



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 187 508** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) МПК⁷ **C 07 D 475/04, A 61 K 31/522,**
A 61 P 35/00, 39/02, 37/00,
33/00/(C 07 D 475/04, 239:00,
241:00)

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 96121625/04, 06.11.1996
(24) Дата начала действия патента: 06.11.1996
(30) Приоритет: 07.11.1995 CH 03145/95
(43) Дата публикации заявки: 27.01.1999
(46) Дата публикации: 20.08.2002
(56) Ссылки: EP 600460B 1, 08.06.1994.
EP293029A1, 30.11.1988. GB1379532A1,
02.01.1975. EP495204A1, 22.07.1992.
М.Д.МАШКОВСКИЙ. Лекарственные средства. -
М.: Медицина, 1993, ч.11, с.23-26.
(98) Адрес для переписки:
101000, Москва, М.Златоустинский пер., д.10,
кв.15, "ЕВРОМАРКПАТ", И.А.Веселицкой

(71) Заявитель:
ЭПРОВА АГ (CH)
(72) Изобретатель: МЮЛЛЕР Ханс Рудольф (CH),
УЛЬМАН Мартин (CH), МОЗЕР Рудольф
(CH), АММАН Томас (CH)
(73) Патентообладатель:
ЭПРОВА АГ (CH)
(74) Патентный поверенный:
Веселицкая Ирина Александровна

(54) **СТАБИЛЬНЫЕ КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ СОЛИ ТЕТРАГИДРОФОЛIEВОЙ КИСЛОТЫ (ВАРИАНТЫ), СПОСОБ
ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ**

(57)
Изобретение относится к новым
стабильным кристаллическим кальциевой или
магниево солям (6R,S),(6S) или
(6R)-тетрагидрофолиевой кислоты, способу
их получения и фармацевтической
композиции на их основе. Указанные соли
могут найти применение как средства,
регулирующие метаболические процессы в
организме, в качестве антагонистов известных
противоопухолевых препаратов, например
таких, как метотрексат, в качестве антидота
для усиления переносимости антагонистов
фолиевой кислоты, для лечения
мегалобластической фолиевозависимой
анемии и аутоиммунных заболеваний, для
усиления переносимости ряда
антипаразитарных средств, а также для
снижения токсичности

дидеазатетрагидрофолатов при
химиотерапии. Способ получения указанных
солей заключается в том, что
соответствующую соль тетрагидрофолиевой
кислоты кристаллизуют из полярной среды
при значениях pH 7 - 10, преимущественно
при повышенной температуре и/или из
разбавленных растворов, в частности из воды
или ее смеси со смешивающимся с водой
растворителем, таким, как уксусная кислота
или низший органический спирт. Изобретение
также относится к фармацевтической
композиции, содержащей указанные соли. 4 с.
и 3 з.п.ф-лы, 1 табл., 1 ил.





RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 187 508** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) Int. Cl.⁷ **C 07 D 475/04, A 61 K 31/522,**
A 61 P 35/00, 39/02, 37/00,
33/00/(C 07 D 475/04, 239:00,
241:00)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 96121625/04, 06.11.1996
(24) Effective date for property rights: 06.11.1996
(30) Priority: 07.11.1995 CH 03145/95
(43) Application published: 27.01.1999
(46) Date of publication: 20.08.2002
(98) Mail address:
101000, Moskva, M.Zlatoustinskij per., d.10,
kv.15, "EVROMARKPAT", I.A.Veselitskoj

(71) Applicant:
EhPROVA AG (CH)
(72) Inventor: MJuLLER Khans Rudol'f (CH),
UL'MAN Martin (CH), MOZER Rudol'f
(CH), AMMAN Tomas (CH)
(73) Proprietor:
EhPROVA AG (CH)
(74) Representative:
Veselitskaja Irina Aleksandrovna

(54) **STABLE CRYSTALLINE SALTS OF TETRAHYDROFOLIC ACID (VARIANTS), METHOD OF THEIR PREPARING AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmacy. SUBSTANCE: invention relates to novel stable crystalline calcium or magnesium salts of (6R,S)-, (6S)- or (6R)-tetrahydrofolic acid, method of their preparing and a pharmaceutical composition based on thereof. Method of preparing the indicated salts involves crystallization of the corresponding tetrahydrofolic acid salt from polar medium at pH values from 7 to 10, at increased temperature mainly and/or from diluted solutions, in part, from water or its mixture with water-soluble solvent, for example, acetic acid or a lower organic alcohol. Invention relates to also a pharmaceutical composition comprising indicated salts. The proposed salts can be

used as an agent regulating metabolic processes in body, as antagonists of the known antitumor preparations, for example, methotrexate, as an antidote for enhancement of tolerance of folic acid antagonists, for treatment of megaloblastic folate-dependent anemia and autoimmune diseases, for enhancement of tolerance of antiparasitic agents and for decrease of toxicity of dideazatetrahydrofolates in chemotherapy carrying out. EFFECT: improved method of preparing, valuable medicinal properties. 7 cl, 13 ex



Изобретение относится к кристаллическим солям N[4-[[[(2-амино-1, 4, 5, 6, 7, 8-гексагидро-4-оксо-(6S)-, -(6R)и -(6R,S)-птеридинил)метил]амино] бензоил]-L-глутаминовой кислоты (называемым в последующем солями тетрагидрофолиевой кислоты), к их применению, а также к способу их получения.

Производные тетрагидрофолиевой кислоты содержат два асимметричных центра. При этом в результате синтеза этих производных из фолиевой кислоты, N-(птероил)-L-глутаминовой кислоты, содержащийся в остатке глутаминовой кислоты оптически активный C-атом представлен в L-форме, тогда как образующийся обычно путем гидрирования двойной связи в положении 5,6 птероильного остатка оптически активный C-атом в положении 6 представлен в рацемической, (6R, S)-форме. В соответствии с этим синтетические производные тетрагидрофолиевой кислоты состоят из смеси двух диастереомеров в соотношении 1:1.

В качестве лекарственных средств тетрагидрофолаты применяют преимущественно в виде кальциевой соли 5-формил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевой кислоты (лейковорин) или 5-метил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевой кислоты для лечения мегалобластической фолиевозависимой анемии, в качестве антидота для усиления переносимости антагонистов фолиевой кислоты, прежде всего аминоптерина и метотрексата в терапии рака ("Antifolate rescue"), для усиления терапевтического эффекта фторированных пиримидинов и лечения аутоиммунных заболеваний, таких, как псориаз и ревматический артрит, для усиления переносимости определенных антипаразитарных средств, в частности триметоприм-сульфаметоксазола, а также для снижения токсичности дидеазатетрагидрофолатов при химиотерапии. В организме отдельные производные тетрагидрофолиевой кислоты могут взаимотрансформироваться (фолатные циклы). Тетрагидрофолиевая кислота играет при этом главную роль. Точно так же тетрагидрофолиевая кислота служит основной субстанцией для получения различных производных тетрагидрофолиевой кислоты.

Непосредственное применение солей тетрагидрофолиевой кислоты в качестве лекарственных средств, равно как и в качестве основной субстанции для получения различных производных тетрагидрофолиевой кислоты до настоящего времени, было безуспешным по двум причинам. Во-первых, из-за трудности получения солей тетрагидрофолиевой кислоты с приемлемой для фармацевтического действующего вещества степенью чистоты и, во-вторых, из-за нестабильности тетрагидрофолиевой кислоты, проявляющейся прежде всего в подверженности окислению [см. также A.L.Fitzhugh, Pteridines 4(4), 187-191 (1993)]. Следует при этом отметить, что при наиболее распространенном в фармацевтике парентеральном назначении тетрагидрофолатов обязательным условием является по крайней мере приблизительно

нейтральное значение pH вводимого раствора. Поэтому соли тетрагидрофолиевой кислоты при таком применении наиболее предпочтительно отвечают по своей форме указанному условию. Для устранения нестабильности тетрагидрофолиевой кислоты применяли различные методы, такие, в частности, как максимально возможное исключение кислорода или введение добавок агентов, защищающих от окисления, как, например, аскорбиновая кислота. Однако полное исключение кислорода при фармацевтическом применении едва ли осуществимо, а если это и может быть реализовано, то связано с очень большими затратами, а добавление агентов, защищающих от окисления, при фармацевтическом применении также не всегда возможно. По этим причинам до настоящего времени не удалось найти технически приемлемого способа, который был бы пригоден для получения солей тетрагидрофолиевой кислоты с высокой степенью чистоты, достаточной стабильностью и который тем самым обеспечивал бы возможность фармацевтического применения солей тетрагидрофолиевой кислоты.

Неожиданным образом было найдено, что соли (6S)-, (6R)- или (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты можно получать с высокой степенью чистоты и очень хорошей стабильностью путем кристаллизации соответствующей соли оптически чистой (6S)- или оптически чистой (6R)-,обогащенной (6S)- или обогащенной (6R)- или также (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты. Полученные таким путем кристаллические соли (6S)-, (6R)и/или (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты в соответствующей форме при комнатной температуре отличаются практически неограниченной стабильностью. Они пригодны для использования в качестве компонента либо в качестве исходного материала для изготовления различных форм лекарственных средств, соответственно в качестве исходного материала для получения промышленным способом других производных тетрагидрофолиевой кислоты с высокой степенью чистоты.

Предметом изобретения в соответствии с этим являются кристаллические соли (6R,S)-, (6S)- и (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты. Для кристаллизации в качестве солей тетрагидрофолиевой кислоты предпочтительно применяют соли щелочноземельных металлов, прежде всего магниевую или кальциевую соль.

Другим предметом изобретения является способ получения кристаллических солей (6R,S)-, (6S)- и (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты, отличающийся тем, что соответствующую соль тетрагидрофолиевой кислоты кристаллизуют. Кристаллизацию солей тетрагидрофолиевой кислоты осуществляют при этом предпочтительно из полярной среды при значении pH от 7 до 10.

В качестве полярной среды пригодны прежде всего вода или смесь воды со смешивающимся с водой органическим растворителем, таким, как водорастворимые спирты, например метанол, этанол, н-пропанол, изопропанол, этиленгликоль, с низшей алифатической водорастворимой

карбоновой кислотой, такой, как, например, муравьиная кислота, уксусная кислота, молочная кислота, или с водорастворимыми амидами, такими, как, например, формамид, диметилформамид, диметилацетамид, 1-метилпирролидон, 2-метилпирролидон, 2-пиперидинон. Касательно типа

применяемого растворителя и соотношения компонентов в смеси не существует никаких особых ограничений, поскольку кристаллические соли тетрагидрофолиевой кислоты отличаются в принципе более полной растворимостью по сравнению с соответствующими аморфными формами.

Кристаллизацию осуществляют предпочтительно при повышенной температуре, более конкретно в интервале от 50 до 90°C, или из разбавленных растворов, более конкретно от 1 до 10%-ных.

Кристаллизация солей (6S)-, (6R)- и (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты происходит спонтанно или ее осуществляют затравкой соответствующей кристаллической солью тетрагидрофолиевой кислоты.

В качестве исходного материала кристаллизации пригодна предпочтительно аморфная или кристаллическая, чистая (6S)- или (6R)-тетрагидрофолиевая кислота, но может использоваться также рацемическая (6R,5)-тетрагидрофолиевая кислота, равно как и обогащенная (6S) или (6R)-тетрагидрофолиевая кислота. В качестве исходного материала пригодны при этом как выделенные твердые вещества, например (6R, S)-тетрагидрофолиевая кислота, (6S)-тетрагидрофолиевая кислота, серная кислота и аддитивные соли сульфоновой кислоты, получаемые согласно европейскому патенту EP-495204, так и получаемая *in situ* каталитическим гидрированием или восстановлением с помощью борогидрида из фолиевой кислоты тетрагидрофолиевая кислота.

Благодаря применению аморфной либо частично кристаллической оптически чистой тетрагидрофолиевой кислоты или ее солей в качестве исходного материала для кристаллизации с помощью вышеописанного способа получают кристаллические соли тетрагидрофолиевой кислоты с такой степенью чистоты (>98%) и такой стабильностью, достичь которых до настоящего времени не удавалось.

Изобретение относится также к применению кристаллических солей (6S)-, (6R) и/или (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты в качестве компонентов для изготовления лекарственных средств или для получения других производных тетрагидрофолиевой кислоты, так как кристаллические соли (6S)-, (6R)- и (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты благодаря их отличной стабильности в твердом виде сохраняют практически не ограниченное по времени устойчивое, очень высокое качество.

Изобретение относится далее также к фармацевтическим композициям, содержащим кристаллические соли (6S)-, (6R)- и/или (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты. Процесс получения этих фармацевтических композиций осуществляют с помощью известных способов, как, например, лиофилизация. Растворимость кристаллических солей тетрагидрофолиевой

кислоты в воде при 20°C составляет менее 1 мг/мл. Применение проводят аналогично применению известных субстанций, относящихся к группе тетрагидрофолатов, таких, например, как 5-формил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота.

Изобретение относится далее к способу разделения магниевой соли (6R, S)-тетрагидрофолиевой кислоты на оба диастереомера, т.е. магниевые соли (6S)- и (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты, осуществляемого путем фракционированной кристаллизации. Этот способ прост в осуществлении и продуктивен. Уже на первой стадии кристаллизации неочищенной рацемической магниевой соли (6R, S)-тетрагидрофолиевой кислоты получают кристаллическую магниевую соль (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты с долей (6R)-диастереомера более 95% при выходе энантиомеров свыше 50%. В ходе последующей кристаллизации, проводимой в аналогичных условиях, могут быть получены кристаллические магниевые соли (6S)- и (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты с более высокой степенью чистоты изомеров.

Ниже изобретение более подробно поясняется на примерах.

Примеры

Указанные в примерах количества соли тетрагидрофолиевой кислоты и содержание изомеров определяли соответственно с помощью ЖХВД.

Пример 1. Стабильность

Для определения стабильности кристаллических солей (6S)- и (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты тестируемые субстанции вместе с образцами для сравнения хранили при 25°C и влажности 60% в атмосфере азота, соответственно при 4°C в воздушной среде. Через дискретные интервалы времени определяли оставшееся количество соли тетрагидрофолиевой кислоты и указывали его в сравнении с исходным показателем (см. таблицу).

Кристаллические соли тетрагидрофолиевой кислоты даже после хранения в течение продолжительного времени оставались все еще очень светлыми. В отличие от них аморфные пробы изменяли цвет быстро и очень сильно. Содержание аморфной кальциевой соли (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты после хранения в течение одного месяца при 4°C в воздушной среде снижается по сравнению с кристаллической кальциевой солью (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты на 8%.

Пример 2. Порошковые рентгенограммы

Для характеристики структурных свойств (кристаллическости) кристаллических солей тетрагидрофолиевой кислоты применяли рентгеноструктурный анализ с использованием порошковых рентгенограмм этих субстанций (дифракционные спектры).

Кристаллические соли (6S)-, (6R)- и (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты обнаруживают спектры с хорошим разрешением, с четкими полосами и низким фоном. Спектры подтверждают высокую кристаллическость.

Пример 3

8,2 г (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в атмосфере азота в 100 мл

воды, содержащей 1 г тиоглицерина, с помощью 30%-ного едкого натра устанавливают на pH 3,3 и смешивают с раствором из 3,8 г хлорида кальция в 4 г воды. Образовавшийся раствор имеет значение pH 9,3. После перемешивания в течение 20 ч при комнатной температуре образовавшуюся суспензию, имеющую значение pH 10,0, фильтруют на нутче и остаток промывают небольшим количеством воды. После сушки получают 7,7 г слегка окрашенной в красноватый цвет кристаллической кальциевой соли (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6S)-изомера 51,1% и интегральной площадью пика 96%. Растворимость полученного продукта составляет менее 1 мг/мл воды (25°C).

Пример 4

28,6 г (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в атмосфере азота в 114 мл воды, с помощью 30%-ного едкого натра устанавливают на pH 7,5 и смешивают с раствором 48,5 г хлорида кальция в 500 мл воды. Образовавшуюся резинообразную массу нагревают до 90°C. После перемешивания в течение примерно одного часа получают ярко-желтую суспензию, которую в горячем состоянии фильтруют на нутче и промывают небольшим количеством воды. После сушки получают 17,3 г кристаллической кальциевой соли (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты бежевого цвета с содержанием (6S)-изомера 50,9% и интегральной площадью пика 94%.

Пример 5

4,0 г (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в атмосфере азота в 40 мл воды, содержащей 0,4 г тиоглицерина, с помощью 30%-ного едкого натра устанавливают на pH 8,5 и при 50° С смешивают с 2,0 г ацетата кальция. Медленно кристаллизующийся из образовавшегося раствора продукт бежевого цвета фильтруют на нутче и промывают водой. После сушки получают 3,64 г кристаллической кальциевой соли (6R, S)-тетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6S)-изомера 50,5% и интегральной площадью пика 94,6% (в виде соли, в пересчете на сухую субстанцию). Доля кальция составляет 1,12 эквивалента.

Пример 6

12,0 г (6S)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в атмосфере азота в 60 мл воды, содержащей 0,6 г тиоглицерина, с помощью 50%-ного едкого натра устанавливают на pH 7,5 и при 85°C смешивают с раствором из 22,5 г хлорида кальция в 20 мл воды. После перемешивания в течение 2 ч при 85°C выпавший в виде кристаллов продукт фильтруют на нутче и промывают водой. После сушки получают 12,9 г кристаллической кальциевой соли (6S)-тетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6S)-изомера 99,9% и интегральной площадью пика 96,8%. Растворимость полученного таким путем продукта в воде при 50°C и значении pH 6 составляет 0,12%.

Пример 7

При использовании 12,0 г (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты после обработки, аналогичной описанной в примере 6, получают 13,8 г кристаллической

кальциевой соли (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R) изомера 99% и интегральной площадью пика 93%. Растворимость полученного таким путем продукта в воде при 50°C и значении pH 6 составляет 0,07%.

Пример 8

40,0 г (6S)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в атмосфере азота в 160 мл воды и при 0-5°C с помощью 25%-ного аммиака устанавливают на pH 9,8. К образовавшемуся раствору добавляют 34 г хлорида магния в 34 мл воды. После установления значения pH на 7,0 и добавления 200 мл этанола выпавший в виде кристаллов продукт бежевого цвета фильтруют на нутче и промывают смесью этанол/вода. После сушки получают 37,0 г кристаллической магниевой соли (6S)-тетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6S)-изомера 99,4% и интегральной площадью пика 91,7%.

Пример 9

40,0 г (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в атмосфере азота в 400 мл воды, содержащей 4,0 г тиоглицерина, и смешивают с 6,0 г гидроксида магния и 60,0 г ацетата магния. С помощью 25%-ного аммиака устанавливают значение pH при 50 °C на 9,0. После охлаждения до 20 °C получают желеобразную массу, переходящую при нагревании до 35°C в жидкую суспензию. Эту суспензию фильтруют при 35°C на нутче и промывают водой. После сушки получают 18,0 г кристаллической магниевой соли (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-изомера 99,4% и интегральной площадью пика 92,0%.

Пример 10

20,0 г (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в атмосфере азота в 200 мл воды, содержащей 2 г тиоглицерина, смешивают с 2,7 г гидроксида магния и нагревают до 50°C. После добавления 30 г ацетата магния значение pH с помощью 25%-ного аммиака устанавливают на 7,3, раствор охлаждают до 20°C и перемешивают в течение ночи. Полученную суспензию фильтруют на нутче и промывают водой. После сушки получают 5,0 г кристаллической магниевой соли (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-изомера 94,8% и интегральной площадью пика 97,1%.

Пример 11

28,0 г (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в 110 мл воды и 75 мл метанола с содержанием 18 г тиоглицерина, затем смешивают с 9,5 г гидроксида магния и при 50°C с помощью 25%-ного аммиака устанавливают на значение pH 9,3. Образовавшуюся после охлаждения до -5 °C высокодисперсную суспензию фильтруют на нутче и промывают смесью метанол/вода. После сушки получают 10,5 г кристаллической магниевой соли (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6S)-изомера 49,5% и интегральной площадью пика 95,9%.

Пример 12

4,0 г (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в атмосфере азота в 16 мл воды, с помощью 25%-ного аммиака устанавливают на значение pH 9,7 и смешивают с раствором из 3,2 г хлорида магния в 3,2 мл воды. Образовавшийся прозрачный раствор вводят в 200 мл этанола.

Полученную светло-желтую суспензию после перемешивания в течение 2 ч фильтруют при 5°C на нутче и промывают холодной смесью этанол/вода. После сушки получают 4,5 г кристаллической магниевой соли (6R, S)-тетрагидрофолиевой кислоты с 30 содержанием (6S)-изомера 49,3% и интегральной площадью пика 90,3%.

В Европейском патенте 0600460 описан и запатентован способ разделения рацемической (6R, S)-тетрагидрофолиевой кислоты путем селективной кристаллизации (6S)-тетрагидрофолиевой кислоты при значениях pH между 4,8 и 5,3, предпочтительно при pH 4,9-5,2, в особенности при pH 5,0 (пункт 5). Напротив, в настоящей заявке описана и патентуется кристаллическая кальциевая и магниевая соль (6R,S)-, (6S) и (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты, а также способ получения указанных солей путем кристаллизации при значениях pH между 7 и 10.

Получаемый продукт/кристаллическое состояние

В EP 0600460 ни в одном из разделов описания изобретения не приводится никаких сведений, которые бы указывали на то, что кристаллическая соль тетрагидрофолиевой может быть получена по заявленному способу. Единственную ссылку на выделенную соль тетрагидрофолиевой кислоты в цитируемой EP можно найти на стр.3. При этом описан общепринятый способ выделения твердых веществ из раствора путем его концентрирования до выпадения из раствора целевого продукта. Полученный таким образом продукт не обладает кристаллическими свойствами.

Напротив, настоящее изобретение описывает кристаллический продукт и способ его получения.

Получаемый продукт/оптическое разделение

В EP во всех разделах описания изобретения всегда описывается более высокое содержание (6S)-продукта относительно исходного. Выделение кристаллических, рацемических продуктов, таких как, например, кальциевая соль (6R, S)-тетрагидрофолиевой кислоты, как описано в примерах 3,4 и 5, или магниевая соль (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты, как описано в примерах 11 и 12 настоящего изобретения, по цитируемой EP невозможно. Поэтому способы и полученные в результате этих способов продукты различны.

Ключевой параметр процесса/величина pH
В EP 0 600 460 описан и запатентован способ, который приводит при величинах pH между 4,8 и 5,3, предпочтительно между 4,9 и 5,2, в особенности при 5,0. Данные основаны на описании EP. При этом отмечается тенденция, что чем выше величина pH, тем выше селективность кристаллизации, а также, чем выше величина pH, тем выше выход кристаллизации.

Подобный уровень техники едва ли понудит специалиста вести поиск условий кристаллизации солей тетрагидрофолиевой кислоты за пределами этих узких областей pH, например при величинах pH между 7 и 10. Специалист, работающий в области тетрагидрофолиевой кислоты, также вряд ли стал бы искать условия кристаллизации при величинах pH выше, чем указано в EP, так как

из данных таблицы в этом патенте на стр.3, строки 12-33 можно сделать вывод, что незначительное повышение значения pH при кристаллизации от 4,5 до 5,0 вызывает существенное снижение выхода с 68 до 48% (при 45°C).

Специалист в данной области также вряд ли будет вести кристаллизацию при более высоких значениях pH ввиду известной высокой нестабильности тетрагидрофолиевой кислоты, а также ввиду того, что в литературе в качестве оптимальных условий стабильности растворов тетрагидрофолиевой кислоты приводятся значения pH между 5 и 6 (см., например, B.R.G.Kallen, Methods of Enzymology, 18B, 1971, 705-716, в частности стр.706, вторая глава).

Для доказательства новизны кристаллической кальциевой соли (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты по сравнению с EP 600 460 заявитель приводит эксперимент, включающий условия, идентичные приведенным в цитируемом патенте, и пример из этой заявки.

Итак, 10,0 г (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты добавляют к раствору 0,2 г ЭДТА в 75 мл воды. Путем дозирования по каплям 20%-ной натриевой щелочи получают прозрачный раствор с pH 6,5. При помощи 18%-ной соляной кислоты pH раствора доводят до 4,8 и раствор нагревают до 45°C. Полученную таким образом суспензию фильтруют, твердое вещество промывают водой и высушивают в вакууме.

Получают 6,87 г тетрагидрофолиевой кислоты. К маточнику от вышеописанной фильтрации добавляют 2,0 г дигидрата хлорида кальция и еще добавляют 2 н. натриевую щелочь до pH 6,0. Полученный прозрачный раствор концентрируют в вакууме до приблизительно 50 мл. Тонкую суспензию фильтруют, полученное в результате твердое вещество промывают водой и высушивают в вакууме. Получают 0,31 г твердого вещества (внутренний ссылочный номер Am 1007/b) с содержанием тетрагидрофолиевой кислоты 33,6%, кальция 6,0% и натрия 1% (все анализы выполнены методом ЖХВР). Маточник охлаждают до 5°C в течение 12 ч. Таким способом может быть получено дополнительное количество твердого вещества. После промывания водой и высушивания в вакууме получают 2,40 г твердого вещества (внутренний ссылочный номер Am 1007c) с содержанием тетрагидрофолиевой кислоты 39,9%, кальция 7,6% и натрия 9,7% (все анализы выполнены методом ЖХВР).

Кристаллическое состояние полученного таким образом продукта определяли методом рентгеновской дифракции (CuKa, камера Guinier-de Wolf 2). В качестве контрольного образца кристаллического вещества при измерении использовали кристаллическую кальциевую соль (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты, полученную согласно примеру 7 настоящей заявки (внутренний ссылочный номер Am 602/a).

Результат рентгено-структурного анализа наглядно представлен на прилагаемой копии полосок пленок. При этом узкие линии свидетельствуют о кристаллическом состоянии продуктов. (см. приложение). Эти результаты показывают, что ни первая фракция твердого вещества, выделенного

согласно EP 600 460 (Am 1007/a), ни вторая фракция (Am 1007/c) не проявляют свойства кристаллического вещества. Узкие линии в спектре Am 1007/c обусловлены только солевой составляющей этой фракции и не связаны с кристаллическим состоянием тетрагидрофолиевой кислоты. Напротив, контрольный образец (Am 602/a) имеет в спектре четкие линии, которые указывают на высокую кристалличность продукта, представляющую собой кальциевую соль (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты.

Поэтому на основании приведенных выше данных можно заключить, что по способу, описанному в EP-A-0 600 460, стр.3, строки 36-45, невозможно получить кристаллическую кальциевую соль (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты.

Производные из группы фолиевой кислоты широко применяются как средства, регулирующие метаболические процессы в организме. В частности, фолиат кальция или кальциевая соль 5-формилтетрагидрофолиевой кислоты, как в рацемической (6R, S)-форме, известный под названием лейковорин, так и в чистой (6S)-форме (под названием левофолиат) уже многие годы успешно присутствуют на мировом рынке. В частности, фолиат кальция применяется в качестве антагониста побочного действия известного противоопухолевого препарата метотрексата.

Из доступной литературы можно привести, например, известные справочники, такие, как М.Д. Машковский "Лекарственные средства", т. 2, стр.87, 88", Харьков, 1998 г.; "Лекарственные препараты зарубежных фирм в России", Москва, 1993 г.

Возможно использование в качестве антидота для усиления переносимости

антагонистов фолиевой кислоты, для лечения мегалобластической фолиевозависимой анемии и аутоиммунных заболеваний, для усиления переносимости ряда антипаразитарных средств, а также для снижения токсичности дидеазатетрагидрофолатов при химиотерапии.

Формула изобретения:

1. Кристаллическая кальциевая соль (6R,S),(6S) или (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты.

2. Кристаллическая магниевая соль (6R,S),(6S) или (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты.

3. Способ получения кристаллической кальциевой или магниевой соли (6R, S),(6S) или (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты, заключающийся в том, что соответствующую соль тетрагидрофолиевой кислоты кристаллизуют из полярной среды при значениях pH от 7 до 10.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что кристаллизацию осуществляют при повышенной температуре и/или из разбавленных растворов.

5. Способ по п.4, отличающийся тем, что кристаллизацию осуществляют в воде или в смеси воды со смешивающимся с водой органическим растворителем.

6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что в качестве смешивающегося с водой органического растворителя применяют уксусную кислоту или низший органический спирт.

7. Фармацевтическая композиция, содержащая кристаллическую кальциевую или магниевую соль (6R,S),(6S) или (6R)-тетрагидрофолиевой кислоты.

40

45

50

55

60

		Продолжительность хранения в месяцах					
		0	1/2	1	2	6	9
Кристаллическая Са- соль (6S)-тетрагидро- фолиевой кислоты	25° С, 60%, N ₂	100%	98,5%	97,2%	96,8%	97,7%	97,7%
	4° С, воздух	100%	95,5%	92,4%	89,2%	82,3%	76,0%
Кристаллическая Са- соль (6R)-тетрагидро- фолиевой кислоты	25° С, 60%, N ₂	100%	97,8%	96,1%	98,0%	97,1%	96,8%
	4° С, воздух	100%	85,9%	79,0%	73,0%	69,3%	69,2%
Кристаллическая Са- соль (6R,S)-тетрагидро- фолиевой кислоты	25° С, 60%, N ₂	100%	99,3%	98,0%	99,0%	97,8%	98,7%
	4° С, воздух	100%	96,5%	94,2%	89,0%	86,6%	86,2%