



(12) PATENTSKRIFT

Patent- og
Varemærkestyrelsen

- (51) Int.Cl.: **C 08 B 37/10**
- (21) Patentansøgning nr: **PA 1987 04345**
- (22) Indleveringsdag: **1987-08-20**
- (24) Løbedag: **1987-08-20**
- (41) Alm. tilgængelig: **1988-02-21**
- (45) Patentets meddelelse bkg. den: **2004-05-24**
- (30) Prioritet: **1986-08-20 US 898124 1986-08-20 US 898127 1986-08-20 US 898130 1986-08-20 US 898431 1986-08-20 US 898436**
- (73) Patenthaver: **Miami University, 500 East High Street, Oxford, Ohio 45056, USA**
- (72) Opfinder: **Kevin Michael Foley, 5757 Lynn Street, Franklin, Ohio 45005, USA**
Charles Campbell Griffin, 710 Melissa Drive, Oxford, Ohio 45046, USA
- (74) Fuldmægtig: **Chas. Hude A/S, H.C. Andersens Boulevard 33, 1780 København V, Danmark**
-

(54) Benævnelse: **Alkanoylestere af heparin, farmaceutisk præparat, der indeholder dem og anvendelse deraf**

(57) Sammendrag:

Den foreliggende opfindelse angår et antal forskellige derivater af heparin og lavmolekylært heparin. Disse indbefatter acetylestederivater af heparin og esterderivater af lavmolekylært heparin, som udviser forbedret anti-Xa-aktivitet i forhold til global antisammenklumpningsaktivitet. Der anvises også esterderivater af heparin, som udviser en lav anti-Xa-aktivitet i forhold til global antisammenklumpningsaktivitet. Der anvises desuden heparinderivater og lavmolekylære heparinderivater, der indeholder hydrofobe grupper og som udviser forbedret permeabilitet og som yderligere udviser antikoagulerende egenskaber og forbedret opløselighed i organiske opløsningsmidler.

Den foreliggende opfindelse angår C_2 - C_{10} -alkanoylsterderivater af lavmolekylær heparin, som udviser forbedret anti-Xa.aktivitet i relation til global antikoagulationsaktivitet.

Heparins kemiske struktur er kompliceret. Heparin er ikke en enkelt forbindelse, men en blanding af forbindelser. Imidlertid anses heparin sædvanligvis for hovedsageligt at være et polymert stof opbygget af tetrasaccharidgentagelsesenheder. Gennemsnitlig indeholder hver tetrasaccharidgentagelsesenhed cirka 5 frie hydroxylgrupper og har en molekylvægt på cirka 1229. Den gennemsnitlige molekylvægt hos i handelen tilgængeligt heparin varierer fra cirka 10.000 til cirka 18.000 dalton. Således indeholder i handelen tilgængeligt heparin gennemsnitlig cirka 8 til 15 tetrasaccharidgentagelsesenheder.

Betegnelsen heparin anvendes i nærværende beskrivelse og krav i den bredeste betydning til at betegne enten i handelen tilgængeligt heparin af farmaceutisk kvalitet eller et rått heparin, som det opnås ved ekstraktion fra biologisk materiale, navnlig fra pattedyrsvæv. Det indbefatter også mucopolysaccharider, der udviser antikoagulerende egenskaber, og som er syntetiseret ud fra ikke-heparinkilder.

Betegnelsen lavmolekylært heparin anvendes i nærværende beskrivelse og krav i dets bredeste betydning til at angive en lavmolekylær fraktion isoleret fra heparin, et produkt opnået ved depolymerisering af heparin, eller mucopolysaccharider, der udviser antikoagulerende egenskaber og som er syntetiseret fra ikke-heparinkilder. Lavmolekylær anvendes i betydningen et materiale, der udviser en molekylvægt på mindre end 10.000 dalton.

Heparin er det mest vidt anvendte middel til øjeblikkelig behandling af de fleste thromboemboliske sygdomme, navnlig kraftig venethrombose og pulmonær og systemisk emboli. Et vigtigt problem er, at dosen må afbalanceres på en sådan måde,

at der opnås en god thrombosebeskyttelse, mens blødningskomplikationer undgås. I mange tilfælde har blødning været et hovedproblem, nogle forskere rapporterer, at forekomsten af blødning er så høj som 35%.

5

Heparin virker til blokering af koagulationskaskaden på forskellige steder ved at indvirke med flere af blodfaktorerne indbefattet faktor Xa. Anti-Xa-aktivitet, som er ledsaget af ringe global antikoagulationsvirkning, er indikativ for en kraftig antithrombotisk virkning, mens man undgår risiko for blødning. Det skal bemærkes, at heparin samtidig undertrykker et stort antal af koagulationsfaktorerne, der tager del i skabelsen og vedligeholdelsen af forskellige former for hyperkoaguleringssevne. Således ses heparins aktivitet at være global snarere end specifik.

10

15

APTT-bestemmelse og USP-antikoagulantbestemmelse er anerkendt som måling af global antikoagulantvirkning. Det foretrækkes her at anvende APTT-bestemmelsen til at måle den globale antikoagulantaktivitet.

20

Heparin er for tiden det lægemiddel, der vælges til at modvirke risikoen for hyperkoagulation, for eksempel forekomst af postoperativ thrombose. Imidlertid kan overdrevne mængder af heparin være årsag til alvorlige blødninger. Der må derfor udvises betydelig omsorg for at anvende den korrekte mængde heparin til at forhindre hyperkoagulation uden at anvende en mængde, der er tilstrækkelig til at fremkalde blødninger. Det er derfor nødvendigt at holde patienten under konstant overvågning og indstillingerne af heparinindgiften må foretages i afhængighed af resultater fra blodkoagulationsprøver, som må gennemføres med regelmæssige mellemrum.

25

30

Det er et formål med den foreliggende opfindelse at tilvejebringe lægemidler, der kan overvinde vanskelighederne og den konstante afprøvning, som er forbundet med heparinindgift. Dette opnås ved at tilvejebringe forbindelser, der er betydeligt mere effektive end heparin til at forhindre risikoen for hyperkoagulation, når der sammenlignes med den ledsagende

35

bivirkning til fremkaldelse af blødninger. Den tidligere kendte teknik vedrørende heparin-derivater og lavmolekylære heparinderivater med modificeret anti-Xa-specificitet er anført umiddelbart nedenfor:

5 US-patentskrift nr. 4.281.108 beskriver en fremgangsmåde til opnåelse af lavmolekylært heparin omfattende syrning af heparin, depolymerisation i nærværelse af peroxider og sulfatering. Produkternes molekylvægte er 4.000 til 12.000 dalton. Der angives et anti-Xa/APTT-forhold på over 1 for pro-
10 dukterne ifølge dette patentskrift.

US-patentskrift nr. 4.303.651 anviser depolymerisation af heparin med saltpetersyrning eller ved perjodatoxidation til frembringelse af fragmenter af lavmolekylært heparin, som
15 udviser forbedret inhibering af aktiveret faktor X. Disse lavmolekylære heparinfragmenter indeholder 14-18 sukkerenheder.

US-patentskrift nr. 4.351.938 beskriver en fremgangsmåde til
20 fremstilling af heparinderivater, der udviser en forbedret anti-Xa-værdi. Disse heparinderivater udviser en molekylvægt på 2.000-7.000 dalton (sammenlignet med molekylvægten for i handelen tilgængeligt heparin på 10.000 til 25.000 dalton) og har analyserbare reducerende endegrupper, hvoraf størstedelen
25 er anhydromannose.

US-patentskrift nr. 4.396.762 beskriver et heparinprodukt opnået ved nedbrydning af heparin med heparinase fra *Flavobacterium heparinum* (ATCC 13125) eller mutanter deraf med aktivitet til at reducere koagulationsaktiviteten af faktor X uden
30 at påvirke thrombins koagulationsaktivitet.

US-patentskrift nr. 4.401.662 beskriver oligosaccharider, der kan opnås fra heparin, hvilke oligosaccharider har ikke mere end 8 saccharidenheder, hvoraf én er en N-sulfat-3-O-sulfat-D-glucosaminenhed. Disse oligosaccharider kan separeres fra heparin ved hjælp af gelfiltrering og udviser en i høj grad selektiv virkning mod aktiveret faktor X (faktor Xa). Dette giver en kraftig antithrombotisk virkning, mens man undgår risiko for blødning hos patienten.
35

5' US-patentskrift nr. 4.401.785 anviser en fremgangsmåde til fremstilling af oligosaccharider, der har en høj selektiv virkning mod aktiveret faktor X (faktor Xa) i blod, det vil sige en kraftig antithrombotisk virkning, mens man undgår risiko for blødning. Denne fremgangsmåde indebærer depolymerisation af heparin og separation af de ønskede oligosaccharider ved at bringe dem i kontakt med AT III (antithrombin III) efterfulgt af en efterfølgende separation af de ønskede oligosaccharider fra AT III.

10 US-patentskrift nr. 4.415.559 beskriver en antikoagulant, der indeholder som en effektiv ingrediens heparin, som har lav antithrombin III-affinitet og som giver en nedsat fare for blødning. Heparinet med lav antithrombin III-affinitet separeres fra i handelen tilgængeligt heparin ved affinitetskromatografi under anvendelse af et gelgitter, hvortil antithrombin 15 III er bundet. Den ønskede heparinfraktion absorberes ikke af den gitterbundne antithrombin III-gel.

20 US-patentskrift nr. 4.438.108 beskriver en blanding af oligo- og polysaccharider med forbedret anti-thrombotisk aktivitet i forhold til blødningsfremkaldende aktivitet sammenlignet med heparin. Det i patentskriftet beskrevne produkt kan frigøres fra pattedyrsvæv ved autolyse eller ved hjælp af proteolytiske enzymer efterfulgt af isolering under anvendelse af organiske opløsningsmidler, kvaternære alifatiske ammoniumforbindelser 25 og/eller en basisk ionbytter.

30 US-patentskrift nr. 4.438.261 beskriver kemisk partielt depolymeriseret heparin med en molekylvægt fra cirka 2000 til 7000 dalton og med analyserbare reducerende endegrupper, hvoraf størstedelen er anhydromannosegrupper. Dette produkt udviser et forbedret terapeutisk index, som defineres i US-patentskrift nr. 4.438.261 som forholdet mellem anti-Xa-aktivitet og USP-aktiviteten.

35 US-patentskrift nr. 4.474.770 beskriver oligosaccharider, der kan opnås fra heparin, hvilke oligosaccharider indeholder ikke mere end 8 saccharidenheder, hvoraf én er en N-sulfat-D-glucos-

aminenhed. Disse oligosaccharider udviser en kraftig anti-Xa-aktivitet i forhold til heparin, mens den globale koagulationsaktivitet i forhold til heparin er meget lav. Disse oligosaccharider angives således at være fordelagtige til anvendelse til antithrombotisk behandling uden risiko for blødninger.

US-patentskrift nr. 4.486.420 beskriver heparinagtige mucopolysaccharidfraktioner, der har forbedret antithrombotisk virkning in vivo (målt som anti-Xa-aktivitet per milligram) sammenlignet med heparin og som er mere selektive med hensyn til anti-Xa-aktivitet end heparin. Disse fraktioner har en molekylvægt i området fra cirka 2.000 til cirka 10.000 dalton og er uopløselige i alkohol.

US-patentskrift nr. 4.500.519 beskriver en fremgangsmåde til fremstilling af mucopolysaccharidheparinfraktioner med forbedret anti-Xa-aktivitet sammenlignet med heparin. Disse fraktioner fremstilles ved depolymerisering af heparin til et molekylvægtsområde fra 2.000 til 8.000 og separation af fraktioner med udvalgte endestrukturer.

US-patentskrift nr. 4.533.549 beskriver depolymerisation og fraktionering af heparin til opnåelse af derivater af heparin med en molekylvægt fra cirka 2.500 til 4.000 dalton og forbedret anti-Xa-aktivitet i forhold til global antikoagulantaktivitet.

GB-patentskrift nr. 2.002.406B anviser sulfatering af lavmolekylært heparin med en molekylvægt fra 2.600 til 5.500. En forbedret antithrombotisk virkning (anti-Xa-aktivitet) til anti-blodsammenløbningsaktiviteten (KCCT-aktivitet) angives for produkterne ifølge denne opfindelse sammenlignet med heparin.

CA-patentskrift nr. 1.195.322 anviser en fremgangsmåde til opnåelse af lavmolekylært heparin, som omfatter trin til syrning af normalt heparin og depolymerisering i nærværelse af et oxidationsmiddel til opnåelse af et lavmolekylært heparinprodukt. Der angives et anti-Xa/APTT-forhold på "næsten 2".

L.O. Andersson et al. omtaler i Thrombosis Research, bind 9, 1976, side 575-583 fraktioner med varierende molekylvægt isoleret fra heparin. Molekylvægtene for fraktionerne varierede fra 5.000 til 40.000. Prøver for anti-Xa og for APTT gennemførtes på de forskellige fraktioner. I almindelighed viste resultaterne, at fraktionerne med lavere molekylvægt udviste højere anti-Xa-værdier i forhold til APTT-værdierne, og fraktioner med højere molekylvægt udviste lavere anti-Xa-værdier i forhold til APTT-værdierne.

10 Detaljeret beskrivelse af udførelsesformer rettet på modificeret anti-Xa-specificitet

15 Stor aktivitet har været rettet mod opnåelsen af en høj anti-Xa-virkning i forhold til global antikoagulantaktivitet. US-patentskrifterne nr. 4.281.108, 4.438.261, 4.474.770 og 4.533.549 er eksempler herpå. Imidlertid har man ikke hidtil haft held med at syntetisere antikoagulanter, der udviser lav anti-Xa-aktivitet i forhold til global antikoagulantaktivitet. Det ville være nyttigt at være i stand til at udvælge antikoagulanter med en anti-Xa-aktivitet i forhold til global antikoagulantaktivitet, der er lavere end heparin såvel som højere end heparin.

25 De tidligere kendte stoffer udvundet fra heparin og med forbedret anti-Xa-aktivitet i forhold til global antisammenklumpningsaktivitet har været opnået ved at isolere lavmolekylære fraktioner fra heparin og/eller depolymerisering af heparin. Det er nu lykkedes at opnå en yderligere forbedring af anti-Xa-aktiviteten i forhold til global aktivitet ved at gå frem på en helt anderledes og ny måde.

30 Det har overraskende vist sig, at esterderivater, navnlig acetylderivater af lavmolekylært heparin udviser en højere anti-Xa-aktivitet i forhold til APTT-aktivitet end selve det lavmolekylære heparin. Anti-Xa-værdier bestemmes under anvendelse af Coatest anti-Xa test kit fra KabiVitrum AB, Stockholm, Sverige. APTT-værdier (aktiveret partiel thromboplastin-

tid) bestemmes ved at følge den metode, der er beskrevet i Andersson et al., Thromb. Res. 9, 575 (1976). APTT er et mål for den globale antisammenklumpningsaktivitet.

5 Det foretrækkes at fremstille lavmolekylære heparinestere ved at omsætte en syrechlorid med lavmolekylært heparin. Som det vil være klart for fagfolk, kan der anvendes mange forskellige reaktionsbetingelser. Det foretrækkes at anvende formamid som opløsningsmiddel og pyridin som det saltsyrefjernende middel
10 til reaktionen. Teoretisk menes det, at en overvægt af acylgrupper bindes til det lavmolekylære heparin ved at udskifte hydrogensgruppen i en hydroxylgruppe.

Uventet har det også vist sig, at visse esterderivater af heparin udviser en lav anti-Xa-aktivitet, hvilket sidstnævnte er et mål for global antisammenklumpningsaktivitet. Dette overvinder de problemer, der er forbundet med de tidligere kendte metoder til frembringelse af antikoagulanter, der udviser en lav anti-Xa-aktivitet i forhold til global anti-koagulantaktivitet.
15
20

Den foretrukne metode, der anvendes til fremstilling af estrene indebærer omsætning af et passende syrechlorid med heparin. Uden begrænsning med hensyn til omfanget af den foreliggende opfindelse menes det teoretisk, at en overvægt af estergrupper dannes ved reaktion mellem et syrechlorid og heparin som resultat af en reaktion mellem frie hydroxylgrupper i heparin og syrechloridet.
25

Forbedret permeabilitet

30 Som tidligere nævnt er heparin det mest vidt anvendte middel til øjeblikkelig behandling af de fleste thromboemboliske sygdomme, navnlig kraftig venøs thrombose og lungeemboli og systemisk emboli. Behandlingstider varierer i afhængighed af anvendelsen. Kraftig venøs thrombose og lungeemboli behandles typisk i 7-10 dage. Thromboemboliske sygdomme ved graviditet
35 behandles typisk i 2-6 uger. Coronopatier, myocardiopatier,

myocardial infarkt og angina pectoris behandles typisk i 30 dage til mange måneder. Heparin må indgives ved indsprøjtning eller intravenøs infusion (parenteralt). Det er velkendt, at i handelen tilgængeligt heparin ikke er i stand til at krydse cellemembraners barrierer, såsom dem, der findes i tarmen, og det kan derfor ikke være et effektivt terapeutisk middel, når det f.eks. indgives oralt eller rektalt.

Den eneste kommercielt succesfulde antikoagulant, der kan indgives oralt, er warfarin-natrium, der markedsføres under varemærket "Coumadin, Sodium". Se for eksempel US-patentskrift nr. 2.999.049. Warfarin-natrium er et vidt anvendt rodenticid og anerkendes generelt som værende dårligere end heparin som antikoagulant. Forbedring af heparins evne til at passere gennem membraner, hvilket for eksempel er nødvendigt i tilfælde af indgivelse af heparin oralt, rektalt, transdermalt eller fokalt, har været genstand for talrige patenter. Imidlertid har ingen af disse produkter eller forsøg vist sig at være kommercielt eller teknisk vellykkede. Den kendte teknik vedrørende udførelsesformer rettet på forbedret permeabilitet er anført umiddelbart nedenfor:

US-patentskrift nr. 3.088.868 anviser anvendelsen af et aminosyrehjælpemiddel i forbindelse med heparin til at gøre det muligt for heparin at blive absorberet fra mave-tarm-kanalen.

US-patentskrift nr. 3.482.014 anviser omdannelsen af en del af de ioniske steder i heparin til syreformen. Dette muliggør absorption gennem væggene i tarmkanalen.

US-patentskrift nr. 3.506.642 anviser omdannelse af i handelen tilgængeligt natriumheparin til syreformen efterfulgt af kompleksdannelse med en passende aminosyre. Dette giver komplekser, som kan absorberes gennem tarmvæggene. US-patentskrift nr. 3.577.534, som er et continuation-in-part af US-patentskrift nr. 3.506.642, anviser anvendelse af komplekserne i terapeutiske præparater, hvor heparinet også absorberes gennem tarmvæggene.

US-patentskrift nr. 3.510.561 anviser fremstilling af præparater, der indeholder heparin og en sulfon. Dette muliggør absorption af heparin gennem slimhinder.

5 US-patentskrift nr. 3.546.338 anviser kombination af heparin, en metaboliserbar olie, vand og et dispergeringsmiddel. Denne kombination er i stand til at blive absorberet i fordøjelseskanalen hos pattedyr.

10 US-patentskrift nr. 3.548.052 anviser anvendelsen af alkylsulfoxider, såsom dimethylsulfoxid, i forbindelse med heparin for at fremme absorptionen af heparin gennem slimhinderne.

15 US-patentskrift nr. 3.574.831 anviser fremstilling af præparater, der indeholder natriumtaurocholat og heparin. Disse præparater kan absorberes gennem fordøjelseskanalens vægge, når de indgives oralt eller rektalt.

20 US-patentskrift nr. 3.574.832 anviser præparater, der indeholder heparin og et overfladeaktivt middel valgt blandt natriumlaurylsulfat, dioctylnatriumsulfosuccinat, natriumhexylsulfat, natriumlaurylsulfonat, natriumcetylsulfonat og blandinger deraf.

25 US-patentskrift nr. 3.835.112 anviser fremstillingen af heparinestere afledt af fedtsyrer med mindst 16 carbonatomer, som kan indgives oralt. Disse estere fremstilles ved at omsætte et hyamin 1622-salt af heparin med fedtsyrer i nærværelse af et carbodiimid.

30 US-patentskrift nr. 4.239.754 anviser anvendelsen af liposomer med heparin tilbageholdt deri eller derpå. Præparaterne ifølge dette patentskrift angives at være oralt aktive.

US-patentskrift nr. 4.281.108 (se ovenfor) angiver oral aktivitet hos lavmolekylært heparin.

35 US-patentskrift nr. 4.331.697 anviser fremstillingen af heparinderivater, der indeholder en aktiv carbon-carbon-

dobbeltbinding, hvor den aktive carbon-carbon-dobbeltbinding anvendes til at binde heparin til et biomedicinsk materiale.

5 US-patentskrift nr. 4.440.926 anviser fremstillingen af udvalgte heparinestere ved omsætning i heparins carboxylsteder. Disse estere fremstilles ved at omsætte et kvaternært ammoniumsalt eller aminsalt af heparin med en alkohol eller et halogenid.

10 US-patentskrift nr. 4.510.135 anviser anvendelsen af organiske ammoniumheparinkomplekser med oral aktivitet.

15 US-patentskrift nr. 4.533.549 (se ovenfor) anviser oral aktivitet hos depolymeriseret og fraktioneret heparin. Imidlertid ville den hydrofile karakter hos forbindelserne ifølge dette patentskrift være utilfredsstillende til opnåelse af en effektiv permeabilitet.

GB-patentskrift nr. 2.002.406B (se ovenfor) anviser oral aktivitet hos sulfateret lavmolekylært heparin.

20 Alle de ovennævnte forsøg lider af mangler med hensyn til at forøge heparins permeabilitet. Additiver, hjælpemidler, kemiske modifikationer og heparinderivater ifølge kendt teknik har vist sig at være besværlige og ueffektive.

25 Det er velkendt, at i handelen tilgængeligt heparin ikke er i stand til at passere den barriere, der findes i tarmens cellemembraner (se for eksempel C. Doutremepuich et al., Path.

30 Biol. 32, 45-48 (1984) eller US-patentskrift nr. 3.548.052). Et stofs tendens til at passere gennem cellemembraner kan måles i form af en permeabilitetskonstant (P), der har lineær relation til fordelingskoefficienten (r) mellem en ikke-vandblandbar væske og vand, og omvendt relation til kvadratrod- den af molekylvægten (M) for det stof, der passerer membranen (se f.eks. J. Diamond og Y. Katz, J. Membr. Biol. 17, 121-154
35 (1974); J. Danielli, "The Permeability of Natural Membranes",

Cambridge University Press, Cambridge (1952); A. Kotyk, Biochim. Biophys. Acta 300, 183 (1973)). Dette er vist som en ligning nedenfor.

$$P \propto \frac{r}{M^{\frac{1}{2}}}$$

Det er således for at forøge heparins permeabilitetskonstant nødvendigt at forøge dets fordelingskoefficient (hydrofobicitet) og/eller nedsætte dets molekylvægt. Ved en udførelsesform for opfindelsen forøges fordelingskoefficienten og molekylvægten nedsættes.

Detaljerede beskrivelser af udførelsesformer rettet på forbedret permeabilitet

Det har nu vist sig, at permeabiliteten hos lavmolekylært heparin kan forøges signifikant ved tilsætning af C₂-C₁₀alkanoyl estergrupper til lavmolekylært heparin. Det har overraskende vist sig, at estergrupper, der indeholder så lidt som 2 carbonatomer, er effektive til signifikant at forøge permeabiliteten. Fortrinsvis indeholder estergrupperne 3 eller flere carbonatomer.

I et første aspekt tilvejebringer opfindelsen et enterisk eller topisk farmaceutisk præparat indeholdende en C₂-C₁₀-alkanoyl ester, som er opnåelig ved omsætning af et syrechlorid med et heparin med en molekylvægt på mindre end 10.000 dalton og som er udvalgt blandt heparin-fraktioner, heparin-depolymerisationsprodukter og antikoagulerende mucopolysaccharider, der er fremstillet ud fra ikke-heparin-kilder, idet estren indeholder mere end 0,1 estergruppe pr. tetrasaccharid-enhed, med en butanol/vand (3:2) fordelingskoefficient på mere end 1×10^{-4} , med en relativ permeabilitet, sammenlignet med heparin, på 1,5 eller mere, og med et anti-Xa/APTT-forhold på mere end 1,5, samt en farmaceutisk acceptabel bærer eller fortyndingsmiddel.

I et andet aspekt tilvejebringer opfindelsen en C₂-C₁₀-alkanoyl ester, som er opnåelig ved omsætning af et syrechlorid med et heparin med en molekylvægt på mindre end 6.000 dalton og som er udvalgt blandt heparin-fraktioner, heparin-

depolymerisationsprodukter og antikoagulerende mucopolysaccharider, der er fremstillet ud fra ikke-heparinkilder, idet esteren indeholder mere end 0,1 estergruppe pr. tetrasaccharidenhed, med en butanol/vand (3:2) fordelingskoefficient på mere end 1×10^{-4} , med en relativ permeabilitet, sammenlignet med heparin, på 1,5 eller mere og med et anti-Xa/APTT-forhold på mere end 1,5.

Fortrinsvis er alkanoylgrupper butyryl, propionyl, decanoyl eller især acetyl.

10 Det foretrækkes, at estrene har et anti-Xa/APTT-forhold større end 2,8.

15 Det foretrækkes at fremstille enten heparinderivater eller lavmolekylære heparinderivater med en høj permeabilitet ved at lade et passende syrechlorid reagere med heparin eller lavmolekylært heparin. Som det vil være klart for fagmanden, kan der anvendes mange forskellige reaktionsbetingelser og opløsningsmidler til gennemførelse af denne reaktion. Substitutionsgraden kan ændres ved at variere forholdet mellem syrechlorid og heparin eller lavmolekylært heparin, ved at variere opløsningsmidlet eller ved slet ikke at anvende noget opløsningsmiddel, ved at variere reaktionstiden og/eller ved at variere reaktionstemperaturen.

25 Det er klart for fagfolk, at der er mange oparbejdningsmetoder, der vil muliggøre isolering af heparinderivater eller lavmolekylære heparinderivater med en permeabilitet, der er signifikant højere end for heparin. Det foretrækkes at anvende dialyse under oparbejdningsproceduren til at isolere heparinderivater eller lavmolekylære heparinderivater med høj permeabilitet.

30 Heparin er et mucopolysaccharid sammensat af aminosukkerester og uronsyrerester. Heparin udvindes fra oksevæv, svinevæv, fårevæv, hvalvæv eller andet pattedyrsvæv ved ekstraktion ved for fagfolk velkendte metoder. I handelen tilgængelige heparinpræparater er nu bredt tilgængelige fra mange kilder og distribueres primært til anvendelse som intravaskulære anti-koagulanter.

Heparinpræparater vides at være heterogene på molekylniveau. De udviser således en betydelig grad af polydispersitet med hensyn til molekylstørrelse, variationer i forholdet mellem glucuronsyre og iduronsyre, ændringer i mængden af estre og N-sulfatering og forskellige omfang af N-acetylering. Forandringer i disse parametre har kun i meget begrænset omfang været sat i forbindelse med heparins antikoaguleringsstyrke.

Heparin anvendt til udøvelse af denne udførelsesform for opfindelsen kan udvindes fra svinetarmslimhinde, okselunger og hvalvæv såvel som fra andre kilder, der er kendt for fagfolk. Syntetisk fremstillet heparin og heparinlignende stoffer kan også anvendes ved udøvelse af opfindelsen. De foretrukne kilder til anvendelse ved denne udførelsesform for opfindelsen er svinetarmslimhinde og okselunger.

Produkterne ifølge denne udførelsesform for opfindelsen er faste stoffer. De kan let formuleres til pulvere, piller, pastiller, tabletter, kapsler, salver, væsker og andre velegnede former. Når præparaterne skal sluges og absorption skal ske i tarmen, kan præparaterne forsynes med en enterisk belægning, såsom celluloseacetatphthalat, styrenmaleinsyreanhydrid-copolymerer og lignende. Enteriske belægnings er velkendte for fagfolk og er f.eks. omtalt i Remington's Practice of Pharmacy og i US-patentskrift nr. 3.126.320.

Fremstilling af buccale og sublinguale tabletter og rektale lavementer, suppositorier og salver såvel som nasale tåger, inhaleringspræparater og transdermale udleveringssystemer kan let tilvejebringes.

De følgende eksempler gives blot til illustration og skal ikke betragtes som begrænsende for opfindelsen.

Det lavmolekylære heparin, der anvendes i eksemplerne nedenfor, blev fremstillet ved at følge CA-patentskrift nr. 1.195.322. Det udviste en molekylvægt på 5187 dalton. Dette lavmolekylære heparin indeholdt således cirka 4,2 tetrasaccharidgentagelsesenheder.

Det heparin, der anvendtes i eksemplerne nedenfor, er svin-
neslimhindeheparin fremstilles af Hepar Industries, Inc.,
Franklin, Ohio, U.S.A. Det udviste en molekylvægt på 13684
5 dalton. Dette heparin indeholdt således cirka 11,3 tetra-
saccharidgentagelsesenheder.

Eksempel 1

2 gram lavmolekylært heparin sættes til en 250 ml rundbundet
kolbe beskyttet mod atmosfæren ved hjælp af et tørrerør. Her-
10 til sættes 24 ml formamid og 24 ml pyridin. Kolben blev
anbragt på et oliebad holdt på 40°C. 40 ml acetylchlorid
tilsattes langsomt i løbet af en periode på 3-4 timer under
omrøring og omrøringen fortsattes natten over.

15 Derpå tilsattes 50 ml vand under omrøring. Kolbens indhold
blev derpå anbragt i en dialysepose med en afskæringsværdi
(eng: cutoff) på molekylvægt 2000 (Spectrum Medical
Industries, Los Angeles, Californien). Dialyse gennemførtes
mod en 1% natriumchloridopløsning (vægt/vol) i 24 timer.
20 Dialysen mod 1% natriumchlorid blev gentaget tre gange.
Derefter gennemførtes dialyse mod vand i 24 timer. Dialysen
mod vand blev derefter gentaget tre gange.

Dialyseposens indhold blev derefter frysetørret til opnåelse
af et tørt, hvidt pulver.
25

Produktet analyseredes for anti-Xa og viste sig at udvise en
værdi på 16,0 enheder per milligram. Produktet analyseredes
for APTT og viste sig at udøve en APTT-værdi på 4,0 enheder
per milligram. Således bestemtes anti-Xa/APTT-forholdet til at
30 være 4,0.

Det lavmolekylære heparinudgangsmateriale analyseredes for
anti-Xa og viste en værdi på 88,0 enheder per milligram. Det
samme lavmolekylære heparin viste sig at have en APTT-værdi på
35 31,7 enheder per milligram. Således bestemtes anti-Xa/APTT-
forholdet til at være 2,8.

Der blev opnået et infrarødt spektrum på produktet. En absorptionstop blev iagttaget ved 1743 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte lavmolekylære heparin.

5

Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet blev målt ved at følge den metode, der er beskrevet af S. Hestrin i J. Biol. Chem., bind 180, side 249-261, 1949. Butyrylcholinchlorid anvendtes som esterstandard. En teoretisk formelvægt på 1229 blev anvendt for en tetrasaccharidenhed. Resultaterne viste tilstedeværelse af 4,4 acetylgrupper per tetrasaccharidenhed.

10

0,1 gram af produktet sættes til 2 ml deioniseret vand. Der tilsættes 3 ml butanol. Blandingen blandedes omhyggeligt og fik lov til at blive underkastet fryse/tø-cykler, indtil det øvre lag (butanol) var klart. Mængden af produkt i hvert lag blev bestemt ved at gennemføre en uronsyresbestemmelse ifølge E.V. Chandrasekaran og J.N. BeMiller, "Methods in Carbohydrate Chemistry", bind VIII, side 89-96 (1980) under anvendelse af heparinstandarder (svinetarmslimhinde). Resultaterne viste en butanol/vand-fordelingskoefficient på $1,0 \times 10^{-3}$. Butanol/vand-fordelingskoefficienten for det lavmolekylære heparin blev bestemt på samme måde og viste sig at være $0,1 \times 10^{-3}$.

15

20

Produktets molekylvægt blev bestemt ved at tage summen af den teoretiske formelvægt af en tetrasaccharidenhed (1229) plus 4,4 gange formelvægten for en acetylgruppe minus formelvægten for det udskiftede hydrogen i heparinet (42) og multiplicering af denne sum med molekylvægten for det som udgangsmateriale anvendte lavmolekylære heparin (5187) og til sidst dividere med den teoretiske formelvægt for en tetrasaccharidenhed (1229). Dette gav en molekylvægt på 5967 for produktet.

25

30

Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslimhinde) bestemtes på følgende måde. Produktets butanol/vand-fordelingskoefficient blev divideret med kvadratroden af produktets molekylvægt. En tilsvarende værdi blev derefter

35

beregnet for heparin. Den for produktet opnåede værdi blev derefter divideret med den tilsvarende værdi for heparin for at give 15,1, hvilket er permeabiliteten sammenlignet med heparin. Dette kan sammenlignes med en værdi på 1,6 bestemt for det lavmolekylære heparin under anvendelse af samme metode.

Eksempel 2

De i eksempel 1 beskrevne procedurer blev gentaget bortset fra, at oliebadet holdtes på 30°C og der tilsattes 20 ml butyrylchlorid i stedet for acetylchloridet til opnåelse af et tørt, hvidt pulver.

Dette produkts anti-Xa-værdi var 47,2 enheder per milligram og APTT-værdien var 4,6 enheder per milligram. Således bestemtes anti-Xa/APTT-forholdet til at være 10,3. Dette kan sammenlignes med et forhold på 2,8 for det som udgangsmateriale anvendte lavmolekylære heparin.

Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet blev angivet til at være 1,5 butyrylgrupper per tetrasaccharidenhed.

Det infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1736 cm^{-1} for produktet. Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte lavmolekylære heparin.

Den angivne butanol/vand-fordelingskoefficient for produktet var $8,3 \times 10^{-3}$.

Produktets molekylvægt bestemtes til at være 5630.

Produktets permeabilitet var 128 i forhold til heparin (svine-tarmslimhinde).

Eksempel 3

Fremgangsmåden i eksempel 1 blev gentaget bortset fra, at der anvendtes heparin (svinetarmslimhinde) i stedet for det

lavmolekylære heparin og der anvendtes 2 ml acetylchlorid. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

5 Produktet har en anti-Xa-værdi på 130 enheder per milligram og en APTT-værdi på 34,4 enheder per milligram. Anti-Xa/APTT-forholdet blev således fundet til at være 3,8. Dette kan sammenlignes med det kendte forhold på 1,0 for heparin.

10 Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1732 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet blev angivet til at være 1,3 acetylgruppe per tetrasaccharidenhed.

15 Eksempel 4

Fremgangsmåden i eksempel 3 blev gentaget bortset fra, at der anvendtes 40 ml acetylchlorid. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

20 Produktet havde en anti-Xa-værdi på 79 enheder per milligram og en APTT-værdi på 6,5 enheder per milligram. Anti-Xa/APTT-forholdet blev således fundet til at være 12,2. Dette kan sammenlignes med det kendte forhold på 1,0 for heparin.

25 Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet viste sig at være 5,4 acetylgruppe per tetrasaccharidenhed.

30 Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1740 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

35 Under anvendelse af den i eksempel 1 beskrevne procedure viste butanol/vand-fordelingskoefficienten sig at være $0,6 \times 10^{-3}$. Dette kan sammenlignes med en butanol/vand-fordelingskoefficient for det som udgangsmateriale anvendte heparin på $0,1 \times 10^{-3}$ bestemt ved samme metode.

Produktets molekylvægt blev bestemt til at være 16209.

5 Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslim-
hinde) blev bestemt ved proceduren i eksempel 1 til at være
5,51.

Eksempel 5

10 Procedurerne i eksempel 4 blev gentaget bortset fra, at
oliebadet blev holdt på 50°C og der tilsattes 12 ml pro-
pionylchlorid i stedet for acetylchloridet. Produktet var et
tørt, hvidt pulver.

15 Produktet havde en anti-Xa-værdi på 5,4 enheder per milligram
og en APTT-værdi på 6,9 enheder per milligram. Således blev
anti-Xa/APTT-forholdet fundet til at være 0,78. Dette kan sam-
menlignes med det kendte forhold på 1,0 for heparin.

20 Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i
produktet viste sig at være 3,5 propionylgrupper per tetra-
saccharidenhed.

Det infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1736 cm^{-1} .
Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til
stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

25 Eksempel 6

Procedurerne i eksempel 5 blev gentaget bortset fra, at der
anvendtes 20 ml propionylchlorid. Produktet var et tørt, hvidt
pulver.

30 Produktet havde en anti-Xa-værdi på 4,9 enheder per milligram
og en APTT-værdi på 7,1 enheder per milligram. Anti-Xa/APTT-
forholdet viste sig således at være 0,69. Dette kan sam-
menlignes med det kendte forhold på 1,0 for heparin.

35 Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i
produktet viste sig at være 2,9 propionylgrupper per tetra-
saccharidenhed.

Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1737 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

- 5 Butanol/vand-fordelingskoefficienten for produktet viste sig at være $6,7 \times 10^{-3}$.

Produktets molekylvægt bestemtes til at være 15492.

- 10 Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslimhinde) var 63,0.

Eksempel 7

- 15 Procedurerne i eksempel 6 blev gentaget bortset fra, at der anvendtes 6 ml decanoylchlorid i stedet for propionylchloridet. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

- 20 Produktet havde en anti-Xa-værdi på 21,1 enheder per milligram og en APTT-værdi på 118,8 enheder per milligram. Anti-Xa/APTT-forholdet viste sig således at være 0,18. Dette sammenlignes med det kendte forhold på 1,0 for heparin.

Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet viste sig at være 0,2 decanoylgruppe per tetrasaccharidenhed.

- 25 Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1740 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

Eksempel 8

- 30 Procedurerne i eksempel 5 blev gentaget bortset fra, at der anvendtes lavmolekylært heparin i stedet for heparin. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

- 35 Under anvendelse af proceduren i eksempel 1 bestemtes butanol/vand-fordelingskoefficienten for produktet til at være $2,0 \times 10^{-3}$.

Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet blev angivet til at være 2,9 propionylgruppe per tetrasaccharidenhed.

5 Produktets molekylvægt bestemtes til at være 5872.

Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslimhinde) var 30,6.

10 Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1739 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

Eksempel 9

15 Procedurerne i eksempel 2 blev gentaget bortset fra, at oliebadet holdtes på 50°C. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

Produktets butanol/vand-fordelingskoefficient viste sig at være $11,0 \times 10^{-3}$.

20 Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet viste sig at være 3,0 butyrylgrupper per tetrasaccharidenhed.

Produktets molekylvægt bestemtes til at være 6073.

25 Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslimhinde) var 165.

Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop 1739 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

30

Eksempel 10

35 Procedurerne i eksempel 9 blev gentaget bortset fra, at der anvendtes 6 ml decanoylchlorid i stedet for 20 ml butyrylchlorid og at dialysen blev gennemført mod: 95% ethanol i 24 timer, 95% ethanol i 24 timer, 47,5% ethanol i 24 timer, 47,5% ethanol i 24 timer, 1% natriumchlorid i 24 timer, 1%

natriumchlorid i 24 timer, vand i 24 timer og vand i 24 timer. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

5 Butanol/vand-fordelingskoefficienten for produktet viste sig at være $6,8 \times 10^{-3}$.

Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet var 0,36 decanoylgruppe per tetrasaccharidenhed.

10 Produktets molekylvægt bestemtes til at være 5421.

Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslimhinde) var 108.

15 Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1739 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

Eksempel 11

20 Procedurerne i eksempel 10 blev gentaget bortset fra, at der anvendtes 12 ml decanoylchlorid. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

Produktet havde en angivet butanol/vand-fordelingskoefficient på 44×10^{-3} .

25 Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet var 0,71 decanoylgruppe per tetrasaccharidenhed.

Produktets molekylvægt bestemtes til at være 5649.

30 Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslimhinde) var 685.

35 Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1737 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

Eksempel 12

5 Procedurerne i eksempel 11 blev gentaget bortset fra, at der anvendtes 24 ml decanoylchlorid. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

Den angivne butanol/vand-fordelingskoefficient for produktet var 663×10^{-3} .

10 Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet viste sig at være 1,03 decanoylgruppe per tetrasaccharidenhed.

Produktets molekylvægt bestemtes til at være 5857.

15 Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslimhinde) var 10.100.

20 Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1742 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

Eksempel 13

25 Procedurerne i eksempel 12 blev gentaget bortset fra, at der anvendtes heparin (svinetarmslimhinde) i stedet for lavmolekylært heparin. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

Den angivne butanol/vand-fordelingskoefficient for produktet var 215×10^{-3} .

30 Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet viste en tilstedeværelse af 0,9 decanoylgruppe per tetrasaccharidenhed.

35

Produktets molekylvægt bestemtes til at være 15227.

Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslimhinde) var 2040.

5 Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1740 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

Eksempel 14

10 Procedurerne i eksempel 9 blev gentaget bortset fra, at der anvendtes heparin (svinetarmslimhinde) i stedet for lavmolekylært heparin. Produktet var et tørt, hvidt pulver.

15 Den angivne butanol/vand-fordelingskoefficient for produktet var $10,0 \times 10^{-3}$.

Antallet af estergrupper per tetrasaccharidenhed indeholdt i produktet viste sig at være 2,3 butyrylgrupper per tetrasaccharidenhed.

20 Produktets molekylvægt bestemtes til at være 15477.

Produktets permeabilitet i forhold til heparin (svinetarmslimhinde) var 94,1.

25 Produktets infrarøde spektrum viste en absorptionstop ved 1736 cm^{-1} . Denne top er karakteristisk for en estergruppe og var ikke til stede i det som udgangsmateriale anvendte heparin.

30 Den ovenfor givne beskrivelse har til formål at belære fagmanden, hvorledes den foreliggende opfindelse kan udøves. Denne beskrivelse forsøger ikke at give detaljer vedrørende alle de nærliggende modifikationer og variationer af opfindelsen, som vil være indlysende efter læsningen. Imidlertid skal alle sådanne nærliggende modifikationer og variationer anses for at ligge indenfor opfindelsens rammer, som defineres i de efterfølgende krav.

35

P A T E N T K R A V

- 5 1. Enterisk eller topisk farmaceutisk præparat indeholdende en C₂-C₁₀-alkanoylester, som er opnåelig ved omsætning af et syrechlorid med et heparin med en molekylvægt på mindst 10.000 dalton og som er udvalgt blandt heparin-fraktioner, heparin-depolymerisationsprodukter og antikoaguleende mucopolysaccharider, der er fremstillet ud fra ikke-heparin-kilder, idet estren indeholder mere end 0,1 estergruppe pr. tetrasaccharid-enhed, med en butanol/vand (3:2) fordelingskoefficient (som defineret i beskrivelsen) på mere end 1×10^{-4} , med en relativ permeabilitet, sammenlignet med heparin, på 1,5 eller mere, og med et anti-Xa/APTT-forhold på mere end 1,5, samt en farmaceutisk acceptabel bærer eller fortyndingsmiddel.
- 15 2. Præparat ifølge krav 1, hvor estergrupperne er acetylgrupper.
3. Præparat ifølge krav 1, hvor estergrupperne er C₃-C₁₀-alkanoylgrupper.
- 20 4. Præparat ifølge krav 3, hvor estergrupperne er propionyl-, butyryl- eller decanoylgrupper.
- 25 5. Præparat ifølge et hvilket som helst af de foregående krav, hvor estererne har et anti-Xa/APTT-forhold på mere end 2,8.
6. Præparat ifølge et hvilket som helst af de foregående krav, hvor heparinet har en molekylvægt på mindre end 6.000 dalton.
- 30 7. Enterisk præparat ifølge et hvilket som helst af de foregående krav.
- 35 8. Topisk præparat ifølge et hvilket som helst af kravene 1 til 6.

9. Anvendelse af en ester, som defineret i krav 1, til fremstilling af et lægemiddel til enterisk eller topisk indgivelse til behandling af en thromboembolisk sygdom.
- 5' 10. Anvendelse ifølge krav 9, hvor esteren er som defineret i et hvilket som helst af kravene 2 til 5.
11. Anvendelse ifølge krav 9 eller 10, hvor lægemidlet er til enterisk indgivelse.
- 10 12. Anvendelse ifølge krav 9 eller 10, hvor lægemidlet er til topisk indgivelse.
13. C_2 - C_{10} -alkanoylester, som er opnåelig ved omsætning af et syrechlorid med et heparin med en molekylvægt på mindre end 6.000 dalton og som er udvalgt blandt
15 heparin-fraktioner, heparin-depolymerisationsprodukter og antikoagulerende mucopolysaccharider, der er fremstillet ud fra ikke-heparinkilder, idet esteren indeholder mere end 0,1 estergruppe pr. tetrasaccharidenhed, med en butanol/vand (3:2) fordelingskoefficient (som defineret i beskrivelsen) på mere end 1×10^{-4} , med en relativ permeabilitet (som
20 defineret i beskrivelsen), sammenlignet med heparin, på 1,5 eller mere og med et anti-Xa/APTT-forhold på mere end 1,5.
14. Ester ifølge krav 13, hvor estergrupperne er acetylgrupper.
- 25 15. Ester ifølge krav 13, hvor estergrupperne er C_3 - C_{10} -alkanoylgrupper.
16. Ester ifølge krav 15, hvor estergrupperne er propionyl-, butyryl- eller decanoyl-
30 grupper.
17. Ester ifølge et hvilket som helst af de foregående krav, hvor esteren har et anti-Xa/APTT-forhold på mere end 2,8.
- 35 18. Farmaceutisk aktivt præparat omfattende en ester ifølge krav 13, og en farmaceutisk acceptabel bærer eller fortyndingsmiddel.

19. Præparat ifølge krav 18, hvor esteren er som påberåbt i et hvilket som helst af kravene 14-17.

5 20. Anvendelse af en ester ifølge krav 13 til fremstillingen af et lægemiddel til behandlingen af thromboemboliske sygdomme.

10 21. Anvendelse ifølge krav 20, hvor esteren er som påberåbt i et hvilket som helst af kravene 14 til 17.

15 22. Anvendelse af en ester ifølge krav 13 til fremstilling af et lægemiddel til den selektive inhibering af faktor Xa, sammenlignet med global antikoaguleringsaktivitet.

20 23. Anvendelse ifølge krav 22, hvor esteren er som påberåbt i et hvilket som helst af kravene 14 til 17.

25

30

35

40