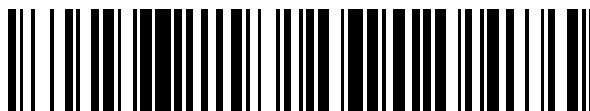


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 267 421**

51 Int. Cl.:

C07D 475/04 (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.02.2005 E 05706514 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2012 EP 1716149**

54 Título: **Ácido (6S)-folínico amorfo para la preparación de disoluciones auosas estables de (6S)-folinato de sodio o de potasio**

30 Prioridad:

20.02.2004 CH 285042004

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

16.04.2013

73 Titular/es:

**CERBIOS-PHARMA S.A. (100.0%)
VIA PIAN SCAIROLO 6
CH-6917 BARBENGO, CH**

72 Inventor/es:

**GIANCARLO, FRANCESE y
MOROSOLI, MORENO**

74 Agente/Representante:

ROEB DÍAZ-ÁLVAREZ, María

ES 2 267 421 T3

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

DESCRIPCIÓN

Ácido (6S)-folínico amorfo para la preparación de disoluciones acuosas estables de (6S)-folinato de sodio o de potasio

5

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de ácido (6S)-N(5)-formil-5,6,7,8-tetrahidrofólico amorfo.

La presente invención se refiere también al ácido (6S)-N(5)-formil-5,6,7,8-tetrahidrofólico amorfo como tal.

10

La presente invención se refiere también a un procedimiento para la preparación de una disolución concentrada estable, en particular una disolución para inyección o una disolución para infusión, de la sal de sodio o de potasio del ácido (6SR)-folínico o (6S)-folínico.

15 El ácido N(5)-formil-5,6,7,8-tetrahidrofólico se denomina también ácido folínico.

La importancia farmacológica de las sales de metales alcalinos de folatos reducidos, de buena solubilidad, se describe en la parte introductoria del documento EP 0667159.

20 El estado de la técnica conocido para la preparación de ácido folínico se describe en el documento NO 172492.

Con estas indicaciones, las afirmaciones hechas en estas dos referencias bibliográficas se consideran como desveladas también en este documento.

25 Se presupone que el ácido folínico preparado según estos procedimientos se encontrará en forma amorfa.

Hasta la fecha de solicitud de la presente invención no se había descrito todavía ningún ácido folínico cristalino.

En el ejemplo 1 del documento WO 93/17022 se describe la preparación de ácido (6RS)-folínico puro. En este ejemplo se menciona una "precipitación" ("precipitado") de ácido (6RS)-folínico.

30

A partir del diagrama de difracción de rayos X en polvo del producto obtenido según este ejemplo, que se muestra en la figura 2, es evidente que este producto contiene al menos el 30% de ácido (6RS)-folínico amorfo.

35 Sería de esperar la obtención de ácido folínico por acidificación directa de una disolución acuosa de una sal folinato soluble en agua.

Por ejemplo, cuando se acidifica una disolución acuosa de folinato de calcio con ácido clorhídrico diluido, se obtiene un producto gomoso imposible de tratar, incluso cuando se varían distintos parámetros como la temperatura, la concentración y el tiempo de reacción.

40

Según el ejemplo 6 del documento EP 0293029, se mezcla cuidadosamente una disolución acuosa de (6S)-folinato de calcio con ácido clorhídrico diluido, en lo que debería precipitar ácido (6S)-folínico y obtenerse por filtración.

45 La solicitante de la presente invención no ha podido repetir este ejemplo de realización: en cada caso se obtuvo un producto gomoso imposible de tratar, aunque se variaron distintos parámetros como la temperatura, la concentración y el tiempo de reacción.

Según E. Khalifa, A. N. Ganguly, J. H. Bieri y M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta*, vol. 63, 2554 (1980), el ácido folínico descrito en ese documento se encuentra indudablemente como mezcla de diastereoisómeros (6RS) y en forma amorfa.

50

Por consiguiente, en el ejemplo de realización que se describe en el documento EP 0667159 se usó ácido (6RS)-folínico amorfo.

55

Es sabido generalmente que la forma biológicamente activa de los folatos reducidos tiene la configuración (6S); véase, por ejemplo, E. E. van Tamelen, R. E. Hopla, *Journal of the American Chemical Society*, 101, 6114-6115 (1979).

60 En consecuencia, la disolución para inyección que se describe en el documento EP 0667159 contiene el 50% de sustancia inactiva con la configuración (6R). A su vez, esto quiere decir que el cuerpo humano al que se administra

una disolución para inyección tal se somete a una carga innecesaria (doble duración de la administración y administración de una sustancia inactiva).

Un objetivo de la presente invención es superar las desventajas mencionadas anteriormente.

5

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar ácido (6S)-folínico amorfo.

Asimismo deberá proporcionarse un procedimiento para la preparación de este compuesto.

10 También deberá proporcionarse una disolución concentrada estable de la sal de sodio o de potasio del ácido (6S)-folínico.

También deberá proporcionarse un procedimiento para la preparación de esta disolución a partir de ácido (6S)-folínico amorfo.

15

Estos objetivos se consiguen con la presente invención.

También se ha encontrado que el ácido (6S)-folínico amorfo preparado según lo expuesto en la parte característica de la reivindicación 1 tiene una estabilidad comparable a la del ácido (6RS)-folínico cristalino.

20

El procedimiento según la invención para la preparación de ácido (6S)-N(5)-formil-5,6,7,8-tetrahidrofólico se caracteriza porque se añaden simultáneamente a agua en agitación, con una temperatura de 2°C a 12°C,

- una disolución acuosa de (6S)-folinato de calcio con una temperatura de 40°C a 50°C, y

25

- una disolución acuosa de ácido clorhídrico o ácido acético,

de tal manera que, en la mezcla obtenida, durante la adición de las dos disoluciones mencionadas, por un lado, se mantiene la temperatura a un valor de 2°C a 12°C y, por otro lado, el pH se mantiene a un valor de 2,5 a 3,5, el sólido producido se aísla por filtración o centrifugación, este sólido se lava primeramente con agua fría y después con un disolvente orgánico acuoso y el sólido lavado, es decir, el ácido (6S)-N(5)-formil-5,6,7,8-tetrahidrofólico amorfo, se seca a presión reducida y se recoge.

30

El procedimiento según la invención para la preparación de una disolución concentrada estable, en particular de una disolución para inyección o una disolución para infusión, de la sal de sodio o potasio del ácido (6S)-folínico, se caracteriza porque se suspende ácido (6S)-folínico amorfo en agua desgasificada y aceptable para la preparación de disoluciones para inyección o disoluciones para infusión, a temperatura ambiente y en una atmósfera de gas inerte, después se le añade en porciones una disolución acuosa de hidróxido, hidrogenocarbonato o carbonato de sodio o de potasio hasta que se produce una disolución clara que presenta en cada caso el pH deseado, la disolución obtenida se somete a una filtración estéril y la disolución estéril obtenida se envasa en viales o en ampollas en una atmósfera de gas inerte.

35

40

La disolución concentrada estable según la invención, en particular una disolución para inyección o una disolución para infusión, se caracteriza porque contiene, además de agua, (6S)-folinato de sodio o (6S)-folinato de potasio.

45

Esta disolución según la invención puede usarse para

- la preparación de un medicamento de ayuda —agente de rescate— después del tratamiento con altas dosis de metotrexato o

50

- la preparación de un medicamento que se combina con 5-fluorouracilo o

- la preparación de un medicamento para el tratamiento de anemias megaloblásticas y la deficiencia de dihidropteridina-reductasa.

55

Algunas formas de realización preferidas de la presente invención se definen en las reivindicaciones dependientes.

La figura 1 muestra un diagrama de difracción de rayos X en polvo del ácido (6RS)-folínico cristalino según la invención.

60

A partir de la figura 1, es evidente que el compuesto ácido (6RS)-folínico es altamente cristalino.

Sorprendentemente, se ha comprobado que el ácido (6S)-N(5)-formil-5,6,7,8-tetrahidrofólico preparado según lo expuesto en la parte característica de la reivindicación 1 no puede obtenerse en forma cristalina. El correspondiente diagrama de difracción de rayos X en polvo no muestra picos significativos.

5 Los ejemplos siguientes ilustran la presente invención.

Ejemplo 1 (no según la invención)

10 Se disolvieron 250 g de (6RS)-folinato de calcio, preparado según el documento NO 172492, en 3,3 litros de agua desionizada a una temperatura de 55°C.

Esta disolución clara (denominada a continuación disolución A) se enfrió a una temperatura de 50°C.

15 En un recipiente reactor de 10 litros con dispositivos de refrigeración y agitación se introdujeron 2,52 litros de agua desionizada y se enfriaron en agitación a una temperatura de 6°C.

A esta agua fría a 6°C se añadieron simultáneamente en agitación la mencionada disolución A y ácido clorhídrico acuoso al 18% por medio de dos bombas peristálticas.

20 La velocidad de la adición de la disolución A se eligió de modo que la temperatura en la mezcla obtenida se mantuviera entre 6°C y 10°C.

25 La velocidad relativa de la adición del ácido clorhídrico acuoso al 18% se eligió de modo que el pH en la mezcla obtenida se mantuviera entre 2,8 y 3,2.

La adición de la disolución A y del ácido clorhídrico se finalizó en tres horas.

La suspensión obtenida se siguió agitando durante una hora a una temperatura de 6°C a 10°C.

30 El sólido cristalino producido se aisló mediante centrifugación.

El sólido se lavó una vez con agua desionizada y una vez con una mezcla 9:1 (v/v) de acetona y agua desionizada. Ambas disoluciones de lavado tenían una temperatura de 5°C a 10°C.

35 El sólido cristalino lavado se secó a presión reducida (20 a 30 hPa) a temperatura ambiente durante dos horas y a una temperatura de 50°C durante una hora.

Se obtuvieron 215 g de ácido (6RS)-folínico cristalino.

40 Pureza por HPLC: 99,6%

Análisis/contenido por HPLC: 100,3%

45 De la figura 1 se deduce que el sólido obtenido era cristalino.

Este sólido se almacenó en un frigorífico a una temperatura de 2°C a 8°C. A este respecto, se obtuvieron para este sólido los siguientes datos de estabilidad:

Tiempo (meses)	Análisis (HPLC)	Pureza (HPLC)
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%.

50 **Ejemplo 2**

Se disolvieron 290 g de (6S)-folinato de calcio, preparado según los documentos EP 600460 y NO 172492, en 4,9 litros de agua desionizada a una temperatura de 58°C.

55

Esta disolución clara (denominada a continuación disolución B) se enfrió a una temperatura de 45°C.

En un recipiente reactor de 20 litros con dispositivos de refrigeración y agitación se introdujeron 4 litros de agua desionizada y se enfriaron en agitación a una temperatura de 6°C.

5 A esta agua fría a 6°C se añadieron simultáneamente en agitación la mencionada disolución B y ácido clorhídrico acuoso al 18% por medio de dos bombas peristálticas.

10 La velocidad de la adición de la disolución B se eligió de modo que la temperatura en la mezcla obtenida se mantuviera entre 6°C y 10°C.

La velocidad relativa de la adición del ácido clorhídrico acuoso al 18% se eligió de modo que el pH en la mezcla obtenida se mantuviera entre 2,8 y 3,2.

15 La adición de la disolución B y del ácido clorhídrico se finalizó en tres horas.

La suspensión obtenida se siguió agitando durante una hora a una temperatura de 6°C a 10°C.

20 El sólido amorfo producido se aisló mediante centrifugación.

El sólido se lavó una vez con agua desionizada y una vez con una mezcla 94:6 (v/v) de etanol y agua desionizada. Ambas disoluciones de lavado tenían una temperatura de 5°C a 10°C.

25 El sólido amorfo lavado se secó a presión reducida (20 a 30 hPa) a temperatura ambiente durante dos horas.

Se obtuvieron 146 g de ácido (6S)-folínico amorfo.

Pureza por HPLC: 99,2%

30 Análisis/contenido por HPLC: 99,0%

La pureza diastereoisomérica fue del 99,7% (HPLC).

35 Este sólido se almacenó en un frigorífico a una temperatura de 2°C a 8°C. A este respecto, se obtuvieron para este sólido los siguientes datos de estabilidad:

Tiempo (meses)	Análisis (HPLC)	Pureza (HPLC)
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%
12	97,8%	97,2%.

Ejemplo 3

40 Se suspendieron 100 g de ácido (6S)-folínico amorfo, preparado según el ejemplo 2, en 1,2 litros de agua estéril desgasificada en atmósfera de nitrógeno y a temperatura ambiente.

A continuación se añadió gota a gota en agitación una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 10% hasta que se produjo una disolución clara que presentó un pH de 8,0.

45 La disolución clara obtenida se diluyó a un volumen de 1,8 litros mediante la adición de agua estéril desgasificada.

Esta disolución diluida se sometió a una filtración estéril (tamaño de poro: 0,2 micrómetros).

50 El filtrado estéril obtenido se envasó en viales de vidrio de 10 ml en atmósfera de nitrógeno.

Estos viales de vidrio se almacenaron en un frigorífico a una temperatura de 2°C a 8°C. A este respecto, se obtuvieron los siguientes datos de estabilidad para la disolución envasada en los viales de vidrio:

ES 2 267 421 T3

Tiempo (meses)	Análisis (HPLC)	Pureza (HPLC)
0	100,0%	98,4%
1	101,0%	98,4%
3	106,0%	98,3%
6	110,9%	98,9%
9	108,0%	98,1%
12	111,7%	97,6%.

Después de 12 meses, la disolución seguía siendo clara; no pudo detectarse ningún precipitado.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de una disolución concentrada estable, en particular de una disolución para inyección o una disolución para infusión, de la sal de sodio o de potasio del ácido (6S)-folínico, en el que se suspende ácido (6S)-folínico amorfo en agua desgasificada y aceptable para la preparación de disoluciones para inyección o disoluciones para infusión, a temperatura ambiente y en una atmósfera de gas inerte, después se le añade en porciones una disolución acuosa de hidróxido, hidrogenocarbonato o carbonato de sodio o de potasio hasta que se produce una disolución clara que presenta en cada caso el pH deseado, la disolución obtenida se somete a una filtración estéril y la disolución estéril obtenida se envasa en viales o en ampollas en una atmósfera de gas inerte, **caracterizado porque** el ácido (6S)-folínico se prepara según un procedimiento en el que se añaden simultáneamente a agua en agitación, con una temperatura de 2°C a 12°C,

- una disolución acuosa de (6S)-folinato de calcio con una temperatura de 40°C a 50°C y

15 - una disolución acuosa de ácido clorhídrico o ácido acético,

de tal manera que, en la mezcla obtenida, durante la adición de las dos disoluciones mencionadas, por un lado, se mantiene la temperatura a un valor de 2°C a 12°C y, por otro lado, el pH se mantiene a un valor de 2,5 a 3,5, el sólido producido se aísla por filtración o centrifugación, este sólido se lava primeramente con agua fría y después con un disolvente orgánico acuoso y el sólido lavado, es decir, el ácido (6S)-N(5)-formil-5,6,7,8-tetrahidrofólico amorfo, se seca a presión reducida y se recoge.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el agua en agitación, a la que se añaden simultáneamente las dos disoluciones mencionadas, tiene una temperatura de 6°C a 10°C.

3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, **caracterizado porque** la disolución acuosa de (6S)-folinato de calcio tiene una concentración del 3,0% en peso al 3,7% en peso, preferentemente del 3,5% en peso.

4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque** la disolución acuosa de (6S)-folinato de calcio tiene una temperatura de 46°C.

5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** la disolución acuosa de ácido clorhídrico presenta temperatura ambiente y una concentración del 10% en peso al 20% en peso, preferentemente del 18% en peso.

6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado porque** en la mezcla obtenida, durante la adición simultánea de las dos disoluciones mencionadas, la temperatura se mantiene a un valor de 6°C a 10°C.

7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** en la mezcla obtenida, durante la adición simultánea de las dos disoluciones mencionadas, el pH se mantiene a un valor de 2,8 a 3,2.

8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado porque** después de llevar a cabo la adición simultánea de las dos disoluciones mencionadas, la mezcla obtenida se sigue agitando durante una hora a una temperatura de 6°C a 10°C.

9. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado porque** después de lavar el sólido amorfo producido con agua fría, se lava con una mezcla 94:6 (v/v) de etanol y agua.

10. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque** la disolución clara mencionada contiene del 2% en peso al 15% en peso, en particular del 2% en peso al 6% en peso, preferentemente el 5% en peso de (6S)-folinato de sodio o (6S)-folinato de potasio.

11. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 10, **caracterizado porque** la disolución clara mencionada presenta un pH en el intervalo de 7,5 a 8,5, en particular de 7,9 a 8,1, preferentemente de 8,0.

12. Ácido (6S)-N(5)-formil-5,6,7,8-tetrahidrofólico amorfo, **caracterizado porque** este compuesto se prepara por el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.

13. Uso del ácido (6S)-N(5)-formil-5,6,7,8-tetrahidrofólico amorfo preparado por el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para la preparación de una disolución acuosa de la sal de sodio o de potasio del ácido (6S)-folínico.

