

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
1. September 2005 (01.09.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2005/080395 A2

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07D 475/04,  
A61K 31/522, A61P 35/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/CH2005/000092

(22) Internationales Anmeldedatum:  
18. Februar 2005 (18.02.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
285/04 20. Februar 2004 (20.02.2004) CH

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): CERBIOS-PHARMA S.A. [CH/CH]; Via Pian  
Scairolo 6, CH-6917 Barbengo (CH).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GIANCARLO,  
Francesca [IT/CH]; Via Bagena 8, CH-6926 Montagnola  
(CH). MOROSOLI, Moreno [CH/CH]; Via Battaglini,  
CH-6950 Tesserete (CH).

(74) Anwalt: ZINK, Markus, Peter; Patentanwaltsbüro Zink,  
Hochfelderstrasse 17 b, CH-8173 Neerach (CH).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,  
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,  
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,  
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,  
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,  
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,  
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,  
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,  
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,  
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL,  
PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-  
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-  
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-  
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der  
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR THE PRODUCTION OF CRYSTALLINE (6RS)-N(5)-FORMYL-5,6,7,8-TETRAHYDROFOLIC  
ACID

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON KRISTALLINER (6RS)-N(5)-FORMYL-5,6,7,8-TETRAHY-  
DROFOLSÄURE

(57) Abstract: The inventive method for the production of crystalline (6RS)-N(5)-formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolic acid or amorphous  
(6S)-N(5)-formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolic acid is characterized in that an aqueous solution of (6RS)- or (6S)-calcium folinate, which  
has a temperature of 40 °C to 50 °C, and an aqueous solution of hydrochloric acid or acetic acid are added to stirred water having a  
temperature of 2 °C to 12 °C, such that the temperature is kept at 2 °C to 12 °C in the mixture thus obtained when the two above-  
mentioned solutions are added and the pH value is kept at 2,5 to 3,5, the solid thus arising is isolated by means of filtration or  
centrifugation, the solid is initially washed with cold water and then with an aqueous organic solvent, and the washed solid, i.e.  
crystalline (6RS)-N(5)-formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolic acid or amorphous (6S)-N(5)-formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolic acid is dried at  
reduced pressure and obtained.

(57) Zusammenfassung: Das erfindungsgemässe Verfahren zur Herstellung von kristalliner (6RS)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydro-  
folsäure oder amorpher (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure, ist dadurch gekennzeichnet, dass man zu gerührtem Wasser,  
welches eine Temperatur von 2 °C bis 12 °C hat, gleichzeitig eine wässrige Lösung, welche eine Temperatur von 40 °C bis 50 °C  
hat, von (6RS)- oder (6S)-Calcium-Folinat, und eine wässrige Lösung von Salzsäure oder Essigsäure derart hinzugibt, dass im  
erhaltenen Gemisch während der Hinzugabe der beiden genannten Lösungen einerseits die Temperatur auf einem Wert von 2 °C  
bis 12 °C gehalten wird, und andererseits der pH-Wert auf einem Wert von 2,5 bis 3,5 gehalten wird, den entstandenen Festkörper  
mittels Filtration oder Zentrifugation isoliert, diesen Festkörper zuerst mit kaltem Wasser und dann mit einem wässrigen organi-  
schen Lösungsmittel wäscht, und den gewaschenen Festkörper, nämlich kristalline (6RS)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure  
oder amorphe (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure, unter reduzierten Druck trocknet und gewinnt.

WO 2005/080395 A2

Verfahren zur Herstellung von kristalliner (6RS)-N(5)-  
Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von kristalliner (6RS)-N(5)-Formyl-  
5 5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder amorpher (6S)-N(5)-  
Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch kristalline (6RS)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure und amorphe (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure  
10 als solche.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung einer konzentrierten, stabilen Lösung, insbesondere einer Injektionslösung oder Infusionslösung, des Natrium- oder Kaliumsalzes von (6RS)- oder  
15 der (6S)-Folinsäure sowie diese Lösung als solche.

N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure wird auch Folinsäure genannt.

Die pharmakologische Bedeutung von den gut löslichen Alkalimetallsalzen von reduzierten Folaten ist  
20 in der Beschreibungseinleitung von EP 0 667 159 beschrieben.

Der bekannte Stand der Technik zur Herstellung von Folinsäure ist in NO 172 492 beschrieben.

Mit diesen Hinweisen werden die in diesen bei-  
25 den Literaturstellen gemachten Aussagen auch als hierin offenbart betrachtet.

Es ist davon auszugehen, dass die gemäss diesen Verfahren hergestellte Folinsäure in amorpher Form vorliegt.

Kristalline Folinsäure wurde bis zum Anmelde-  
5 datum der vorliegenden Erfindung noch nicht beschrieben.

In Beispiel 1 von WO 93/17022 wird die Herstellung von reiner (6RS)-Folinsäure beschrieben. In diesem Beispiel wird eine "Fällung" ("precipitate") von (6RS)-Folinsäure erwähnt.

10 Aus dem in Figur 2 gezeigten Pulverröntgen-  
diagramm des gemäss diesem Beispiel erhaltenen Produktes ist ersichtlich, dass dieses Produkt mindestens 30 % an amorpher (6RS)-Folinsäure enthält.

Man würde erwarten, dass man Folinsäure durch  
15 direktes Ansäuern einer wässrigen Lösung eines wasserlöslichen Folinatsalzes erhalten würde.

Wenn man beispielsweise eine wässrige Lösung von Calcium-Folinat mit verdünnter Salzsäure ansäuert, dann erhält man ein unbehandelbares, gummiartiges Pro-  
20 dukt, und zwar selbst dann, wenn verschiedene Parameter, wie Temperatur, Konzentration, Reaktionszeit, variiert werden.

Gemäss Beispiel 6 von EP 0 293 029 wird eine wässrige Lösung von Calcium-(6S)-Folinat vorsichtig mit  
25 verdünnter Salzsäure versetzt, wobei die (6S)-Folinsäure ausfallen und durch Filtration gewonnen werden sollte.

Die Anmelderin der vorliegenden Erfindung konnte dieses Ausführungsbeispiel nicht wiederholen: es

wurde jeweils ein unbehandelbares, gummiartiges Produkt erhalten, obwohl verschiedene Parameter, wie Temperatur, Konzentration, Reaktionszeit, variiert wurden.

Gemäss E. Khalifa, A. N. Ganguly, J. H. Bieri  
5 und M. Viscontini, Helv. Chim. Acta, Vol. 63, 2554  
(1980) liegt die hierin beschriebene Folinsäure eindeutig als (6RS)-Diastereoisomerengemisch und in amorpher Form vor.

Demnach ist im Ausführungsbeispiel, welches in  
10 EP 0 667 159 beschrieben ist, amorphe (6RS)-Folinsäure verwendet worden.

Es ist allgemein bekannt, dass die biologisch aktive Form der reduzierten Folate die (6S)-Konfiguration hat; siehe beispielsweise E. E. van Tamelen, R. E.  
15 Hopla, Journal of the American Chemical Society, 101, 6114-6115, (1979).

Daraus folgt, dass die in EP 0 667 159 beschriebene Injektionslösung 50 % an inaktiver Substanz mit der (6R)-Konfiguration enthält. Das wiederum bedeutet,  
20 dass der menschliche Körper, dem eine solche Injektionslösung verabreicht wird, unnötig belastet wird (doppelte Dauer der Verabreichung und Verabreichung einer inaktiven Substanz).

Es ist ein Ziel der vorliegenden Erfindung,  
25 die oben genannten Nachteile zu überwinden.

Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, kristalline (6RS)-Folinsäure und amorphe (6S)-Folinsäure zur Verfügung zu stellen.

Ebenso soll ein Verfahren zur Herstellung dieser beiden Verbindungen zur Verfügung gestellt werden.

Es soll auch eine konzentrierte, stabile Lösung des Natrium- oder Kaliumsalzes von (6S)-Folinsäure zur Verfügung gestellt werden.

Es soll auch ein Verfahren zur Herstellung dieser Lösung, ausgehend von amorpher (6S)-Folinsäure, zur Verfügung gestellt werden.

Mit der vorliegenden Erfindung werden diese Ziele erreicht.

Es wurde nun völlig überraschend gefunden, dass man kristalline (6RS)-Folinsäure erhält, wenn man gemäss der Lehre des kennzeichnenden Teiles von Anspruch 1 vorgeht.

Es wurde auch gefunden, dass die gemäss der Lehre des kennzeichnenden Teiles von Anspruch 1 hergestellte amorphe (6S)-Folinsäure eine mit der kristallinen (6RS)-Folinsäure vergleichbare Stabilität hat.

Das erfindungsgemässe Verfahren zur Herstellung von kristalliner (6RS)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder amorpher (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure,

ist dadurch gekennzeichnet, dass man zu gerührtem Wasser, welches eine Temperatur von 2°C bis 12°C hat, gleichzeitig

- eine wässrige Lösung, welche eine Temperatur von 40°C bis 50°C hat, von (6RS)- oder (6S)-Calcium-Folinat, und

5 - eine wässrige Lösung von Salzsäure oder Essigsäure

derart hinzugibt, dass im erhaltenen Gemisch während der Hinzugabe der beiden genannten Lösungen einerseits die Temperatur auf einem Wert von 2°C bis 12°C gehalten wird, und andererseits der pH-Wert auf einem  
10 Wert von 2,5 bis 3,5 gehalten wird,

den entstandenen Festkörper mittels Filtration oder Zentrifugation isoliert,

diesen Festkörper zuerst mit kaltem Wasser und dann mit einem wässrigen organischen Lösungsmittel  
15 wäscht, und

den gewaschenen Festkörper, nämlich kristalline (6RS)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder amorphe (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure, unter reduzierten Druck trocknet und gewinnt.

20 Das erfindungsgemässe Verfahren zur Herstellung einer konzentrierten, stabilen Lösung, insbesondere einer Injektionslösung oder Infusionslösung, des Natrium- oder Kaliumsalzes von (6RS)- oder (6S)-Folinsäure,

ist dadurch gekennzeichnet, dass man kristalline (6RS)-Folinsäure oder amorphe (6S)-Folinsäure in  
25 Wasser, welches entgast und für die Herstellung von Injektionslösungen oder Infusionslösungen annehmbar ist,

bei Raumtemperatur unter einer Inertgasatmosphäre suspendiert, dann

eine wässrige Lösung von Natrium- oder Kaliumhydroxid, -hydrogencarbonat oder -carbonat portionenweise so lange hinzugibt, bis eine klare Lösung entstanden ist, welche den jeweils gewünschten pH-Wert aufweist,

die erhaltene Lösung einer sterilen Filtration unterwirft, und

die erhaltene sterile Lösung unter einer Inertgasatmosphäre in Vials oder in Ampullen abfüllt.

Die erfindungsgemäße konzentrierte, stabile Lösung, insbesondere eine Injektionslösung oder Infusionslösung, ist dadurch gekennzeichnet, dass sie nebst Wasser entweder (6S)-Natrium-Folinat oder (6S)-Kalium-Folinat enthält.

Diese erfindungsgemäße Lösung kann verwendet werden

- zur Herstellung eines Arzneimittels für Hilfeleistungen - rescue agent - nach Behandlung mit hohen Dosen an Methotrexat, oder

- zur Herstellung eines Arzneimittels, welches mit 5-Fluorouracil kombiniert wird, oder

- zur Herstellung eines Arzneimittels für die Behandlung von megaloblastischen Anämien und Dihydropteridin Reduktase Defizienz.

Bevorzugte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung sind in den abhängigen Ansprüchen definiert.

Figur 1 zeigt ein Pulverröntgendiagramm von erfindungsgemässer kristalliner (6RS)-Folinsäure.

5 Aus Figur 1 ist ersichtlich, dass die Verbindung (6RS)-Folinsäure hochkristallin ist.

Es wurde überraschend festgestellt, dass die gemäss der Lehre des kennzeichnenden Teiles von Anspruch 1 hergestellte (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofol-  
10 säure nicht in kristalliner Form erhältlich ist. Das entsprechende Pulverröntgendiagramm zeigt keine signifikanten Ausschläge (peaks).

Die nachfolgenden Beispiele illustrieren die vorliegende Erfindung.

15 Beispiel 1

250 g (6RS)-Calcium-Folinat, hergestellt gemäss NO 172 492, wurden in 3,3 Liter deionisiertem Wasser bei einer Temperatur von 55°C gelöst.

Diese klare Lösung (nachfolgend als Lösung A  
20 bezeichnet) wurde auf eine Temperatur von 50°C abgekühlt.

In ein 10 Liter Reaktorgefäss mit Kühl- und Rührvorrichtungen wurden 2,52 Liter deionisiertes Wasser gegeben und unter Rühren auf eine Temperatur von 6°C ab-  
25 gekühlt.

Zu diesem 6°C kalten Wasser wurden unter Rühren gleichzeitig die genannte Lösung A und 18%-ige wässrige Salzsäure mittels zwei peristaltischen Pumpen zugegeben.

5 Die Geschwindigkeit der Hinzugabe der Lösung A wurde so gewählt, dass die Temperatur im erhaltenen Gemisch zwischen 6°C und 10°C blieb.

Die relative Geschwindigkeit der Hinzugabe der 18%-igen wässrigen Salzsäure wurde so gewählt, dass der  
10 pH-Wert im erhaltenen Gemisch zwischen 2,8 und 3,2 blieb.

Die Hinzugabe der Lösung A und der Salzsäure war nach 3 Stunden beendet.

Die erhaltene Suspension wurde während 1 Stunde  
15 bei einer Temperatur von 6°C und 10°C weiter gerührt.

Der entstandene kristalline Festkörper wurde mittels Zentrifugation isoliert.

Der Festkörper wurde einmal mit deionisiertem Wasser und einmal mit einem 9:1 Gemisch (v/v) von Aceton  
20 und deionisiertem Wasser gewaschen. Beide Waschlösungen hatten eine Temperatur von 5°C bis 10°C.

Der gewaschene, kristalline Festkörper wurde unter reduziertem Druck (20 bis 30 mbar) bei Raumtemperatur während 2 Stunden und bei einer Temperatur von  
25 50°C während 1 Stunde getrocknet.

Es wurden 215 g kristalline (6RS)-Folinsäure erhalten.

HPLC-Reinheit: 99,6 %

HPLC-Assay/Gehalt: 100,3 %

Es folgt aus Figur 1, dass der erhaltene Festkörper kristallin war.

5           Dieser Festkörper wurde bei einer Temperatur von 2°C bis 8°C in einem Kühlschrank gelagert. Dabei wurden für diesen Festkörper die folgenden Stabilitätsdaten erhalten:

	Zeit (Monate)	Assay (HPLC)	Reinheit (HPLC)
10	0	99,4 %	99,78 %
	3	99,0 %	99,79 %
	6	99,1 %	99,75 %
	9	100,2 %	99,82 %
	12	99,9 %	99,79 %.

15           Beispiel 2

290 g (6S)-Calcium-Folinat, hergestellt gemäss EP 600 460 und NO 172 492, wurden in 4,9 Liter deionisiertem Wasser bei einer Temperatur von 58°C gelöst.

20           Diese klare Lösung (nachfolgend als Lösung B bezeichnet) wurde auf eine Temperatur von 45°C abgekühlt.

In ein 20 Liter Reaktorgefäß mit Kühl- und Rührvorrichtungen wurden 4 Liter deionisiertes Wasser gegeben und unter Rühren auf eine Temperatur von 6°C abgekühlt.

5 Zu diesem 6°C kalten Wasser wurden unter Rühren gleichzeitig die genannte Lösung B und 18%-ige wässrige Salzsäure mittels zwei peristaltischen Pumpen zugegeben.

Die Geschwindigkeit der Hinzugabe der Lösung B  
10 wurde so gewählt, dass die Temperatur im erhaltenen Gemisch zwischen 6°C und 10°C blieb.

Die relative Geschwindigkeit der Hinzugabe der 18%-igen wässrigen Salzsäure wurde so gewählt, dass der pH-Wert im erhaltenen Gemisch zwischen 2,8 und 3,2  
15 blieb.

Die Hinzugabe der Lösung B und der Salzsäure war nach 3 Stunden beendet.

Die erhaltene Suspension wurde während 1 Stunde bei einer Temperatur von 6°C und 10°C weiter gerührt.

20 Der entstandene amorphe Festkörper wurde mittels Zentrifugation isoliert.

Der Festkörper wurde einmal mit deionisiertem Wasser und einmal mit einem 94:6 Gemisch (v/v) von Ethanol und deionisiertem Wasser gewaschen. Beide Waschlösungen hatten eine Temperatur von 5°C bis 10°C.  
25

Der gewaschene, amorphe Festkörper wurde unter reduziertem Druck (20 bis 30 mbar) bei Raumtemperatur während 2 Stunden getrocknet.

5 Es wurden 146 g amorphe (6S)-Folinsäure erhalten.

HPLC-Reinheit: 99,2 %

HPLC-Assay/Gehalt: 99,0 %

Die Diastereoisomerenreinheit betrug 99,7 % (HPLC).

10 Dieser Festkörper wurde bei einer Temperatur von 2°C bis 8°C in einem Kühlschrank gelagert. Dabei wurden für diesen Festkörper die folgenden Stabilitätsdaten erhalten:

	Zeit (Monate)	Assay (HPLC)	Reinheit (HPLC)
15	0	99,0%	99,2%
	1	98,5%	99,0%
	2	98,1%	98,9%
	3	98,9%	98,9%
	6	98,1%	98,4%
20	12	97,8%	97,2%.

Beispiel 3

100 g Amorphe (6S)-Folinsäure, hergestellt gemäss Beispiel 2, wurden in 1,2 Liter entgastem, sterilem Wasser unter einer Stickstoffatmosphäre bei Raumtemperatur suspendiert.

Anschliessend wurde unter Rühren eine 10%-ige wässrige Natriumhydroxidlösung hinzugetropft, und zwar so lange, bis eine klare Lösung entstanden war, welche einen pH-Wert von 8,0 hatte.

Die erhaltene klare Lösung wurde durch Zugabe von entgastem, sterilem Wasser auf ein Volumen von 1,8 Liter verdünnt.

Diese verdünnte Lösung wurde einer sterilen Filtration (Porengrösse: 0,2 Mikrometer) unterworfen.

Das erhaltene sterile Filtrat wurde unter Stickstoffatmosphäre in 10 ml fassende Glasvials abgefüllt.

Diese Glasvials wurden bei einer Temperatur von 2°C bis 8°C in einem Kühlschrank gelagert. Dabei wurden für die in die Glasvials abgefüllte Lösung die folgenden Stabilitätsdaten erhalten:

Zeit (Monate)	Assay (HPLC)	Reinheit (HPLC)	
0	100,0%	98,4%	
1	101,0%	98,4%	
25	3	106,0%	98,3%

Zeit (Monate)	Assay (HPLC)	Reinheit (HPLC)
6	110,9%	98,9%
9	108,0%	98,1%
12	111,7%	97,6%.

5 Nach 12 Monaten war die Lösung immer noch klar; Niederschläge konnten keine festgestellt werden.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von kristalliner (6RS)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder amorpher (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure,
- 5                   dadurch gekennzeichnet, dass man zu gerührtem Wasser, welches eine Temperatur von 2°C bis 12°C hat, gleichzeitig
- eine wässrige Lösung, welche eine Temperatur von 40°C bis 50°C hat, von (6RS)- oder (6S)-Calcium-
- 10 Folinat, und
- eine wässrige Lösung von Salzsäure oder Essigsäure
- derart hinzugibt, dass im erhaltenen Gemisch während der Hinzugabe der beiden genannten Lösungen ei-
- 15 nerseits die Temperatur auf einem Wert von 2°C bis 12°C gehalten wird, und andererseits der pH-Wert auf einem Wert von 2,5 bis 3,5 gehalten wird,
- den entstandenen Festkörper mittels Filtration oder Zentrifugation isoliert,
- 20                   diesen Festkörper zuerst mit kaltem Wasser und dann mit einem wässrigen organischen Lösungsmittel wäscht, und
- den gewaschenen Festkörper, nämlich kristalline (6RS)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder amorphe (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure, un-
- 25 ter reduzierten Druck trocknet und gewinnt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das gerührte Wasser, zu welchem die beiden genannten Lösungen gleichzeitig hinzugegeben werden, eine Temperatur von 6°C bis 10°C hat.

5           3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, dass die wässrige Lösung von (6RS)-Calcium-Folinat eine Konzentration von 7,5 Gew.-% bis 8,5 Gew.-% hat.

10           4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, dass die wässrige Lösung von (6S)-Calcium-Folinat eine Konzentration von 3,0 Gew.-% bis 3,7 Gew.-%, vorzugsweise 3,5 Gew.-%, hat.

15           5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die wässrige Lösung von (6RS)- oder (6S)-Calcium-Folinat eine Temperatur von 46°C hat.

20           6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die wässrige Lösung von Salzsäure Raumtemperatur aufweist und eine Konzentration von 10 Gew.-% bis 20 Gew.-%, vorzugsweise 18 Gew.-%, hat.

25           7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass im erhaltenen Gemisch während der gleichzeitigen Hinzugabe der beiden genannten Lösungen die Temperatur auf einem Wert von 6°C bis 10°C gehalten wird.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass im erhaltenen Gemisch während der gleichzeitigen Hinzugabe der beiden genannten

Lösungen der pH-Wert auf einem Wert von 2,8 bis 3,2 gehalten wird.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass nach erfolgter gleichzeitiger Hinzugabe der beiden genannten Lösungen das erhaltene Gemisch noch 1 Stunde bei einer Temperatur von 6°C bis 10°C weiter gerührt wird.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass

10                   - im Falle der Verwendung von (6RS)-Calcium-Folinat als Ausgangsmaterial der entstandene kristalline Festkörper nach dem Waschen mit kaltem Wasser mit einem 9:1 Gemisch (v/v) von Aceton und Wasser gewaschen wird, und dass

15                   - im Falle der Verwendung von (6S)-Calcium-Folinat als Ausgangsmaterial der entstandene amorphe Festkörper nach dem Waschen mit kaltem Wasser mit einem 94:6 Gemisch (v/v) von Ethanol und Wasser gewaschen wird.

20                   11. Kristalline (6RS)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure und amorphe (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure.

25                   12. Kristalline (6RS)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure und amorphe (6S)-N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass diese beiden Verbindungen nach dem Verfahren gemäss einem der Ansprüche 1 bis 10 hergestellt sind.

13. Verwendung von kristalliner (6RS)-N(5)-  
Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder amorpher (6S)-  
N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure zur Herstellung  
einer wässrigen Lösung des Natrium- oder Kaliumsalzes  
5 von (6RS)- oder (6S)-Folinsäure.

14. Verfahren zur Herstellung einer konzentrierten, stabilen Lösung, insbesondere einer Injektionslösung oder Infusionslösung, des Natrium- oder Kaliumsalzes von (6RS)- oder (6S)-Folinsäure,

10 dadurch gekennzeichnet, dass man kristalline (6RS)-Folinsäure oder amorphe (6S)-Folinsäure in Wasser, welches entgast und für die Herstellung von Injektionslösungen oder Infusionslösungen annehmbar ist, bei Raumtemperatur unter einer Inertgasatmosphäre suspendiert,  
15 dann

eine wässrige Lösung von Natrium- oder Kaliumhydroxid, -hydrogencarbonat oder -carbonat portionenweise so lange hinzugibt, bis eine klare Lösung entstanden ist, welche den jeweils gewünschten pH-Wert aufweist,

20 die erhaltene Lösung einer sterilen Filtration unterwirft, und

die erhaltene sterile Lösung unter einer Inertgasatmosphäre in Vials oder in Ampullen abfüllt.

15 15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die kristalline (6RS)-Folinsäure oder die amorphe (6S)-Folinsäure nach dem Verfahren gemäss einem der Ansprüche 1 bis 10 hergestellt ist.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass die genannte klare Lösung von 2 Gew.-% bis 15 Gew.-%, insbesondere von 2 Gew.-% bis 6 Gew.-%, vorzugsweise 5 Gew.-%, (6RS)- oder (6S)-Natrium-Folinat oder (6RS)- oder (6S)-Kalium-Folinat enthält.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass die genannte klare Lösung einen pH-Wert im Bereich von 7,5 bis 8,5, insbesondere 7,9 bis 8,1, vorzugsweise 8,0, aufweist.

18. Konzentrierte, stabile Lösung, insbesondere eine Injektionslösung oder Infusionslösung, dadurch gekennzeichnet, dass sie nebst Wasser entweder (6S)-Natrium-Folinat oder (6S)-Kalium-Folinat enthält.

19. Lösung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass sie nach dem Verfahren gemäss einem der Ansprüche 14 bis 17 hergestellt ist.

20. Lösung nach einem der Ansprüche 18 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass sie von 2 Gew.-% bis 15 Gew.-%, insbesondere von 2 Gew.-% bis 6 Gew.-%, vorzugsweise 5 Gew.-%, (6S)-Natrium-Folinat oder (6S)-Kalium-Folinat enthält.

21. Lösung nach einem der Ansprüche 18 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass sie einen pH-Wert im Bereich von 7,5 bis 8,5, insbesondere 7,9 bis 8,1, vorzugsweise 8,0, aufweist.

22. Lösung nach einem der Ansprüche 18 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass sie weder ein Stabilisierungsmittel noch ein Komplexmierungsmittel enthält.

23. Lösung nach einem der Ansprüche 18 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass sie in Vials oder in Ampullen abgefüllt ist, welche in ihrem Innenraum eine Inertgasatmosphäre, insbesondere eine Stickstoffatmosphäre, haben.

5

24. Vials oder Ampullen, dadurch gekennzeichnet, dass in sie eine konzentrierte, stabile Lösung nach einem der Ansprüche 18 bis 23 abgefüllt ist.

25. Verwendung der Lösung nach einem der Ansprüche 18 bis 23 zur Herstellung eines Arzneimittels für Hilfeleistungen - rescue agent - nach Behandlung mit hohen Dosen an Methotrexat.

10

26. Verwendung der Lösung nach einem der Ansprüche 18 bis 23 zur Herstellung eines Arzneimittels, welches mit 5-Fluorouracil kombiniert wird.

15

27. Verwendung der Lösung nach einem der Ansprüche 18 bis 23 zur Herstellung eines Arzneimittels für die Behandlung von megaloblastischen Anämien und Dihydropteridin Reduktase Defizienz.

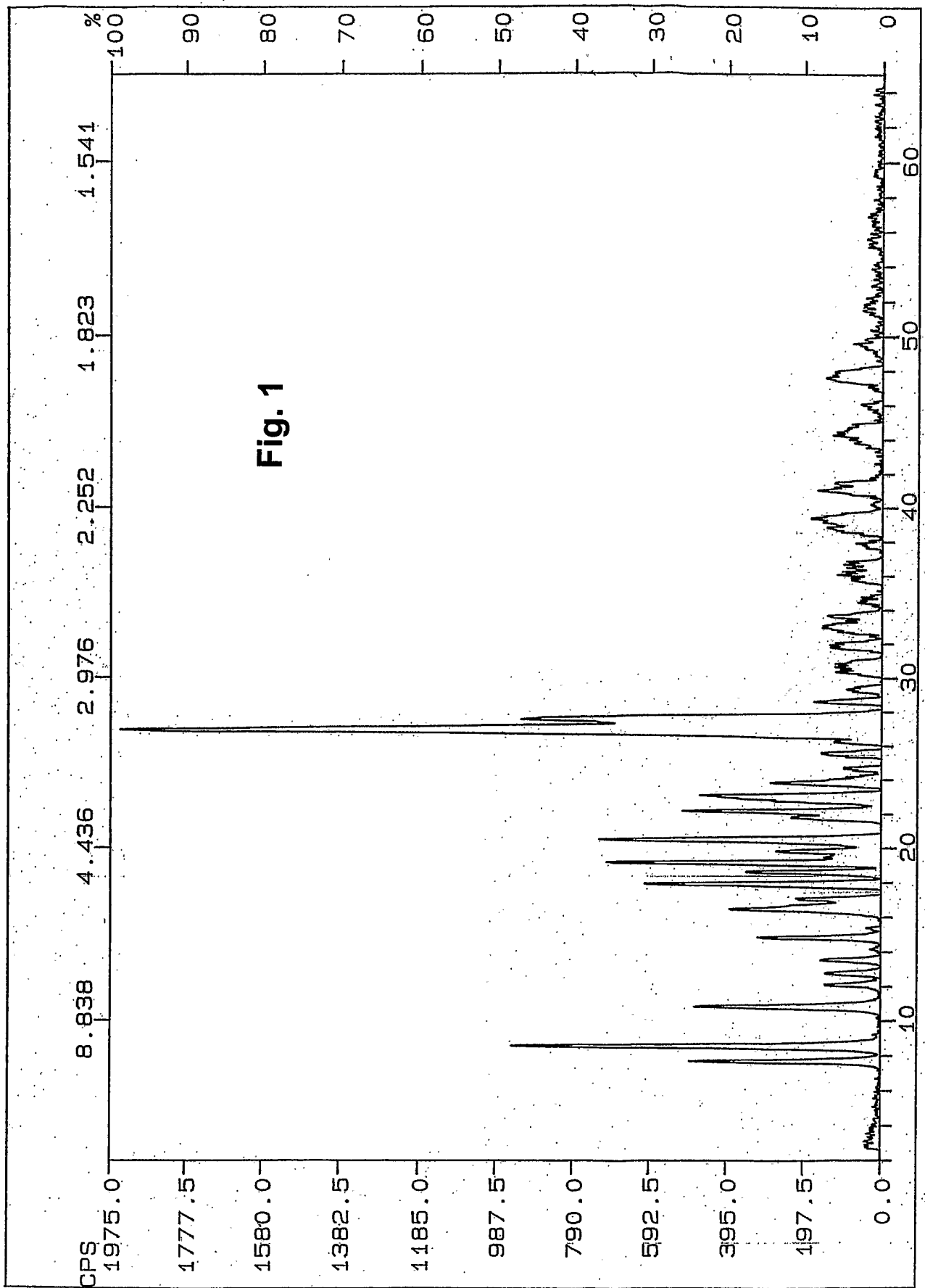


Fig. 2

