

SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) **CH** **699 426 B1**

(51) Int. Cl.: **C07D 475/04** (2006.01)
C07B 57/00 (2006.01)

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) **PATENTSCHRIFT**

(21) Anmeldenummer:	01491/09	(73) Inhaber:	Cerbios-Pharma S.A., Via Pian Scairolo 6 6917 Barbengo (CH)
(22) Anmeldedatum:	30.05.2007		
(24) Patent erteilt:	15.03.2010	(72) Erfinder:	Raffaella Manzotti, 22020 Pellio Intelvi (Como) (IT) Moreno Morosoli, 6950 Tesserete (CH)
(45) Patentschrift veröffentlicht:	15.03.2010		
(62) Teilgesuch von:	00856/07	(74) Vertreter:	Patentanwaltsbüro Zink, Birchlistrasse 11 8173 Riedt-Neerach (CH)

(54) **Verfahren zur Herstellung des stabilen amorphen Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure.**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung des stabilen, amorphen Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V.

Die Verfahrensschritte sind in Anspruch 1 definiert.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung des stabilen, amorphen Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V.

[0002] In der vorliegenden Erfindung wird für 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure manchmal die Abkürzung THF verwendet.

[0003] Eine kurze Zusammenfassung über die pharmakologische Bedeutung von N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure – hierin teilweise mit N(5)-Methyl-THF abgekürzt – und Derivaten davon ist in der Beschreibungseinleitung von EP 0 455 013 A1 gegeben. Im gleichen Dokument wird auch auf die Bedeutung der individuellen (6S)- und (6R)-Diastereoisomeren der N(5)-Methyl-THF hingewiesen. Ebenso wird hierin der Stand der Technik betreffend die Herstellung der reinen (6S)- und (6R)-Diastereoisomeren der N(5)-Methyl-THF beschrieben.

[0004] In EP 1 044 975 A1 werden stabile kristalline Salze von N(5)-Methyl-THF beschrieben. Ebenso werden hierin auch kristalline Calciumsalze von (6S)-N(5)-Methyl-THF beschrieben, wobei diese Salze im entsprechenden Pulverröntgendiagramm klar definierte 2-Theta-Werte haben.

[0005] Beim Herstellungsverfahren dieser Salze werden als Ausgangsmaterialien entweder das (6RS)-Diastereoisomere oder die bereits aufgetrennten (6S)- oder (6R)-Diastereoisomeren verwendet. Dieses Verfahren beinhaltet eine Temperaturbehandlung von über 60°C, vorzugsweise von über 85°C, wobei in den Ausführungsbeispielen Temperaturen von 90°C bis 100°C erwähnt sind.

[0006] Eine solche Temperaturbehandlung ist selbstverständlich für eine industrielle Herstellung dieser Salze wenig geeignet.

[0007] In EP 1 044 975 A1 ist nicht angegeben, wie die einzelnen (6S)- oder (6R)-Diastereoisomeren von N(5)-Methyl-THF erhalten worden sind.

[0008] Es ist ein Ziel der vorliegenden Erfindung, ein industriell anwendbares Verfahren zur Herstellung eines stabilen Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V zur Verfügung zu stellen.

[0009] Das mit diesem Verfahren erhältliche Produkt soll eine Diastereoisomerenreinheit von wenigstens 99 % haben.

[0010] Dieses Verfahren soll einfach sein und soll insbesondere keine thermische Behandlung beinhalten.

[0011] Mit der vorliegenden Erfindung werden diese Ziele erreicht.

[0012] Das erfindungsgemässe Verfahren zur Herstellung des stabilen, amorphen Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V ist dadurch gekennzeichnet, dass man kristalline (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV gemäss einem Verfahren herstellt, bei dem man

- in einem ersten Schritt zu einer wässrigen Lösung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel III mit einem Anteil des entsprechenden (6R)-Diastereoisomers von # 2 Gew.-% entweder Essigsäure oder eine Sulfonsäure in einer solchen Menge hinzugibt, bis ein pH-Wert von 5,5 erhalten wird,
- in einem zweiten Schritt die so erhaltene Lösung auf eine Temperatur im Bereich von 44°C bis 46°C erwärmt,
- in einem dritten Schritt zu dieser erwärmten Lösung entweder Essigsäure oder eine Sulfonsäure in einer solchen Menge hinzugibt, bis ein pH-Wert im Bereich von 4,3 bis 4,4 erhalten wird, wobei die Kristallisation von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV beginnt, wobei während dieser Kristallisation der pH-Wert im Bereich von 4,3 bis 4,4 durch kontinuierliche Hinzugabe von entweder Essigsäure oder einer Sulfonsäure aufrecht erhalten wird, und
- in einem vierten Schritt den so erhaltenen kristallinen Festkörper bei einer Temperatur im Bereich von 44°C bis 46°C abfiltriert und isoliert,
- die so hergestellte kristalline (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV in einem fünften Schritt in Wasser suspendiert, wobei das Wasser eine Temperatur von 35°C bis 41°C hat,
- in einem sechsten Schritt zu dieser Suspension eine NaOH-Lösung in einer solchen Menge portionenweise hinzugibt, bis ein pH-Wert im Bereich von 6,7 bis 6,9 erhalten wird,
- in einem siebten Schritt zur so hergestellten Lösung 0,90 Äquivalente an Calciumchlorid, bezogen auf die eingesetzte Menge an Verbindung der Formel IV, hinzugibt,
- in einem achten Schritt in der so hergestellten Lösung die Konzentration an Verbindung der Formel IV entweder durch Hinzugabe oder durch Entfernung von Wasser auf einen Wert im Bereich von 14 Gew.-% bis 16 Gew.-% einstellt,
- in einem neunten Schritt die Fällung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V durch die Hinzugabe einer kleinen Menge an vorgängig hergestellter Verbindung der Formel V startet,
- in einem zehnten Schritt das so hergestellte Gemisch während 1 Stunde bei einer Temperatur von 40°C hält,
- in einem elften Schritt danach innerhalb von 2 Stunden die Temperatur von 40°C auf eine Temperatur von 23°C senkt,
- in einem zwölften Schritt die genannte Temperatur von 23°C während 16 bis 18 Stunden aufrechterhält, und
- in einem dreizehnten Schritt den erhaltenen amorphen Festkörper isoliert.

[0013] Bevorzugte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung sind in den abhängigen Ansprüchen definiert.

[0014] Im folgenden Teil werden mögliche Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung beschrieben.

[0015] Dabei wird auch Bezug auf die Figuren genommen.

- Fig. 1 zeigt ein Reaktionsschema, beginnend mit der Verbindung der Formel I und endend mit der Verbindung der Formel V.
- Fig. 2a zeigt das «Differential Scanning Calorimetric»-Profil, DSC, der Verbindung der Formel IV. Auf der Abszisse ist die Temperatur in °C aufgetragen, und auf der Ordinate ist der endotherme Wärmefluss in mW aufgetragen.
- Fig. 2b zeigt das thermogravimetrische Profil, TGA, der Verbindung der Formel IV. Auf der Abszisse ist die Temperatur in °C aufgetragen. Auf der linken Ordinate sind Gewichtsprozent und auf der rechten Ordinate ist die Ableitung dieser Gewichtsprozent gegenüber der Zeit t (Minuten) aufgetragen. Die ausgezogene Linie bezieht sich auf die linke Ordinate, und die gestrichelte Linie bezieht sich auf die rechte Ordinate.
- Fig. 3a zeigt das Pulverröntgendiagramm der Verbindung der Formel IV. Auf der Abszisse sind die 2 Theta-Werte aufgetragen, und auf der Ordinate ist die Intensität (counts) aufgetragen.
- Fig. 3b zeigt die 2 Theta-Werte mit einem Fehler von etwa $\pm 0,2$ Grad des in Fig. 3a gezeigten Pulverröntgendiagramms.
- Fig. 4a zeigt das «Differential Scanning Calorimetric»-Profil, DSC, der Verbindung der Formel V. Auf der Abszisse ist die Temperatur in °C aufgetragen, und auf der Ordinate ist der endotherme Wärmefluss in mW aufgetragen.
- Fig. 4b zeigt das thermogravimetrische Profil, TGA, der Verbindung der Formel V. Auf der Abszisse ist die Temperatur in °C aufgetragen. Auf der linken Ordinate sind Gewichtsprozent und auf der rechten Ordinate ist die Ableitung dieser Gewichtsprozent gegenüber der Zeit t (Minuten) aufgetragen. Die ausgezogene Linie bezieht sich auf die linke Ordinate, und die gestrichelte Linie bezieht sich auf die rechte Ordinate.
- Fig. 5 zeigt das Pulverröntgendiagramm der Verbindung der Formel V. Auf der Abszisse sind die 2 Theta-Werte aufgetragen, und auf der Ordinate ist die Intensität (counts) aufgetragen.
- Fig. 6 zeigt das Raman-Spektrum der Verbindung der Formel V. Auf der Abszisse sind die Wellenzahlen in cm^{-1} aufgetragen, und auf der Ordinate ist die Raman-Intensität aufgetragen.

[0016] (6S)-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel II mit einem Anteil des entsprechenden (6R)-Diastereoisomers im Bereich von 4 Gew.-% bis 8 Gew.-% wurde gemäss EP 0 600 460 hergestellt.

[0017] Es war ganz überraschend, dass man eine wässrige Lösung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel III mit einem erhöhten Gehalt des (6S)-Isomers erhalten konnte, und zwar durch selektives Auskristallisieren des 1:1-Gemisches der diastereoisomeren Salze aus der Lösung.

[0018] Routinemässig konnte man eine Lösung isolieren, welche einen Gehalt des (6S)-Isomers von wenigstens 98% hatte.

[0019] Es war auch ganz überraschend, die entsprechende stabile, kristalline freie Säure der Formel IV aus der oben beschriebenen Lösung zu erhalten: zudem wurde während dieses Schrittes eine weitere Erhöhung der diastereoisomeren Reinheit von wenigstens 99% erreicht.

[0020] Die stabile, kristalline (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV kann in einer solchen diastereoisomeren Reinheit isoliert werden, dass diese Säure als wenigstens ein aktiver Bestandteil in einem Nahrungsergänzungsmittel oder in einem Medikament verwendet werden kann.

[0021] Aus der Säure der Formel IV wird das überraschend stabile, amorphe Calciumsalz der Formel V hergestellt.

[0022] Aus dem Pulverröntgendiagramm der Verbindung der Formel V – siehe Fig. 5 – geht hervor, dass diese Verbindung praktisch amorph ist.

[0023] Die vorliegende Erfindung wird durch die nachfolgenden Beispiele illustriert.

Beispiel 1 (Herstellung der wässrigen Lösung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel III)

[0024] 100 g (6S)-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel II mit einer Diastereoisomerenreinheit von (6S):(6R) von 92:8 – hergestellt gemäss EP 0 600 460 – wurden in Wasser, welches eine Temperatur von 7°C hatte, unter einer Stickstoffatmosphäre suspendiert.

[0025] Die Verbindung der Formel II wurde durch die Hinzugabe von 65 ml 20%iger (w/w) wässriger NaOH-Lösung aufgelöst. Der pH-Wert betrug dann 9,05.

[0026] Zu dieser Lösung wurden 23,7 g 36%ige (w/w) wässrige Formaldehydlösung innerhalb von 5 Minuten bei einer Temperatur von 8°C unter Rühren hinzugegeben.

[0027] Nach 15 Minuten wurde eine wässrige NaBH₄-Lösung, hergestellt durch Auflösen von 21,3 g NaBH₄ in 50 ml Wasser und 1 ml 20%iger (w/w) wässriger NaOH-Lösung, während 1 Stunde bei einer Temperatur von 8°C unter Rühren hinzugegeben.

[0028] Dieses Gemisch wurde während 30 Minuten bei einer Temperatur von 8°C und anschliessend während 20 Minuten bei einer Temperatur von 61°C gerührt.

[0029] Die Reaktionstemperatur wurde dann innerhalb von 2 Stunden auf 20°C erniedrigt.

[0030] Dann wurden 79 ml 18%ige (w/w) wässriger HCl-Lösung tropfenweise hinzugegeben. Der pH-Wert betrug dann 8,03.

[0031] Das Gemisch wurde auf eine Temperatur 4°C abgekühlt, um die Borat-Ausfällung zu ermöglichen. Nach 2 Stunden wurden die Borate durch Filtration entfernt.

[0032] Der pH-Wert der resultierenden Lösung wurde durch die Hinzugabe von 10 ml 18%ige (w/w) wässriger HCl-Lösung auf einen Wert von 7,03 eingestellt.

[0033] Diese Lösung wurde auf eine Temperatur von 20°C erwärmt, und dann wurden zuerst 1,62 g an Dinatrium-EDTA und dann 0,82 Äquivalente (25,44 g) an CaCl₂ · 2H₂O hinzugegeben.

[0034] Dann wurde der pH-Wert auf einen Wert von 6,9 durch die Hinzugabe von 2 ml 20%iger (w/w) wässriger NaOH-Lösung eingestellt.

[0035] Die selektive Kristallisation des Calciumsalzes von (6RS)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure erfolgte durch Animpfen der Lösung mit 100 mg von vorgängig hergestellten Kristallen des Calciumsalzes von (6RS)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure, gefolgt von einer Temperaturerniedrigung von Raumtemperatur auf eine Temperatur von 4°C innerhalb von 40 Minuten.

[0036] Die resultierende Suspension wurde unter Rühren während 18 Stunden bei einer Temperatur von 4°C gehalten.

[0037] Die erhaltenen Kristalle wurden abfiltriert.

[0038] Die so erhaltene wässrige Lösung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel III hatte einen Anteil des entsprechenden (6R)-Diastereoisomers von # 2 Gew.-%, bestimmt mittels HPLC an einer chiralen Säule.

Beispiel 2 (Herstellung von kristalliner (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV)

[0039] Zur wässrigen Lösung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel III mit einem Anteil des entsprechenden (6R)-Diastereoisomers von # 2 Gew.-%, hergestellt gemäss obigem Beispiel 1, wurden innerhalb von 20 Minuten 6 ml 100% Essigsäure hinzugegeben, bis ein pH-Wert von 5,5 erhalten wurde.

[0040] Danach wurde die Temperatur auf 45°C erhöht.

[0041] Bei dieser Temperatur wurden nacheinander 1,35 g Natriumdithionit und 1,9 g Dinatrium-EDTA zugegeben.

[0042] Zu dieser Lösung wurden 25 ml 100% Essigsäure innerhalb von 15 Minuten hinzugegeben.

[0043] Bei einem pH-Wert von 4,5 begann die Kristallisation von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV.

[0044] Der pH-Wert wurde im Bereich von 4,3 bis 4,4 durch kontinuierliche Hinzugabe von 100% Essigsäure (10 ml) gehalten.

[0045] Diese Suspension wurde 30 Minuten gerührt und anschliessend abfiltriert.

[0046] Der so erhaltene kristalline Festkörper wurde mit Wasser, welches eine Temperatur von 40°C hatte, gewaschen.

[0047] Es wurden 106,9 g an feuchtem kristallinem Festkörper erhalten.

[0048] Zur Bestimmung der Reinheit und des Verhältnisses der Diastereoisomeren wurde eine Probe der Verbindung der Formel IV mit 94%igem (v/v) wässrigem Ethanol gewaschen und dann unter reduziertem Druck getrocknet. Dabei wurden folgende Resultate erhalten:

HPLC-Reinheit: 96,45%

Verhältnis von (6S)/(6R) = 99,1 : 0,9 (bestimmt mittels chiraler HPLC).

[0049] Das so erhaltene Produkt der Formel IV hatte die folgenden Stabilitätsdaten (gelagert bei einer Temperatur von 4°C):

Zeit (Monate)	HPLC-Reinheit (%)
0	96.45
6	96.66

Beispiel 3 (Herstellung des amorphen Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V)

[0050] 106,9 g des feuchten kristallinen Festkörpers, hergestellt gemäss obigem Beispiel 2, wurden in 400 ml Wasser, welches eine Temperatur von 40°C hatte, suspendiert.

[0051] Zu dieser Suspension wurden 65 ml einer 20%igen (w/w) wässrigen NaOH-Lösung langsam hinzugegeben, bis eine klare Lösung mit einem pH-Wert von 6,8 erhalten wurde.

[0052] Zu dieser Lösung wurden 0,90 Äquivalente an $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (22,7 g, bezogen auf die Menge an isolierter trockener Verbindung der Formel IV) hinzugegeben.

[0053] Die HPLC-Bestimmung von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure ergab eine Konzentration in Lösung von $c = 14,7\%$ w/w.

[0054] Der pH-Wert wurde auf einen Wert von 6,8 durch die Hinzugabe von 1 ml 20%iger (w/w) wässriger NaOH-Lösung eingestellt.

[0055] Die Fällung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V wurde durch die Hinzugabe von 100 mg an vorgängig hergestellter Verbindung der Formel V gestartet.

[0056] Das so hergestellte Gemisch wurde während 1 Stunde bei einer Temperatur von 40°C gehalten.

[0057] Danach wurde innerhalb von 2 Stunden die Temperatur von 40°C auf eine Temperatur von 23°C gesenkt, und die Temperatur von 23°C wurde während 18 Stunden aufrechterhalten.

[0058] Wenn die Konzentration des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V in der Mutterlauge unter 7,5% war, wurde die Suspension abfiltriert.

[0059] Der erhaltene Festkörper wurde mit 50 ml Wasser, welches eine Temperatur von 10°C hatte, gewaschen.

[0060] Die nasse Verbindung der Formel V wurde in 250 ml mit 94%igem (v/v) wässrigem Ethanol bei einer Temperatur von 22°C suspendiert und während 30 Minuten gerührt.

[0061] Dann wurde diese Suspension abfiltriert und zweimal mit 50 ml 94%igem (v/v) wässrigem Ethanol gewaschen.

[0062] Man erhielt 95 g an nassem Festkörper, welcher unter reduziertem Druck getrocknet wurde. Man erhielt 47,3 g der Verbindung der Formel V.

[0063] Dabei wurden folgende analytische Daten erhalten:

HPLC-Reinheit: 98,75%

Verhältnis von (6S)/(6R) = 99,75 : 0,25 (bestimmt mittels chiraler HPLC).

[0064] Das so erhaltene Produkt der Formel V hatte die folgenden Stabilitätsdaten (gelagert bei einer Temperatur von 25°C unter Vakuum [2 mbar]):

Zeit (Monate)	HPLC Assay (%)	HPLC-Reinheit (%)
0	99,0	98,7
1	98,8	98,7
2	99,8	98,9
3	100,2	98,8
6	99,9	98,5
9	100,7	98,9

Patentansprüche

- Verfahren zur Herstellung des stabilen, amorphen Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V dadurch gekennzeichnet, dass man kristalline (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV gemäss einem Verfahren herstellt, bei dem man
 - in einem ersten Schritt zu einer wässrigen Lösung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel III mit einem Anteil des entsprechenden (6R)-Diastereoisomers von # 2 Gew.-% entweder Essigsäure oder eine Sulfonsäure in einer solchen Menge hinzugibt, bis ein pH-Wert von 5,5 erhalten wird,
 - in einem zweiten Schritt die so erhaltene Lösung auf eine Temperatur im Bereich von 44°C bis 46°C erwärmt,
 - in einem dritten Schritt zu dieser erwärmten Lösung entweder Essigsäure oder eine Sulfonsäure in einer solchen Menge hinzugibt, bis ein pH-Wert im Bereich von 4,3 bis 4,4 erhalten wird, wobei die Kristallisation von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV beginnt, wobei während dieser Kristallisation der pH-Wert im Bereich

- von 4,3 bis 4,4 durch kontinuierliche Hinzugabe von entweder Essigsäure oder einer Sulfonsäure aufrecht erhalten wird, und
- in einem vierten Schritt den so erhaltenen kristallinen Festkörper bei einer Temperatur im Bereich von 44°C bis 46°C abfiltriert und isoliert,
 - die so hergestellte kristalline (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV in einem fünften Schritt in Wasser suspendiert, wobei das Wasser eine Temperatur von 35°C bis 41°C hat,
 - in einem sechsten Schritt zu dieser Suspension eine NaOH-Lösung in einer solchen Menge portionenweise hinzugebt, bis ein pH-Wert im Bereich von 6,7 bis 6,9 erhalten wird,
 - in einem siebten Schritt zur so hergestellten Lösung 0,90 Äquivalente an Calciumchlorid, bezogen auf die eingesetzte Menge an Verbindung der Formel IV, hinzugebt,
 - in einem achten Schritt in der so hergestellten Lösung die Konzentration an Verbindung der Formel IV entweder durch Hinzugabe oder durch Entfernung von Wasser auf einen Wert im Bereich von 14 Gew.-% bis 16 Gew.-% einstellt,
 - in einem neunten Schritt die Fällung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V durch die Hinzugabe einer kleinen Menge an vorgängig hergestellter Verbindung der Formel V startet,
 - in einem zehnten Schritt das so hergestellte Gemisch während 1 Stunde bei einer Temperatur von 40°C hält,
 - in einem elften Schritt danach innerhalb von 2 Stunden die Temperatur von 40°C auf eine Temperatur von 23°C senkt,
 - in einem zwölften Schritt die genannte Temperatur von 23°C während 16 bis 18 Stunden aufrechterhält, und
 - in einem dreizehnten Schritt den erhaltenen amorphen Festkörper isoliert.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man den am Schluss des vierten Schrittes erhaltenen kristallinen Festkörper mit Wasser, welches eine Temperatur von etwa 40°C hat, wäscht.
 3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, dass die im dritten Schritt erwähnte Sulfonsäure p-Toluolsulfonsäure ist.
 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass man die im ersten Schritt erwähnte wässrige Lösung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel III mit einem Anteil des entsprechenden (6R)-Diastereoisomers von # 2 Gew.-% gemäss einem Verfahren herstellt, bei dem man (6S)-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel II mit einem Anteil des entsprechenden (6R)-Diastereoisomers im Bereich von 4 Gew.-% bis 8 Gew.-% in Wasser methyliert,
 - zum erhaltenen methylierten Reaktionsgemisch von 0,70 bis 0,82 Äquivalente, bezogen auf die eingesetzte Menge an THF, an Calciumchlorid hinzugebt,
 - aus der erhaltenen wässrigen Lösung das Calciumsalz von (6RS)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure selektiv auskristallisiert und abtrennt, und
 - die wässrige Lösung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel III mit einem Anteil des entsprechenden (6R)-Diastereoisomers von # 2 Gew.-% gewinnt.
 5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Calciumchlorid in fester Form oder in der Form einer wässrigen Lösung hinzugegeben wird.
 6. Verfahren nach einem der Ansprüche 4 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die selektive Kristallisation des Calciumsalzes von (6RS)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure durch Animpfen mit vorgängig hergestellten Kristallen des Calciumsalzes von (6RS)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure erfolgt, gefolgt von einer Temperaturerniedrigung von Raumtemperatur auf eine Temperatur im Bereich von 3°C bis 5°C, und dass diese Temperatur während 16 bis 18 Stunden aufrecht gehalten wird.
 7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass man den am Schluss des dreizehnten Schrittes erhaltenen Festkörper mit Wasser, welches eine Temperatur von etwa 10°C hat, wäscht, den gewaschenen Festkörper in 94%igem wässrigen Ethanol bei Raumtemperatur suspendiert und anschliessend den so behandelten Festkörper mittels Filtration isoliert.
 8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das im siebten Schritt erwähnte Calciumchlorid in fester Form oder in der Form einer wässrigen Lösung hinzugegeben wird.
 9. Stabiles, amorphes Calciumsalz von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V dadurch erhältlich, dass man kristalline (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV gemäss einem Verfahren herstellt, bei dem man
 - in einem ersten Schritt zu einer wässrigen Lösung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel III mit einem Anteil des entsprechenden (6R)-Diastereoisomers von # 2 Gew.-% entweder Essigsäure oder eine Sulfonsäure in einer solchen Menge hinzugebt, bis ein pH-Wert von 5,5 erhalten wird,
 - in einem zweiten Schritt die so erhaltene Lösung auf eine Temperatur im Bereich von 44°C bis 46°C erwärmt,
 - in einem dritten Schritt zu dieser erwärmten Lösung entweder Essigsäure oder eine Sulfonsäure in einer solchen Menge hinzugebt, bis ein pH-Wert im Bereich von 4,3 bis 4,4 erhalten wird, wobei die Kristallisation von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV beginnt, wobei während dieser Kristallisation der pH-Wert im Bereich von 4,3 bis 4,4 durch kontinuierliche Hinzugabe von entweder Essigsäure oder einer Sulfonsäure aufrechterhalten wird, und

CH 699 426 B1

- in einem vierten Schritt den so erhaltenen kristallinen Festkörper bei einer Temperatur im Bereich von 44°C bis 46°C abfiltriert und isoliert,
 - die so hergestellte kristalline (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel IV in einem fünften Schritt in Wasser suspendiert, wobei das Wasser eine Temperatur von 35°C bis 41°C hat,
 - in einem sechsten Schritt zu dieser Suspension eine NaOH-Lösung in einer solchen Menge portionenweise hinzugibt, bis ein pH-Wert im Bereich von 6,7 bis 6,9 erhalten wird,
 - in einem siebten Schritt zur so hergestellten Lösung 0,90 Äquivalente an Calciumchlorid, bezogen auf die eingesetzte Menge an Verbindung der Formel IV, hinzugibt,
 - in einem achten Schritt in der so hergestellten Lösung die Konzentration an Verbindung der Formel IV entweder durch Hinzugabe oder durch Entfernung von Wasser auf einen Wert im Bereich von 14 Gew.-% bis 16 Gew.-% einstellt,
 - in einem neunten Schritt die Fällung des Calciumsalzes von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure der Formel V durch die Hinzugabe einer kleinen Menge an vorgängig hergestellter Verbindung der Formel V startet,
 - in einem zehnten Schritt das so hergestellte Gemisch während 1 Stunde bei einer Temperatur von 40°C hält,
 - in einem elften Schritt danach innerhalb von 2 Stunden die Temperatur von 40°C auf eine Temperatur von 23°C senkt,
 - in einem zwölften Schritt die genannte Temperatur von 23°C während 16 bis 18 Stunden aufrechterhält, und
 - in einem dreizehnten Schritt den erhaltenen amorphen Festkörper isoliert.
10. Stabiles, amorphes Calciumsalz von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure nach Anspruch 9, dadurch erhältlich, dass man das Verfahren gemäss einem der Ansprüche 2 bis 8 durchführt.
11. Stabiles, amorphes Calciumsalz von (6S)-N(5)-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure nach einem der Ansprüche 9 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass es
- das in Fig. 4a gezeigte «Differential Scanning Calorimetric»-Profil, DSC,
 - das in Fig. 4b gezeigte thermogravimetrische Profil, TGA,
 - das in Fig. 5 gezeigte Pulverröntgendiagramm, und
 - das in Fig. 6 gezeigte Raman-Spektrum hat.

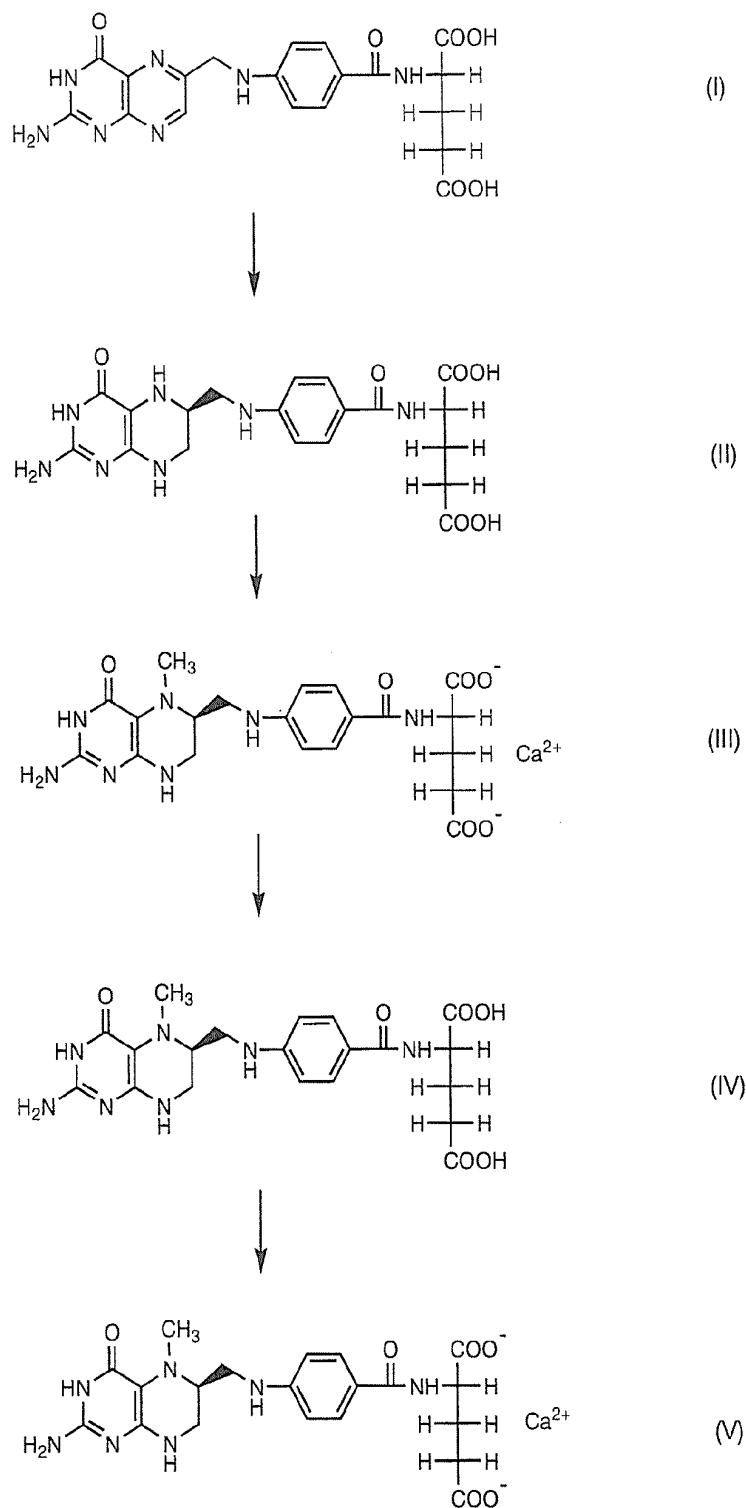


Fig.1

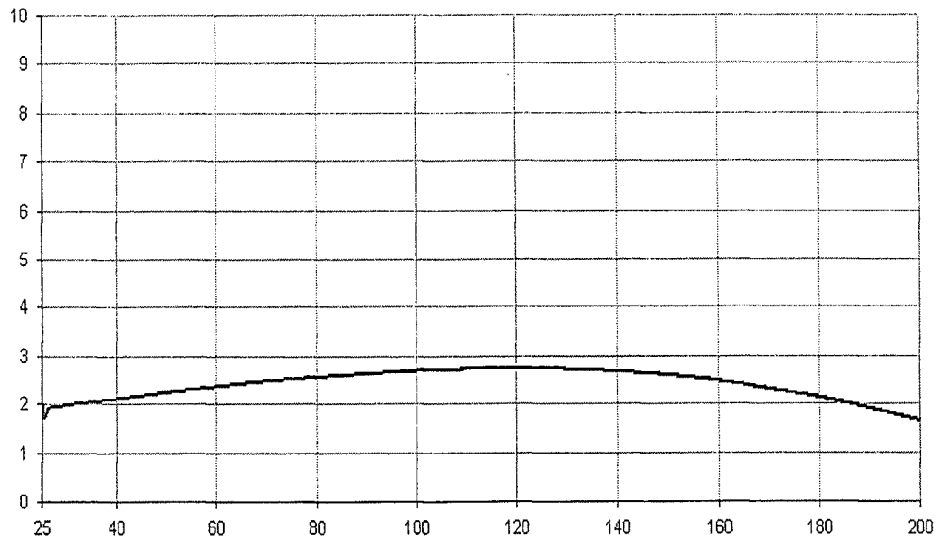


Fig. 2a

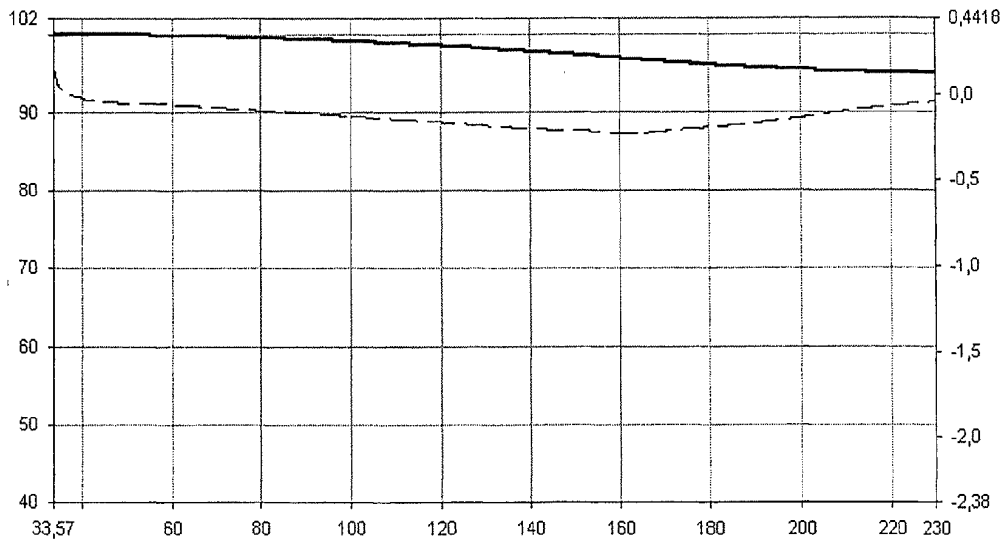


Fig. 2b

CH 699 426 B1

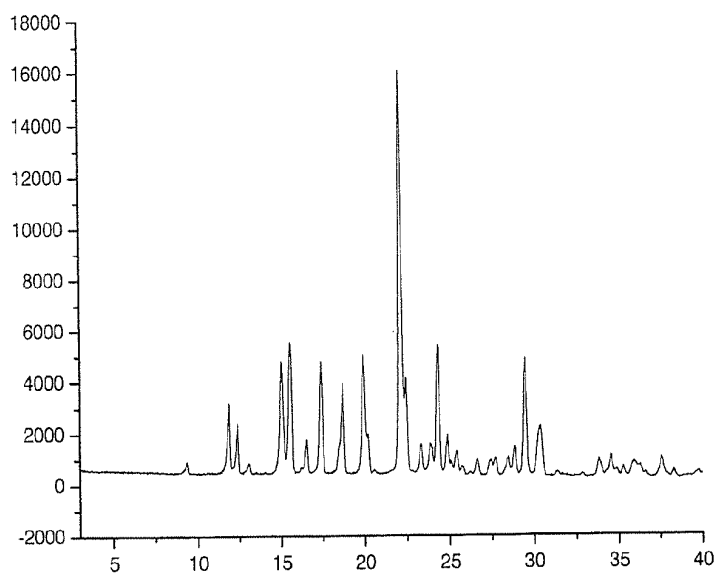


Fig.3a

CH 699 426 B1

Pos.[°2Th.]	Height[cts]	FWHM[°2Th.]	d-spacing[Å]	Rel.Int.[%]
9.3431	359.62	0.0836	9.46587	2.73
11.8681	2647.01	0.1171	7.45705	20.13
12.3773	1821.97	0.1171	7.15137	13.85
13.0412	401.95	0.1171	6.78879	3.06
15.0256	3901.81	0.1673	5.89638	29.67
15.5983	4007.87	0.1506	5.68114	30.47
16.2341	654.91	0.0669	5.46005	4.98
16.5335	1150.34	0.1338	5.36185	8.75
17.4160	4331.05	0.1506	5.09210	32.93
18.4448	951.34	0.1171	4.81033	7.23
18.7080	3064.94	0.1506	4.74324	23.30
19.9280	4004.29	0.1506	4.45553	30.45
20.1856	1379.90	0.1004	4.39924	10.49
20.5606	181.70	0.1004	4.31984	1.38
22.1764	13152.35	0.1673	4.00862	100.00
22.4365	3415.42	0.1004	3.96273	25.97
23.3256	1040.66	0.1171	3.81365	7.91
23.8520	1007.47	0.1224	3.72759	7.66
23.9477	901.13	0.0816	3.72213	6.85
24.3286	4533.85	0.2040	3.65564	34.47
24.8526	1398.77	0.1632	3.57973	10.64
25.0754	450.57	0.1020	3.54842	3.43
25.3878	821.59	0.2244	3.50547	6.25
25.7370	319.21	0.1224	3.45869	2.43
26.6345	568.65	0.1632	3.34414	4.32
27.4247	511.56	0.0816	3.24956	3.89
27.6955	634.16	0.1224	3.21839	4.82
28.4575	553.70	0.2040	3.13392	4.21
28.8157	980.98	0.1836	3.09577	7.46
29.4988	3680.74	0.2448	3.02563	27.99
30.1602	898.39	0.1224	2.96076	6.83
30.4262	1440.45	0.1632	2.93548	10.95
31.3576	124.72	0.1632	2.85038	0.95
32.8840	117.00	0.1632	2.72147	0.89
33.7872	501.16	0.1632	2.65076	3.81
34.5202	607.26	0.1428	2.59614	4.62
34.8769	250.91	0.1224	2.57039	1.91
35.2871	275.14	0.1632	2.54145	2.09
35.8915	432.75	0.3672	2.50003	3.29
36.2611	305.22	0.2040	2.47539	2.32
36.5806	123.96	0.1224	2.45449	0.94
37.5778	586.47	0.2448	2.39162	4.46
38.2761	209.70	0.1428	2.34958	1.59

Fig 3b

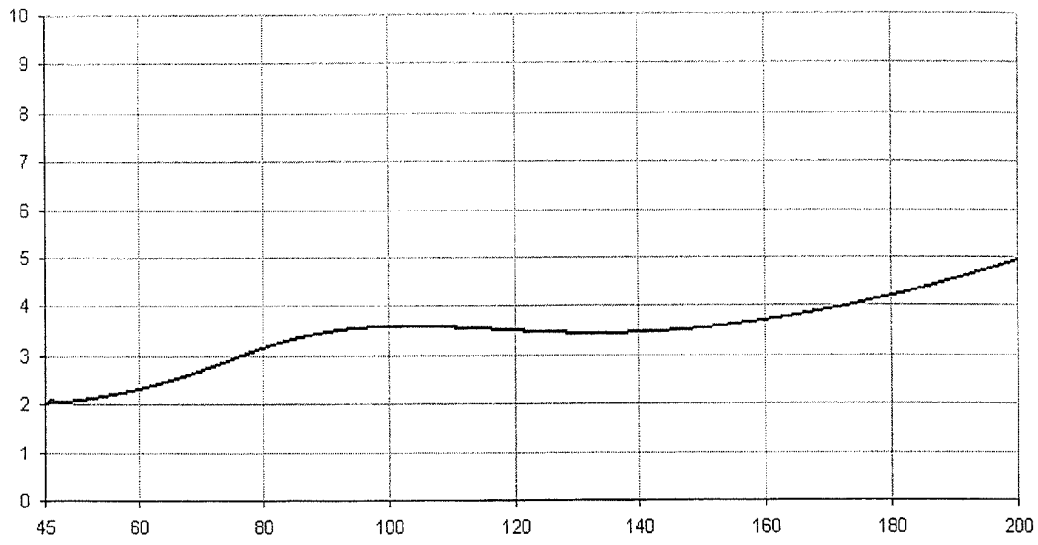


Fig. 4a

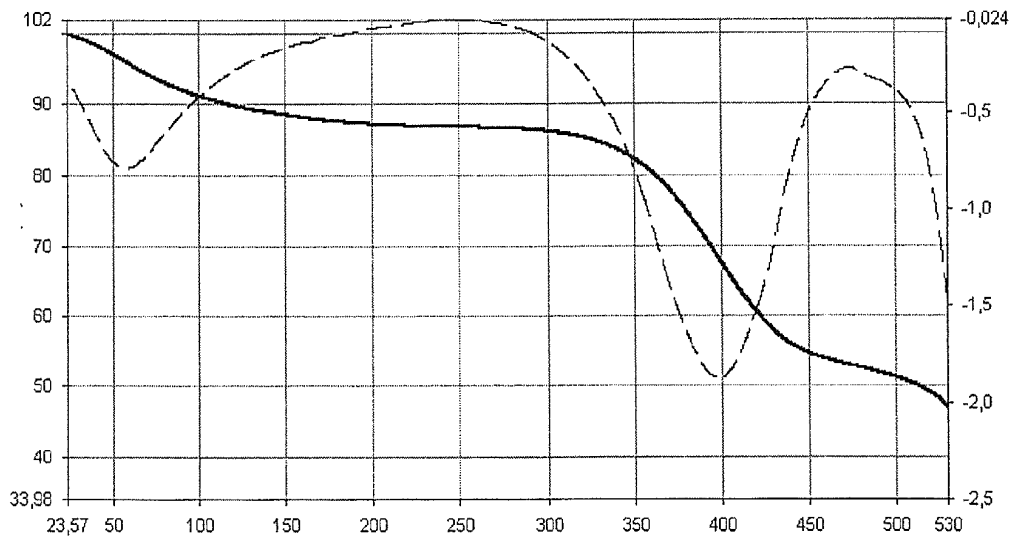


Fig. 4b

CH 699 426 B1

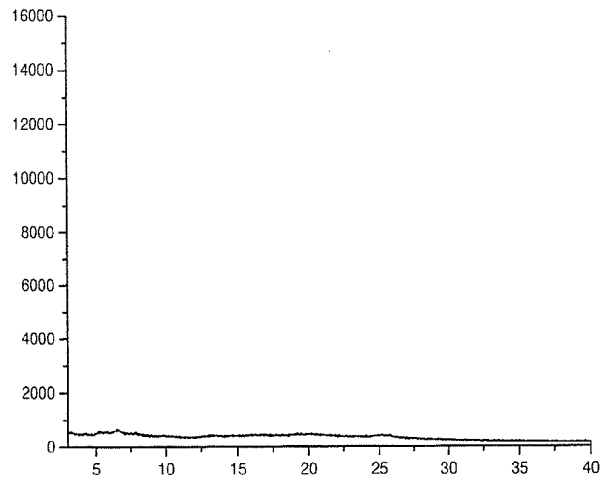


Fig. 5

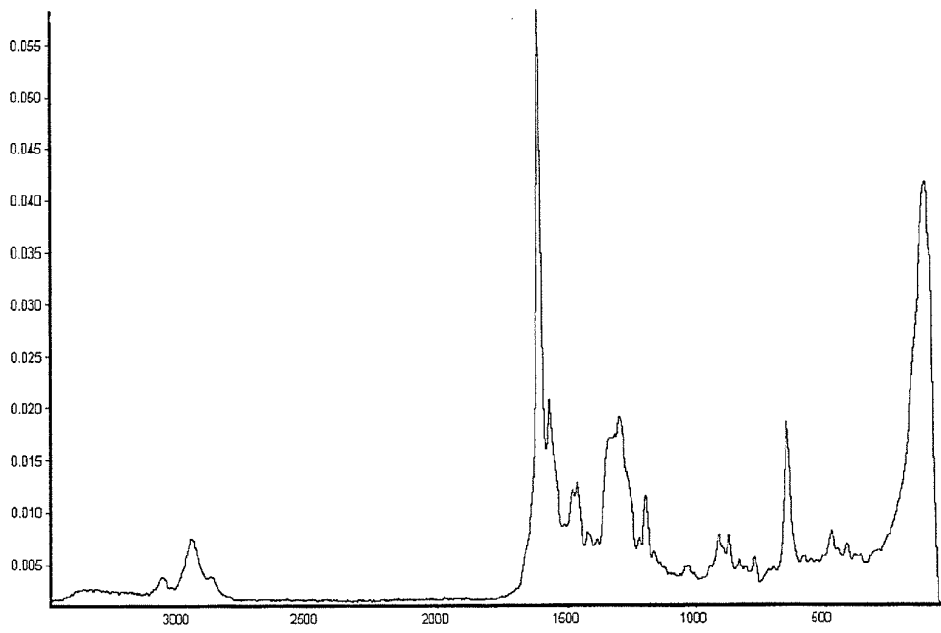


Fig. 6