

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 210**

51 Int. Cl.:

C08B 37/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.12.2018** **PCT/IB2018/059863**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.06.2019** **WO19116217**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2018** **E 18852737 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2024** **EP 3724235**

54 Título: **Proceso para la preparación de heparina de bajo peso molecular**

30 Prioridad:

11.12.2017 IN 201741044415

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

25.11.2024

73 Titular/es:

BIOLOGICAL E LIMITED (100.0%)
18/1 & 3 Azamabad
Telangana, Hyderabad 500020, IN

72 Inventor/es:

VEDULA, MANOHAR SARMA;
KOSGI, SREEDHAR;
MANTENA, NARENDER DEV y
ARYASOMAYAJULA, RATNAKAR

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 989 210 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Proceso para la preparación de heparina de bajo peso molecular

5 Referencia cruzada a las solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de la India número 201741044415, presentada el 11 de diciembre de 2017.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de heparina de bajo peso molecular. Más específicamente, la presente invención se refiere a un proceso mejorado para la preparación de enoxaparina sódica.

15 Antecedentes de la invención

Las heparinas son agentes biológicamente activos, extraídos de fuentes naturales, y tienen valiosas propiedades anticoagulantes y antitrombóticas. En particular, son útiles en el tratamiento de la trombosis venosa posquirúrgica.

20 Las heparinas de bajo peso molecular se preparan ya sea por despolimerización química o enzimática de la heparina. Las heparinas de bajo peso molecular (LMW) que se aprueban y comercializan en diferentes países incluyen enoxaparina, dalteparina, nadroparina, pamaparina, tizaparina, bemiparina y certoparina.

25 La enoxaparina sódica se fabrica por Sanofi-Aventis y se vende en forma de inyección en los Estados Unidos y Europa, bajo el nombre comercial Lovenox® / Clexane® respectivamente. La enoxaparina sódica se prepara a partir de heparina sódica derivada de la mucosa intestinal porcina como material de partida, mediante despolimerización alcalina de la sal de éster bencílico de heparina. Existen diversos informes / patentes / publicaciones de patentes que describen la preparación de enoxaparina sódica. Por ejemplo, EP0040144, EP0337327, US5849721 y USRE38743 describe la preparación de enoxaparina sódica que comprende principalmente las etapas de:
30 preparación de heparinato de bencetonio, preparación de sal de sodio de éster bencílico de heparina y despolimerización alcalina de la sal de éster bencílico de heparina.

Además, las siguientes patentes/publicaciones de patente describen diversas modificaciones al método de
35 preparación de enoxaparina sódica para cumplir con los requisitos farmacopeicos tales como la formación de sal de bencetonio de heparina en una matriz sólida adsorbente inerte de material de filtración, o auxiliar de filtro, purificación de enoxaparina sódica con borohidruro para reducir las impurezas (EP1510528); producción de ésteres de heparina al minimizar el uso de contenido de cloruro de bencilo (US20030236221); uso de solvente diclorometano para la esterificación (CN100582123C, CN104086674B y CN104558252B); precipitación etanólica de éster bencílico de heparina (CN101974107B); precipitación etanólica de éster bencílico de heparina y blanqueo
40 mediante el uso de peróxido de hidrógeno a pH 10-11 (CN102050888B); concentración específica de hidróxido de sodio para la despolimerización (CN106432547A); métodos de purificación (CN100436483C, CN102040673B, CN102603925B, CN102924629B, CN103342761B y CN103804523B); el tratamiento previo con heparina sódica (CN106977627A); salificación a 50-60 °C, esterificación en DMF y DMSO, precipitación etanólica del éster bencílico de heparina (RU2512768C1); y lavar el producto de heparinato de bencetonio mediante el uso de ultrasonido,
45 precipitación metanólica de éster bencílico de heparina y eliminación de la protección de bencetonio en grupos sulfo con solución de acetato de sodio metanólico saturado (RU2670767C1).

Los procesos descritos en la técnica anterior describen que el grado de esterificación y despolimerización es crítico para obtener enoxaparina sódica con el peso molecular deseado y hay pérdida de rendimiento en cada etapa de la
50 preparación y también implica el uso de grandes cantidades de solventes. En los procesos de la técnica anterior, en la etapa de esterificación la masa de reacción se inactivó mediante la adición de acetato de sodio en solución de metanol para dar éster bencílico de heparina como una masa gruesa y dura que se adhiere a las paredes del reactor y las láminas de agitación, creando así dificultades en el aislamiento de la sal de sodio de éster bencílico de heparina, lo que hace que se presenten las dificultades operativas a escala comercial.

55 El documento US 2002/055621 A1 describe sales de metales alcalinos y alcalinotérreos de polisacáridos derivados de la heparina y sus métodos de preparación. El documento US 2002/055621 A1 describe la producción de heparina de bajo peso molecular (LMWH) a través de la transalificación de éster bencílico de heparina (sal de sodio) en una sal de amonio cuaternaria.

60 Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar un proceso mejorado que requiera un cuidado intenso en la etapa individual para mejorar el rendimiento de la enoxaparina sódica al reducir el contenido de impurezas y el uso de la cantidad mínima de reactivos, solventes, reduciendo de esta manera el costo de producción total.

65 Breve descripción de la invención

Los inventores han descubierto que la adición de agua a la mezcla de reacción que contiene éster bencílico de heparina da como resultado la precipitación de la masa de éster bencílico de heparina que se procesa fácilmente para una reacción posterior sin ninguna dificultad y el blanqueo de la enoxaparina sódica cruda con peróxido de hidrógeno a un pH de aproximadamente 9-10 da como resultado un producto que cumple con el requisito de color estándar. Este proceso es simple, comercialmente viable e industrialmente ventajoso. En consecuencia, la presente invención proporciona un proceso mejorado para la preparación de enoxaparina sódica, que comprende las etapas de:

- a) salificar heparina sódica con cloruro de bencetonio para formar heparinato de bencetonio,
- b) hacer reaccionar el heparinato de bencetonio obtenido en la etapa (a) con cloruro de bencilo en un solvente inerte para formar un éster bencílico de heparina crudo,
- c) añadir agua a la mezcla de reacción que contiene el éster bencílico de heparina crudo obtenido en la etapa (b) a una temperatura entre 0 °C y temperatura ambiente para obtener un precipitado de éster bencílico de heparina,
- d) añadir una solución alcohólica de acetato de sodio a la mezcla de reacción que contiene el precipitado de éster bencílico de heparina obtenido en la etapa (c) para aislar la sal de sodio de éster bencílico de heparina,
- e) despolimerizar la sal de sodio de éster bencílico de heparina obtenida en la etapa (d) con una base inorgánica para producir enoxaparina sódica cruda,
- f) blanquear la enoxaparina sódica cruda obtenida en la etapa (e) a un pH de 9-10 para obtener una enoxaparina sódica decolorada, y
- g) purificar la enoxaparina sódica decolorada.

Descripción de la invención

En una modalidad, la presente invención proporciona un proceso para la preparación de enoxaparina sódica, que comprende las etapas de:

- a) salificar heparina sódica con cloruro de bencetonio para formar heparinato de bencetonio,
- b) hacer reaccionar el heparinato de bencetonio obtenido en la etapa (a) en un solvente inerte con cloruro de bencilo para obtener éster bencílico de heparina crudo,
- c) añadir agua a la mezcla de reacción que contiene el éster bencílico de heparina crudo obtenido en la etapa (b) a una temperatura entre 0 °C y temperatura ambiente para obtener un precipitado de éster bencílico de heparina,
- d) añadir la solución alcohólica de acetato de sodio a la mezcla de reacción que contiene el precipitado de éster bencílico de heparina obtenido en la etapa (c) para aislar la sal de sodio de éster bencílico de heparina,
- e) despolimerizar la sal de sodio de éster bencílico de heparina obtenida en la etapa (d) mediante el uso de una base inorgánica para producir una enoxaparina sódica cruda,
- f) blanquear la enoxaparina sódica cruda obtenida en la etapa (e) a un pH de 9 a 10 para obtener una enoxaparina sódica decolorada, y
- g) purificar la enoxaparina sódica decolorada.

En ciertas modalidades, el heparinato de bencetonio puede prepararse mediante la interacción de un exceso estequiométrico del cloruro de bencetonio con heparina sódica, en un medio acuoso, a una temperatura de 20 °C a 40 °C.

Para la esterificación (etapa b), el solvente inerte usado para disolver la sal de bencetonio de heparina se selecciona de N, N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida (DMA), cloruro de metileno (DCM) y similares. La relación de heparinato de bencetonio, solvente inerte y cloruro de bencilo puede variar de 1: 2: 1 a 1:6:1. La reacción de la sal de bencetonio de heparina con cloruro de bencilo se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de temperatura ambiente a 70 °C durante un período de 1 a 20 horas, preferentemente a 30 a 55 °C durante 5 a 15 h. Como se usa en la presente descripción, el término "temperatura ambiente" significa temperatura en el intervalo de 18 °C y 35 °C.

Después de terminar la reacción, el éster bencílico de heparina obtenido de acuerdo con los procesos de la técnica anterior es una masa dura y pegajosa que es difícil de extraer del equipo de proceso y requiere grandes volúmenes de solución de acetato de sodio alcohólica, lo que resulta en una pérdida de rendimiento significativa.

De acuerdo con la presente invención, se encuentra sorprendentemente que la adición de pequeños volúmenes de agua a la mezcla de reacción que contiene el éster bencílico de heparina crudo da como resultado un sólido que se procesa fácilmente para una reacción posterior desde el equipo de proceso. La adición de agua supera las desventajas de los procesos de la técnica anterior de extracción y evita el uso de grandes volúmenes de solución de acetato de sodio alcohólica. Por lo tanto, hacer que la precipitación del producto de éster bencílico de heparina sea fácil, mejora el rendimiento y la calidad generales del producto. Por ejemplo, para 1 g de heparinato de bencetonio, se usan 2 a 6 ml de agua purificada para precipitar el éster bencílico de heparina.

En otra modalidad de la presente invención, la adición de agua a la mezcla de reacción que contiene el éster bencílico de heparina crudo obtenido en la etapa (b) se lleva a cabo a una temperatura de 0 a 25 °C durante 15

minutos a 4 horas. En una modalidad adicional, para 1 kg de éster bencílico de heparina crudo, se usa 7 litros de solución de acetato de sodio metanólico.

5 En una modalidad preferida, la adición de agua a la mezcla de reacción que contiene éster bencílico de heparina crudo se lleva a cabo a una temperatura de 10 a 20 °C.

En aún otra modalidad, el éster bencílico de heparina en forma de sal de sodio se aísla al añadir solución alcohólica de acetato de sodio, en donde el alcohol se selecciona de metanol, propanol, isopropanol y sus mezclas.

10 Luego, de acuerdo a la etapa (e), la despolimerización se lleva a cabo tratando la sal de sodio de éster bencílico de heparina con una base inorgánica en una solución acuosa. En ciertas modalidades, la base inorgánica es un hidróxido alcalino tal como hidróxido de sodio. La relación de una base inorgánica con respecto a la sal de sodio de éster bencílico de heparina puede variar de 0,05 a 0,2 en peso, y preferentemente de 0,08 a 0,15 en peso. En ciertas modalidades, la despolimerización se lleva a cabo a una temperatura de 50 °C a 70 °C, preferentemente de 55 °C a 65 °C durante 30 minutos a 3 horas, preferentemente de 1 a 2 horas. En una modalidad adicional, la despolimerización de una parte en peso de sal de sodio de éster bencílico de heparina se mezcla con 0,08 a 0,15 parte en peso de hidróxido de sodio, así como también con 20 a 30 partes en peso de agua, y la mezcla resultante se mantiene luego a una temperatura de 55 °C a 65 °C durante 1 a 2 horas para obtener enoxaparina sódica cruda.

20 La enoxaparina sódica cruda se somete entonces a blanqueo (etapa (f)) para obtener enoxaparina sódica decolorada. En ciertas modalidades, el color de la enoxaparina sódica se mejora mediante el uso de peróxido de hidrógeno al 30 % a un pH de 9-10. El producto resultante es incoloro o blanco. En ciertas modalidades, la etapa de blanqueo se realiza al ajustar el pH a 9-10, añadir solución de peróxido de hidrógeno al 30 %, agitar la mezcla durante 45 minutos a 90 minutos manteniendo el pH constantemente a 9-10, reajustar el pH a 6-7, añadir cloruro de sodio en una concentración de 5-15 % (p/v) seguido de precipitación con alcohol (como metanol y etanol). En 25 modalidades adicionales, la etapa de blanqueo se realiza al ajustar el pH a $9,7 \pm 1$, añadir solución de peróxido de hidrógeno al 30 %, agitar la mezcla durante 60 minutos manteniendo el pH constantemente a $9,7 \pm 1$, reajustar el pH a $6,0 \pm 0,1$, añadir cloruro de sodio en una concentración de 10 % (p/v) seguido de precipitación con metanol (3,6 volúmenes). El producto precipitado se filtra y se seca al vacío a 55 °C durante 9 horas para obtener enoxaparina sódica decolorada.

El producto decolorado obtenido después de la etapa de blanqueo se purifica al disolverse en agua, al añadir cloruro de sodio, al precipitarse por metanol y al filtrarse para obtener enoxaparina sódica pura.

35 En ciertas modalidades, la enoxaparina sódica purificada se liofiliza al disolverse en una mezcla de agua y alcohol para obtener enoxaparina sódica en forma de polvo. En ciertas modalidades, el alcohol se selecciona de un grupo que comprende metanol, etanol, isopropanol y sus mezclas. En modalidades adicionales, el solvente es una mezcla de agua y etanol. En ciertas modalidades, la liofilización se lleva a cabo al disolver enoxaparina sódica pura en una mezcla de solvente que contiene agua en una concentración de 85 a 95 % (v/v) y alcohol en una concentración de 5 40 a 15 % (v/v), respectivamente. Si se usa solo agua como se describió en la técnica anterior, entonces requiere más tiempo de liofilización y produce enoxaparina sódica como una torta con humedad residual.

En ciertas modalidades, la presente invención proporciona un proceso para la preparación de enoxaparina sódica, que comprende las etapas de:

45 a) salificar heparina sódica con cloruro de bencetonio para formar heparinato de bencetonio,
b) hacer reaccionar el heparinato de bencetonio obtenido en la etapa (a) en N, N-dimetilformamida con cloruro de bencilo en la relación 1: 2: 1 a 1:6:1 a una temperatura en el intervalo de temperatura ambiente a 70 °C durante 1 a 20 horas para obtener éster bencílico de heparina crudo,
50 c) añadir agua a la mezcla de reacción que contiene el éster bencílico de heparina crudo obtenido en la etapa (b) a una temperatura de 10 a 25 °C y agitar durante 15 minutos a 4 horas para precipitar el éster bencílico de heparina,
d) añadir una solución alcohólica de acetato de sodio a la mezcla de reacción que contiene el precipitado obtenido en la etapa (c) para aislar la sal de sodio de éster bencílico de heparina,
55 e) despolimerizar la sal de sodio de éster bencílico de heparina obtenida en la etapa (d) con una base inorgánica para producir una enoxaparina sódica cruda,
f) blanquear la enoxaparina sódica cruda obtenida en la etapa (e) con peróxido de hidrógeno al 30 % a un pH de 9-10 para obtener enoxaparina sódica decolorada, y
g) purificar el producto decolorado obtenido en la etapa (f) seguido de liofilizar para obtener enoxaparina sódica 60 en forma de polvo.

En ciertas modalidades, el proceso de la presente invención es útil para producir enoxaparina sódica que tiene un peso molecular promedio entre 4000 y 5500 daltons y con 12 % a 20 % de fracciones que tienen un peso molecular de menos de 2000 daltons y 68 % y 88 % de fracciones que tienen un peso molecular dentro del intervalo de 2000 a 8000 daltons. Además, la enoxaparina sódica preparada de acuerdo con la presente invención cumple con el requisito farmacopeico de los Estados Unidos así como también con los criterios de igualdad con respecto a la

equivalencia de las propiedades fisicoquímicas, el modo de despolimerización y la equivalencia en bloques de construcción disacáridos, el mapeo de fragmentos y la secuencia de especies de oligosacáridos.

La presente descripción se describe adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos, que se proporcionan para ilustrar la invención y son solamente para propósitos ilustrativos y no se deben interpretar para limitar el alcance de la invención.

Ejemplos

Los ejemplos 1-4 representan la preparación de éster bencílico de heparina o sus sales de acuerdo con la invención.

Ejemplo 1

Etapa a: se alimentaron 1718 g de agua y 275 g de cloruro de bencetonio en un matraz de fondo redondo y se agitó hasta la disolución a temperatura ambiente. Se alimentaron 1000 g de agua y 100 g de heparina sódica en otro matraz de fondo redondo y se agitó para la disolución. Una solución de cloruro de bencetonio en agua se añadió lentamente a la solución de heparina sódica y se mantuvo durante 2,5 horas. Luego, la masa de reacción se filtró, y el pastel obtenido se lavó repetidamente con agua. El pastel húmedo se secó al vacío a 50 °C durante 9 horas para obtener 291,6 g de heparinato de bencetonio. El contenido de bencetonio medido por HPLC fue del 71,4 %.

Etapa b: se alimentaron 50 g de heparinato de bencetonio (obtenido en la etapa (a)) y 189,6 g de DMF en un reactor adecuado y se agitó para su disolución a temperatura ambiente, luego se añadió 22,0 g de cloruro de bencilo y se agitó la masa de reacción durante 10 horas. El éster bencílico de heparina se precipitó al enfriar la mezcla de reacción al añadir 220,0 g de agua a 15 a 20 °C, se dejó reposar y se decantó el sobrenadante para retener el éster bencílico de heparina como sólido húmedo en el reactor. El sólido húmedo se lavó con una solución de acetato de sodio al 10 % en metanol seguido de metanol, se filtró y se secó para producir 14,8 g de sal de sodio de éster bencílico de heparina. El contenido de alcohol bencílico del éster obtenido fue de 10,7 %, medido por HPLC.

Ejemplo 2

Se alimentaron 50 g de heparinato de bencetonio (obtenido en el Ejemplo 1, etapa (a)) y 189,6 g de DMF a un reactor adecuado y se agitó para su disolución a temperatura ambiente, luego se añadió 22,0 g de cloruro de bencilo y se agitó la masa de reacción durante 15 horas. El éster bencílico de heparina se precipitó al enfriar la mezcla de reacción al añadir 220,0 g de agua a 10 a 20 °C, se dejó reposar y se decantó el sobrenadante para retener el éster bencílico de heparina como sólido húmedo en el reactor. El sólido húmedo se lavó con una solución de acetato de sodio al 10 % en metanol seguido de metanol, se filtró y se secó para producir 15,2 g de sal de sodio de éster bencílico de heparina. El contenido de alcohol bencílico del éster obtenido fue de 11,5 %, medido por HPLC.

Ejemplo 3

Se alimentaron 10 g de heparinato de bencetonio (obtenido en el Ejemplo 1, etapa (a)) y 37,92 g de DMF a un reactor adecuado y se agitó para su disolución a temperatura ambiente, luego se añadió 4,4 g de cloruro de bencilo y se agitó la masa de reacción durante 6 horas. El éster bencílico de heparina se precipitó al enfriar la mezcla de reacción al añadir 44,0 g de agua a 10 a 15 °C, se dejó reposar y se decantó el sobrenadante para retener el éster bencílico de heparina como sólido húmedo en el reactor. El sólido húmedo se lavó con una solución de acetato de sodio al 10 % en metanol seguido de metanol, se filtró y se secó para producir 3,19 g de éster bencílico de heparina sódica. El contenido de alcohol bencílico del éster obtenido fue de 6,6 %, medido por HPLC.

Ejemplo 4

Se alimentaron 70 g de heparinato de bencetonio (obtenido en el Ejemplo 1, etapa (a)) y 265,44 g de DMF a un reactor adecuado y se agitó para su disolución a temperatura ambiente, seguido de la adición de 38,5 g de cloruro de bencilo y la masa de reacción se agitó entonces durante 15 horas. El éster bencílico de heparina se precipitó al enfriar la mezcla de reacción al añadir 308,0 g de agua a 10 a 20 °C, se dejó reposar y se decantó el sobrenadante para retener el éster bencílico de heparina como sólido húmedo en el reactor. El sólido húmedo se lavó con una solución de acetato de sodio al 10 % en metanol seguido de metanol, se filtró y se secó para producir 21,4 g de sal de sodio de éster bencílico de heparina. El contenido de alcohol bencílico del éster obtenido fue de 11,1 %, medido por HPLC.

Ejemplo 5: Preparación de enoxaparina sódica de acuerdo con la presente invención:

Etapa a: se alimentaron 1718 g de agua y 275 g de cloruro de bencetonio en un matraz de fondo redondo y se agitó hasta la disolución a temperatura ambiente. Se alimentaron 1000 g de agua y 100 g de heparina en otro matraz de fondo redondo y se agitó para su disolución. Una solución de cloruro de bencetonio en agua se añadió lentamente a la solución de heparina y se mantuvo durante 2,5 horas. Luego, la masa se filtró, y el pastel

obtenido se lavó repetidamente con agua. El pastel húmedo se secó al vacío a 50 °C durante 9 horas para obtener 291,6 g de heparinato de bencetonio. El contenido de bencetonio medido por HPLC fue del 71,4 %.

Etapa b: 70 g de heparinato de bencetonio obtenido en la etapa (a) y 265,44 g de N,N-dimetilformamida se alimentaron en un matraz de fondo redondo y se agitaron, seguido de la adición de 21,17 g de cloruro de bencilo lentamente y la masa de reacción se agitó luego durante 7 horas a temperatura ambiente.

Etapa c: El éster bencílico de heparina se precipitó al enfriar la mezcla de reacción al añadir 308,0 g de agua a 10 a 20 °C, se dejó reposar y se decantó el sobrenadante para retener el éster bencílico de heparina como sólido húmedo en el reactor.

Etapa d: El sólido húmedo obtenido en la etapa (c) se lavó con una solución de acetato de sodio al 10 % en metanol seguido de metanol, se filtró y se secó para producir 21,2 g de sal de sodio de éster bencílico de heparina. El contenido de alcohol bencílico del éster obtenido fue de 7,4 %, medido por HPLC.

Etapa e: Suspender 10,0 g de la sal de sodio de éster bencílico de heparina obtenida en la etapa (d) en 297 ml de agua purificada y calentar con agitación a 60 ± 1 °C, seguido de la adición de 33 ml de solución de hidróxido de sodio 1 N. Los contenidos se agitaron a 60 ± 1 °C durante 60 minutos.

Etapa f: La solución obtenida en la etapa (e) se enfrió hasta temperatura ambiente y el pH se ajustó a $9,7 \pm 1$ con ácido clorhídrico 1 N. Se añadieron 4,0 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 % y la mezcla se agitó durante 60 minutos manteniendo el pH constantemente a $9,7 \pm 1$ al añadir solución de hidróxido de sodio 1 N. Luego, el pH se reajustó a $6,0 \pm 0,1$ con ácido clorhídrico 1 N y se añadió cloruro de sodio a la mezcla de reacción en una cantidad suficiente para lograr un 10 % (p/v). El producto se precipitó al añadir 3,6 volúmenes de metanol, se filtró y se secó al vacío a 55 °C durante 9 horas para obtener 7,03 g de enoxaparina sódica cruda.

Etapa g: La enoxaparina sódica cruda (5 g) obtenida en la etapa (f) se suspendió en 50 ml de agua purificada y se disolvió. Se añadieron 5 g de cloruro de sodio y se agitó. El producto se precipitó al añadir 150 ml de metanol, se filtró y se secó al vacío a 55 °C durante 9 horas para obtener 4,39 g de enoxaparina sódica.

Etapa h: Se cargó 75 ml de agua seguido de 8,33 ml de etanol en un matraz redondo de fondo de 100 ml con 3 bocas. A esto, se añadió la enoxaparina sódica obtenida en la etapa (g) y se agitó para su disolución, se filtró la solución a través de un filtro de 0,22 μ y se cargó la solución en bandejas de liofilización y se liofilizó para obtener enoxaparina sódica en forma de polvo (4,2 g).

Distribución de peso molecular y peso promedio molecular por cromatografía líquida de exclusión de tamaño de alto rendimiento SEC-HPLC:

Mw	M ₂₀₀₀	M ₈₀₀₀	M ₂₀₀₀₋₈₀₀₀
4283	18,5	10,5	71,1

La enoxaparina sódica obtenida cumplió con el requisito farmacopeico de Estados Unidos así como también con los criterios de homogeneidad con respecto a la equivalencia de las propiedades fisicoquímicas, el modo de despolimerización y la equivalencia en bloques de construcción disacáridos, el mapeo de fragmentos y la secuencia de especies de oligosacáridos.

Ejemplo comparativo 6: Preparación de la sal de sodio de éster bencílico de heparina (sin adición de agua):

Se alimentaron 205 g de heparinato de bencetonio (obtenido en el Ejemplo 1, etapa (a)) y 774 g de DMF a un reactor adecuado y se agitó para su disolución a temperatura ambiente, se elevó la temperatura a 60 °C. Se añadió 62 g de cloruro de bencilo lentamente y la masa de reacción se agitó entonces durante 15 horas. La mezcla de reacción se añadió a una solución de acetato de sodio en metanol y agua (307 g, 1264 g y 451 g respectivamente) a 55 °C. Se formó un sólido grueso duro y se mantuvo durante 2 horas a aproximadamente 55 °C y se lavó con una solución de acetato de sodio al 10 % en metanol seguido de metanol y se secó para producir 44,2 g de éster bencílico de heparina sódica. El contenido de alcohol bencílico del éster obtenido fue de 11,06 %, medido por HPLC.

Este ejemplo comparativo, por lo tanto, muestra que la adición de agua al éster bencílico de heparina crudo aumenta los rendimientos del éster, de esta manera el enoxaparina sódica.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de enoxaparina sódica, que comprende las etapas de:
 - a) salificar heparina sódica con cloruro de bencetonio para formar heparinato de bencetonio,
 - b) hacer reaccionar el heparinato de bencetonio obtenido en la etapa (a) con cloruro de bencilo en un solvente inerte para formar un éster bencílico de heparina crudo,
 - c) añadir agua a la mezcla de reacción que contiene el éster bencílico de heparina crudo obtenido en la etapa (b) a una temperatura de 0 °C hasta temperatura ambiente para obtener un precipitado de éster bencílico de heparina,
 - d) añadir una solución alcohólica de acetato de sodio a la mezcla de reacción que contiene el precipitado de éster bencílico de heparina obtenido en la etapa (c) para aislar la sal de sodio de éster bencílico de heparina,
 - e) despolimerizar la sal de sodio de éster bencílico de heparina obtenida en la etapa (d) con una base inorgánica para producir enoxaparina sódica cruda,
 - f) blanquear la enoxaparina sódica cruda obtenida en la etapa (e) a un pH de 9-10 para obtener una enoxaparina sódica decolorada, y
 - g) purificar la enoxaparina sódica decolorada.
2. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde el solvente inerte se selecciona de N,N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida (DMA) y cloruro de metileno.
3. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde la relación de heparinato de bencetonio, solvente inerte y cloruro de bencilo varía de 1: 2: 1 a 1:6:1.
4. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde la adición de agua a la mezcla de reacción que contiene el éster bencílico de heparina crudo obtenido en la etapa (b) se lleva a cabo a una temperatura de 10 °C a 25 °C durante 15 minutos hasta 4 horas.
5. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde la despolimerización se lleva a cabo mediante el tratamiento de la sal de sodio de éster bencílico de heparina con una solución acuosa de base inorgánica a una temperatura de 50 °C a 70 °C durante 30 minutos hasta 3 horas.
6. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 5, en donde la relación de la base inorgánica con respecto a la sal de sodio de éster bencílico de heparina es de 0,05 a 0,2 en peso.
7. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 6, en donde la base inorgánica es hidróxido de sodio.
8. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde el blanqueo se lleva a cabo mediante el uso de peróxido de hidrógeno al 30 %.
9. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde la enoxaparina sódica decolorada se purifica al disolverla en agua, añadir cloruro de sodio y precipitarla con alcohol.
10. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 9, en donde la enoxaparina sódica purificada se somete a liofilización para obtener enoxaparina sódica en forma de polvo.
11. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 10, en donde la liofilización se lleva a cabo al disolver enoxaparina sódica pura en una mezcla de agua y alcohol.
12. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 11, en donde el alcohol se selecciona de un grupo que comprende metanol, etanol, isopropanol y una de sus mezclas.
13. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 10, en donde la liofilización se lleva a cabo en una mezcla de agua y etanol.
14. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 11, en donde el agua y el alcohol están presentes en una concentración de 85 a 95 % (v/v) y 5 a 15 % (v/v) respectivamente.
15. El proceso como se reivindicó en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la relación de agua añadida a la mezcla de reacción en la etapa (c) y el heparinato de bencetonio alimentado en la etapa (b) es de 2:1 a 6:1.