生成物を2モル当量以下の水素化ホウ素ナトリウムで還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

（c）ステップ（b）で得られた粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

（d）ステップ（c）で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、（e）ステップ（d）で得られた前記沈殿物を水に溶解し、波長254nmおよび出力4～40Wの紫外線照射に10秒～8分間供するステップと、

（f）ステップ（e）で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含む方法を提供する。

【0032】

さらに別の実施形態では、本発明は、ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

(a) ヘパリンナトリウムの水溶液を、pH 2～4の塩酸水溶液の存在下、5～10℃の温度で、ヘパリンナトリウムに対して2.5～3.1重量%の亜硝酸ナトリウム水溶液で解重合するステップと、

(b) ステップ(a)で得られた生成物を1.5～2.0当量の水素化ホウ素ナトリウムで還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

(c) ステップ(b)で得られた粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

(d) ステップ(c)で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

(e) ステップ(d)で得られたダルテパリンナトリウムの沈殿物を水に溶解し、波長254nmおよび出力4～40Wの紫外線照射に10秒～8分間供するステップと、

(f) ステップ(e)で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含む方法を提供する。

【0033】

さらに別の実施形態では、本発明は、ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

(a) ヘパリンナトリウムの水溶液を、pH 2～4の塩酸水溶液の存在下、5～10℃の温度で、2.5～3.1%の亜硝酸ナトリウム水溶液で解重合するステップと、

(b) ステップ(a)で得られた生成物を1.5～2.0当量の水素化ホウ素ナトリウムで還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

(c) ステップ(b)で得られた粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

(d) ステップ(c)で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

(e) ステップ(d)で得られた沈殿物を水に溶解し、波長254nmおよび出力4～40Wの紫外線照射に10秒～8分間供するステップと、

(f) ステップ(e)で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含み、

いずれのクロマトグラフィー精製ステップも伴わない方法を提供する。

【0034】

一定の実施形態では、方法が連続法またはバッチ法である。さらなる実施形態では、方法が任意の光化学反応器で行われ得る。上記の任意の光化学反応器が方法に使用され得る。

【0035】

先行技術の方法に対する本発明の利点は以下の通りである：

1. 少量の亜硝酸ナトリウム、
2. 最適量の水素化ホウ素ナトリウムの使用、それによってクエンチの必要性が回避され、より少量の元素状ホウ素が形成される、

3. 254nm波長光を生成し、UV照射の持続時間を短縮し、ダルテパリンナトリウムへの色の形成を制御するための熱がない、再現性のための一体型連続フローUV反応器の使用、

4. 時間のかかる、高価で、厄介なクロマトグラフィー技術を使用するのではなく、単純なアルコール沈殿による生成物の単離、

5. 凍結乾燥中のアルコールの使用により、ダルテパリンナトリウムが遊離粉末として得られ、それによって追加の製粉ステップを回避する。

【0036】

例

以下の例は、本発明を例示するために提供され、単に例示目的のためのものにすぎず、本発明の範囲を限定すると解釈されるべきではない。

【0037】

比較例1：

ヘパリンナトリウム（5.0 g）を精製水に溶解し、5℃～10℃で塩酸水溶液を使用して溶液のpHを2～4に調整した。亜硝酸ナトリウム溶液（2.2%）を反応塊に添加し、攪拌した。次いで、水酸化ナトリウムでpHを8～10に調整し、引き続いて、水素化ホウ素ナトリウム（1.5当量）を添加し、反応塊を16時間保持した。過剰の水素化ホウ素ナトリウムを塩酸でクエンチした。得られた混合物を水酸化ナトリウムで中和し、引き続いて塩化ナトリウムで飽和させた。生成物をメタノールと攪拌し、沈殿させ、濾過し、乾燥させて、粗ダルテパリンナトリウムを得た。粗生成物を精製水に溶解し、塩化ナトリウムで飽和させ、メタノールと攪拌して生成物を沈殿させた。得られた沈殿物を濾過し、真空下で乾燥させて、分子量分布プロファイルが重量平均分子量の薬局方要件を満たせないダルテパリンナトリウムを得た（表1）。収量2.84 g。

10

【0038】

比較例2：

ヘパリンナトリウム（10.0 g）を精製水に溶解し、5℃～10℃で塩酸を使用して溶液のpHを2～4に調整した。亜硝酸ナトリウム溶液（3.5%）を反応塊に添加し、攪拌した。次いで、水酸化ナトリウムでpHを8～10に調整し、引き続いて、水素化ホウ素ナトリウム（1.5当量）を添加し、反応塊を16時間保持した。過剰の水素化ホウ素ナトリウムを塩酸でクエンチした。得られた混合物を水酸化ナトリウムで中和し、引き続いて塩化ナトリウムで飽和させた。生成物をメタノールと攪拌し、沈殿させ、濾過し、乾燥させて、粗ダルテパリンナトリウムを得た。例1に記載される手順に従って粗生成物をさらに処理して、重量平均分子量の薬局方要件を満たせない分子量分布プロファイルを有するダルテパリンナトリウムを得た（表1）。収量：3.4 g

20

【0039】

例3：

ヘパリンナトリウム（80 g）を精製水に溶解し、5℃～10℃で塩酸を使用して溶液のpHを2～4に調整した。亜硝酸ナトリウム溶液（2.8%）を反応塊に添加し、攪拌した。次いで、水酸化ナトリウムでpHを8～10に調整し、引き続いて水素化ホウ素ナトリウム（4.23当量）を添加し、反応塊を16時間そこで保持し、30%過酸化水素による漂白に供した。過剰の水素化ホウ素ナトリウムを塩酸でクエンチした。得られた混合物を水酸化ナトリウムで中和し、引き続いて塩化ナトリウムで飽和させた。得られた塊をメタノールと攪拌し、沈殿させ、濾過し、乾燥させて、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得た。沈殿した生成物（29 g）を精製水に溶解し、溶液を254 nmのUV光（4 W）に5分間曝露した。反応塊を塩化ナトリウムで飽和させ、生成物をメタノール沈殿、続いてメタノール洗浄によって単離した。得られた固体化合物を濾過し、真空下で乾燥させ、精製水に溶解し、0.45 μm、引き続いて0.22 μmの濾過膜を通して濾過し、凍結乾燥させて、重量平均分子量の薬局方要件を満たす分子量分布プロファイルを有するダルテパリンナトリウムを得た（表1）。収量：33.4 g。

30

40

【0040】

例4：

ヘパリンナトリウム（50 g）を精製水に溶解し、5℃～10℃で塩酸を使用して溶液のpHを2～4に調整した。亜硝酸ナトリウム溶液（2.8%）を反応塊に添加し、ヨウ素デンプン紙によって陰性になるまで攪拌した。次いで、水酸化ナトリウムでpHを8～10に調整し、引き続いて水素化ホウ素ナトリウム（1.5当量）を添加し、反応塊を16時間保持した。得られた混合物を塩酸で中和し、30%過酸化水素で漂白し、引き続いて反応塊を塩化ナトリウムで飽和させた。得られた塊をメタノールと攪拌し、沈殿させ、濾過し、乾燥させて、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得た。沈殿した生成物（20 g）を精製水に溶解し、溶液を254 nmのUV光（8 W）に5分間曝露した。さらに、例

50

3に記載される手順に従って反応塊をさらに処理して、重量平均分子量の薬局方要件を満たす分子量分布プロファイルを有するダルテパリンナトリウムを得た（表1）。収量：21.6 g。

【0041】

例5：

ヘパリンナトリウム（250 g）を精製水に溶解し、5℃～10℃で塩酸を使用して溶液のpHを2～3に調整した。亜硝酸ナトリウム溶液（3.0%）を反応塊に添加し、攪拌した。水酸化ナトリウムで反応塊のpHを9～10に調整し、引き続いて水素化ホウ素ナトリウム（2.0当量）を添加し、1時間攪拌した。反応塊を、カーボンパッドを通して濾過し、水で洗浄した。塩酸で反応塊のpHを7.0に調整し、次いで、30%過酸化水素100 mLを反応塊に添加し、30分間攪拌した。固体塩化ナトリウムを反応塊に添加し、生成物をメタノールで沈殿させた。得られた沈殿物を濾過し、追加量のメタノールで洗浄し、真空下で乾燥させて、粗ダルテパリンナトリウム生成物138 gを白色固体として得た。

【0042】

粗ダルテパリン135 gを25℃～30℃で精製水に溶解した。固体塩化ナトリウムを反応塊に添加し、生成物をメタノールで沈殿させた。残渣を水とアルコールの混合物中でさらに攪拌し、濾過し、追加量のメタノールで洗浄し、真空下で乾燥させて、ダルテパリン生成物の沈殿物110 gを白色固体として得た。

【0043】

得られた固体100 gを精製水に溶解し、室温未満に冷却した。溶液を、蠕動ポンプを通して、波長254 nmおよび出力8 WのUVランプを備えた一体型連続フロー反応器を通して40秒および60秒間循環させた。UV曝露後、反応塊を炭素で処理し、ミクロン濾過に供した。得られた溶液にアルコールを添加し、5～10分間攪拌した。溶液を凍結乾燥トレイに装填し、初期凍結（-5℃～-50℃、3～11時間）；一次乾燥（-50℃～25℃、15～50時間、真空（220～90 mTorr）および二次乾燥（25～40℃、2～5時間、220～90 mTorr真空）を含む凍結乾燥させた。収量：90 g。

【表1】

表1：ダルテパリン欧州薬局方（Ph. Eur）および例1～5で調製したダルテパリンナトリウムについての分子量分布および重量平均分子量

生成物	ダルテパリン(Ph. Eur)	例				
		1	2	3	4	5
平均Mw(Da)	5600～6400	6808	5490	5943	6110	5900
%MW<3,000Da	NMT 13	8.4	13.0	11.4	10.2	11.1
%MW>8,000Da	15～25	29.0	14.5	19.8	21.4	18.5

【0044】

分子量分布は、ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）によって決定される。表1の結果は、2.5～3.1%亜硝酸ナトリウム溶液を使用する本発明の解重合方法が、Ph. Eur分子量分布プロファイルを満たしたことを実証している。

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2：溶媒混合物処理の前後でのヘパリンナトリウムの解重合に使用される様々な量の水素化ホウ素ナトリウムによるホウ素含有量の変動（例 3～5）

例	NaBH ₄ （当量）	ホウ素含有量（ppm）	
		前	後
3	4.23 当量	12～16	2～3
5	2.0 当量	7～12	0.3～0.6
4	1.5 当量	3～5	0.3～0.5

10

【0045】

表 2 から明らかなように、本発明の還元方法、すなわち、1.5～2.0 モル当量を使用することにより、1 ppm より低いホウ素含有量を有するダルテパリンナトリウム（Ph. Eur）の調製が可能になる。

【表 3】

表 3：UV ランプ出力および曝露時間の変化によるダルテパリンナトリウムの N-NO 含有量の変動

S. No.	UV 実験条件	N-NO 含有量（ppm）
1.	Fragmin（登録商標）	10～18.2
2.	UV 曝露なし（例 1）	21.1
3.	5 分間の UV（4 W ランプ）曝露（例 3）	11.9
4.	5 分間の UV（8 W ランプ）曝露（例 4）	9.7
5.	40 秒間の UV（8 W）曝露（例 5）	< 2.0
6.	60 秒間の UV（8 W）曝露（例 5）	< 1.0

20

30

【0046】

表 3 に言及されるように、本発明によるダルテパリンナトリウムの調製は、UV 照射なしの Fragmin（登録商標）および試料について決定されたものよりも低い N-NO 含有量を有する生成物をもたらす。

本発明に包含され得る諸態様または諸実施形態は、以下のように要約される。

[1].

ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

（a）ヘパリンナトリウムを、酸の存在下、2.5～3.5 重量%の亜硝酸ナトリウムで解重合するステップと、

40

（b）ステップ（a）で得られた生成物を 2.0 モル当量以下の還元剤で還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

（c）ステップ（b）で得られた前記粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

（d）ステップ（c）で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

（e）ステップ（d）で得られた前記沈殿物を水に溶解し、波長 254 nm および出力 4～40 W の紫外線照射に 10 秒～8 分間供するステップと、

（f）ステップ（e）で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含む方法。

50

[2] .

前記解重合が、2 . 0 ~ 4 . 0 の範囲の pH で行われる、上記項目 1 に記載の方法。

[3] .

前記酸が塩酸、酢酸または硫酸である、上記項目 1 に記載の方法。

[4] .

前記還元剤が水素化ホウ素ナトリウム、水素化ホウ素カリウムまたは水素化ホウ素リチウムである、上記項目 1 に記載の方法。

[5] .

前記還元が室温で約 1 . 0 ~ 3 . 0 時間行われる、上記項目 1 に記載の方法。

[6] .

前記凍結乾燥が、ステップ (e) で得られた前記ダルテパリンナトリウム溶液にアルコールを添加することによって行われる、上記項目 1 に記載の方法。

[7] .

前記アルコールが、ステップ (e) で使用される前記水に対して 5 ~ 1 5 体積 % の濃度である、上記項目 6 に記載の方法。

[8] .

アルコールがエタノールである、上記項目 6 または上記項目 7 に記載の方法。

[9] .

ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

(a) ヘパリンナトリウムの水溶液を、pH 2 ~ 4 の塩酸の存在下、5 ~ 1 0 ° C の温度で、2 . 5 ~ 3 . 5 重量 % の亜硝酸ナトリウムで解重合するステップと、

(b) ステップ (a) で得られた生成物を 1 . 5 ~ 2 . 0 当量の水素化ホウ素ナトリウムで還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

(c) ステップ (b) で得られた前記粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

(d) ステップ (c) で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

(e) ステップ (d) で得られた前記沈殿物を水に溶解し、波長 2 5 4 nm および出力 4 ~ 4 0 W の紫外線照射に 1 0 秒 ~ 8 分間供するステップと、

(f) ステップ (e) で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、純粋な粉末形態の、限度内の N - N O 含有量を有するダルテパリンナトリウムを得るステップとを含む方法。

[1 0] .

ダルテパリンナトリウムを調製する改善された方法であって、

(a) ヘパリンナトリウムの水溶液を、pH 2 ~ 4 の塩酸の存在下、5 ~ 1 0 ° C の温度で、ヘパリンナトリウムに対して 2 . 5 ~ 3 . 1 重量 % の亜硝酸ナトリウム水溶液で解重合するステップと、

(b) ステップ (a) で得られた生成物を 1 . 5 ~ 2 . 0 当量の水素化ホウ素ナトリウムで還元して、粗ダルテパリンナトリウムを得るステップと、

(c) ステップ (b) で得られた前記粗ダルテパリンナトリウムを単離するステップと、

(d) ステップ (c) で得られた粗生成物を溶媒混合物中で攪拌して、ダルテパリンナトリウムの沈殿物を得るステップと、

(e) ステップ (d) で得られた前記沈殿物を水に溶解し、波長 2 5 4 nm および出力 4 ~ 4 0 W の紫外線照射に 1 0 秒 ~ 8 分間供するステップと、

(f) ステップ (e) で得られた溶液をアルコールの存在下で凍結乾燥させて、遊離粉末形態のダルテパリンナトリウムを得るステップと

を含み、

いずれのクロマトグラフィー精製ステップも伴わない方法。

[1 1] .

UV 照射が、1 つまたは複数の UV ランプが組み込まれた連続光化学反応器で行われる、上記項目 1 から 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

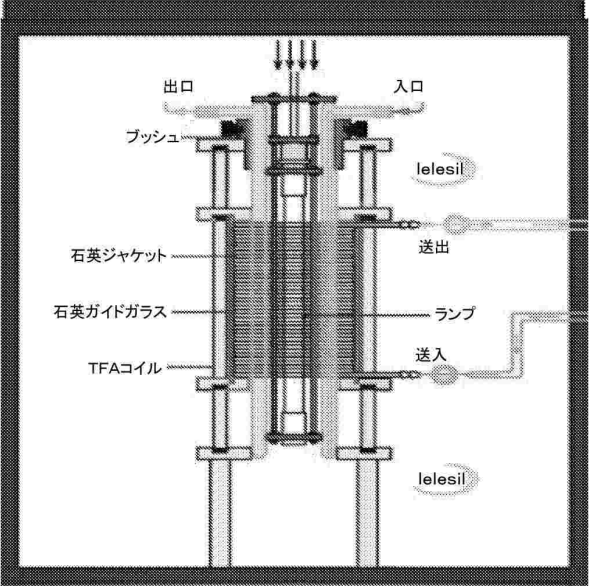
30

40

50

【図面】

【図 1】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- ナンバー 18/1 アンド 3、バイオロジカル イー リミテッド
- (72)発明者 マンテナ、ナレンデール デブ
インド 500020 テランガーナ、ハイデラバード、アザマバード、プロット ナンバー 18
/1 アンド 3、バイオロジカル イー リミテッド
- (72)発明者 カダボイナ、ラジャセクハール
インド 500020 テランガーナ、ハイデラバード、アザマバード、プロット ナンバー 18
/1 アンド 3、バイオロジカル イー リミテッド
- 審査官 中村 政彦
- (56)参考文献 特開2006-291028 (JP, A)
中国特許出願公開第104086673 (CN, A)
中国特許出願公開第104098716 (CN, A)
中国特許出願公開第103232558 (CN, A)
特開平07-126302 (JP, A)
中国特許出願公開第102558393 (CN, A)
中国特許出願公開第1880344 (CN, A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C08B 37/00
Caplus/REGISTRY (STN)