

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7532336号
(P7532336)

(45)発行日 令和6年8月13日(2024.8.13)

(24)登録日 令和6年8月2日(2024.8.2)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 D 475/04 (2006.01)		C 0 7 D 475/04	C S P
A 6 1 K 31/519(2006.01)		A 6 1 K 31/519	
C 0 7 D 295/088 (2006.01)		C 0 7 D 295/088	
A 6 1 P 7/06 (2006.01)		A 6 1 P 7/06	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)		A 6 1 P 25/00	
請求項の数 17 (全13頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-500046(P2021-500046)	(73)特許権者	591032596
(86)(22)出願日	令和1年7月2日(2019.7.2)		メルク パテント ゲゼルシャフト ミット
(65)公表番号	特表2021-529206(P2021-529206		ベシュレンクテル ハフツング
	A)		Merck Patent Gesell
(43)公表日	令和3年10月28日(2021.10.28)		schaft mit beschræ
(86)国際出願番号	PCT/EP2019/067692		nkter Haftung
(87)国際公開番号	WO2020/007834		ドイツ連邦共和国 デー - 6 4 2 9 3 ダ
(87)国際公開日	令和2年1月9日(2020.1.9)		ルムシュタット フランクフルター シュ
審査請求日	令和4年6月28日(2022.6.28)		トラーセ 2 5 0
(31)優先権主張番号	18182277.6		Frankfurter Str. 2 5
(32)優先日	平成30年7月6日(2018.7.6)		0 , D - 6 4 2 9 3 Darmstad
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		t , Federal Republic
前置審査		(74)代理人	100123788
			弁理士 宮崎 昭夫
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶塩

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩であり、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンとのモル比が1 : 0 . 3 ~ 1 : 2 . 0 (モル / モル) であり、4 . 9 . 1 2 . 2 . 1 4 . 2 . 1 4 . 8 . 1 5 . 1 . 1 5 . 3 . 1 7 . 4 . 1 9 . 7 . 2 0 . 0 . 2 0 . 6 . 2 3 . 6 . 2 4 . 9 および 2 8 . 1 に位置するピークから選択される少なくとも1つの特徴的なピーク (2 θ ± 0 . 2 ° 2 θ (C u K α 放射線) で表したとき) を有する P X R D パターンを有することを特徴とする、結晶性塩。

【請求項 2】

5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンのモル比が、1 : 0 . 5 ~ 1 : 1 . 5 (モル / モル) である請求項 1 に記載の結晶性塩。

【請求項 3】

5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンのモル比が、1 : 0 . 7 5 ~ 1 : 1 . 2 5 (モル / モル) である請求項 1 または 2 に記載の結晶性塩。

【請求項 4】

5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの比が、1 : 1 (モル / モル) である請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の結晶性塩。

【請求項 5】

14 . 2、14 . 8、19 . 7、20 . 0、および20 . 6に位置するピークから選択される少なくとも1つの特徴的なピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$ ($\text{Cu K}\alpha$ 放射線) で表したとき) を有するPXRDパターンを有することを特徴とする、請求項1～4のいずれか1つの結晶性塩。

【請求項6】

14 . 2、14 . 8、19 . 7、20 . 0、および20 . 6に位置する以下のピークから選択される少なくとも3つの特徴的なピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$ ($\text{Cu K}\alpha$ 放射線) で表したとき) を有するPXRDパターンを有することを特徴とする、請求項1～5のいずれか1項に記載の結晶性塩。

【請求項7】

少なくとも99重量%以上の化学的および/または立体異性的純度を有する、請求項1～6の少なくとも1項に記載の結晶性塩。

【請求項8】

5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の結晶性塩を製造する方法であって、以下の工程、

a) 5 - メチル (6S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの混合物を、場合により適当な溶媒または溶媒の混合物中で準備する工程、

b) 結晶化する工程、

c) 必要に応じて、より多くの溶媒または溶媒の混合物を添加する工程、および

d) 得られた結晶を単離する工程、を含む製造方法。

【請求項9】

工程a)における5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンとのモル比が1 : 1～1 : 3の範囲であることを特徴とする請求項8に記載の製造方法。

【請求項10】

溶媒が水、アルコールおよび/またはケトンであることを特徴とする請求項8または9に記載の製造方法。

【請求項11】

工程b) および/またはc)において種結晶が添加されることを特徴とする、請求項8～10のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項12】

請求項1～7のいずれか1項に記載の5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの結晶性塩、ならびに任意選択で1以上の許容可能な賦形剤を含む、医薬組成物、食品添加物および/または製剤。

【請求項13】

錠剤、カプセル、経口液体製剤、粉末、凍結乾燥物、顆粒、ロゼンジ、再構成可能な粉末、注射または注入可能な溶液または懸濁液または坐剤の形態である請求項12に記載の医薬組成物。

【請求項14】

少なくとも1つの追加の治療薬をさらに含む、請求項12または13に記載の医薬組成物。

【請求項15】

経口、非経口、筋肉内、脊髄内、髄腔内、髄腔内、歯周、局所または直腸投与のための医薬組成物である請求項12～14のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項16】

5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の結晶性塩の、薬物の製造のための成分としてのおよび/または食品添加物としての使用。

【請求項17】

10

20

30

40

50

貧血、神経管欠損、心血管疾患、うつ病、認知障害、アルツハイマー病および骨粗鬆症、ならびに／または低血漿および／もしくは低赤血球および／もしくは低脳脊髄液および／もしくは低末梢もしくは中枢神経系葉酸塩の食事管理のホモシステイン低下、貧血、神経管欠損、心血管疾患、うつ病、認知障害、および／もしくは骨粗鬆症の治療における使用のための、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の結晶性塩。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【 0 0 0 1 】

本発明は、5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸 (N - [4 - [[(2 - アミノ - 1 , 4 , 5 , 6 , 7 , 8 - ヘキサヒドロ - 5 - メチル 4 - オキソ - (6 S) - プテリジニル) メチル] アミノ] ベンゾイル] - L - グルタミン酸) 及び 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶塩及びその製造方法に関する。

10

【背景技術】

【 0 0 0 2 】

テトラヒドロ葉酸塩は、主に 5 - ホルミルテトラヒドロ葉酸 (ロイコボリンおよびロボロイコボリン) のカルシウム塩として、5 - メチルテトラヒドロ葉酸 (メタフォリン (登録商標)) のカルシウム塩として、または 5 , 10 - メチレンテトラヒドロ葉酸 (モデュフォリン (登録商標)) の硫酸塩として使用される。最も突出した使用分野は、巨赤芽球性葉酸貧血の治療のために、葉酸アンタゴニスト、特に癌治療におけるアミノプテリンおよびメトトレキサートの適合性を増加させるための解毒剤として (「葉酸拮抗剤レスキュー」) 、フッ化ピリミジンの治療効果を増加させるために、および乾癬および関節リウマチのような自己免疫疾患の治療のために、例えばトリメトプリム - スルファメトキサゾールのような突然変異に対するある種の駆虫剤の適合性を増加させるために、および化学療法におけるジデアザテトラヒドロ葉酸の毒性を減少させるために、使用される。

20

【 0 0 0 3 】

5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩は特に、薬物として、および食品添加物として、ビタミン調剤として、神経管欠損の予防のために、うつ病の治療のために、およびホモシステインレベルに影響を及ぼすために使用される。

【 0 0 0 4 】

30

5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸およびその塩は、極めて不安定であることが知られている。特に、それらは、酸化に対して非常に敏感であり (この点に関して、A . LFitzhugh、Pteridines 4 (4) , 187-191(1993) も参照のこと) 、したがって、医薬活性成分または食品添加物に許容される純度レベルで製造することが困難である。

【 0 0 0 5 】

5 - メチルテトラヒドロ葉酸およびその塩の不安定性を克服するために、酸素をできるだけ完全に排除する、またはアスコルビン酸もしくは還元 L - グルタチオンなどの酸化防止剤を添加するなどの様々な方法が使用されてきた。

【 0 0 0 6 】

40

米国特許第 6 , 4 4 1 , 1 6 8 号は、5 - メチルテトラヒドロ葉酸のアルカリ土類塩、特にカルシウム塩、その結晶化およびその使用を開示している。5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸のこのような結晶性カルシウム塩の欠点は、それが 4 つまでの多形変異の結晶形態で存在することである。従って、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸の結晶性カルシウム塩の製造方法は、非常に正確に制御されなければならない。さらに、米国特許第 6 , 4 4 1 , 1 6 8 号の 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸の結晶性カルシウム塩は、典型的には結晶格子中に、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸 1 当量当たり少なくとも 1 当量であるが 4 当量までの水をそのすべての多形形態で含有する。

【 0 0 0 7 】

薬学的に有用な化合物の新しい結晶形態は、薬学的および／またはビタミン／医学的食品の性能プロフィールを改善する機会を提供する。それは、製剤科学者が改善された特性

50

を有する新しい投薬形態を設計するために利用可能な材料の蓄積を広げる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明の根底にある技術的課題は、当該技術分野で知られている5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸の結晶性カルシウム塩の欠点を克服する、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸を含む結晶形態の提供である。

【0009】

さらに、新しい結晶形態はしばしば、所望の異なる物理的性質および/または生物学的特性を示し、これは、規制の承認に必要とされる純度レベルおよび均一性まで、活性化合物の製造または処方を補助し得る。

10

【0010】

テトラヒドロ葉酸塩の安定性のために、貯蔵時に低い吸水性を有し、製造中に十分に乾燥させることができる化合物を提供することが常に目標である。加えて、周囲条件下で多量の水を吸収しない薬剤物質が非常に望まれている。特に、環境の相対湿度の変化による含水量の大きな変化が剤形に関して高い精度を達成することをより困難にするため、環境の相対湿度が変化したときに含水量を変化させない物質が望ましい。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明の根底にある技術的課題は、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含み、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンのモル比が1 : 0 . 3 ~ 1 : 2 . 0 (モル / モル) である結晶塩および/またはその水和物および/またはその溶媒和物によって解決される。

20

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸塩および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶塩の粉末X線回折パターンを示す図である。

【図2】5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸塩および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶塩のDVS測定結果を示す図である。y軸は、試料の含水量を示し、垂直矢印は、約2%である20 ~ 80%の相対湿度範囲における水分含量の変化を示す。

30

【図3】カルシウム塩を5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸とともにDVS測定結果を示す図である。y軸は、試料の含水量を示し。垂直の矢印は、約4%である20 ~ 80%の相対湿度の範囲における水分含量の変化を示す。

【発明を実施するための形態】

【0013】

本発明の固体形態は、改善された薬理学的特徴を有し、したがって、改善された薬物生成物を調節および設計するための強化された可能性を提供する。当該技術分野で知られている5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩の結晶性多形形態と比較して、5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの結晶性塩の水吸着は、有意に低く、変化する相対湿度条件下での吸着水の量の変化が有意にそれほど顕著ではないため、製剤中の標的剤形レベルに対する実質的に改善された制御をもたらす。5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの結晶塩の別の有利な側面は、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸の高い化学的および光学的純度が1回の結晶化工程で達成され得ることである。さらに、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶塩は、1つの明確に定義された多形変異においてその結晶形態で存在する。したがって、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶塩の製造方法は、結晶化条件の非常に正確な制御

40

50

を必要としない。

【0014】

好ましくは、結晶性塩が5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンのモル比が1 : 0.5 ~ 1 : 1.5 (モル/モル)である。

【0015】

さらにより好ましくは、5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンのモル比が1 : 0.75 ~ 1 : 1.25 (モル/モル)である。

【0016】

最も好ましくは、5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの比が約1 : 1 (モル/モル)である。

10

【0017】

好ましくは、本発明の塩が5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの結晶塩であり、14.2、14.8、19.7、20.0、および20.6に位置するピークから選択される少なくとも1つの特徴的なピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$ 2 θ (CuK α 放射線)で表したとき)を有するPXRDパターンを有する。

【0018】

より好ましくは、本発明の塩が5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの結晶塩であり、14.2、14.8、19.7、20.0、および20.6に位置するピークから選択される少なくとも3つの特徴的なピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$ 2 θ (CuK α 放射線)で表したとき)を有するPXRDパターンを有する。

20

【0019】

さらにより好ましくは、本発明の塩が5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの結晶塩であり、14.2、14.8、19.7、20.0、および20.6に位置するピークから選択されるピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$ 2 θ (CuK α 放射線)で表したとき)を有するPXRDパターンを有する。

【0020】

さらにより好ましくは、本発明の塩が5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの結晶塩であり、4.9、12.2、14.2、14.8、15.1、15.3、17.4、19.7、20.0、20.6、23.6、24.9および28.1に位置するピークから選択される少なくとも1つの特徴的なピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$ 2 θ (CuK α 放射線)で表したとき)を有するPXRDパターンを有する。

30

【0021】

最も好ましくは、本発明の塩が5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの結晶塩であり、実質的に図1に示すようなPXRDパターンを有する。

【0022】

前述の5 - メチル - (6S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩は、少なくとも99重量%以上の化学的および/または立体異性的純度を有し得る。

40

【0023】

5 - メチル (6S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩を5 - メチル (6S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩と比較すると、5 - メチル (6S) - テトラヒドロ葉酸と4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩の水分含量は、20% ~ 80%の間の最も適切な範囲内で2%未満しか変化しないが (実施例2、図2)、5 - メチル (6S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩の水分含量は4%を超えて変化することが示される (参考例2、図3)。この結果は当業者にとって非常に驚くべきものであり、米国特許第6,441,168号の教示を考慮すると予想することができ

50

なかった。さらに、本発明の 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩は、本発明の根底にある技術的課題を明らかに解決する。

【 0 0 2 4 】

5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸を含み、水分含量が非常に低く、特に水を吸収 / 脱着する傾向が低い塩を有することは、例えば、温度 / 湿度が制御された環境または相対湿度が一般に非常に高い熱帯諸国で、配合するために物質を取り扱う場合に有利である。

【 0 0 2 5 】

従って、本発明の塩は、これらの条件下でも改善された貯蔵安定性を示す。これらの改善された特性は、米国特許第 6 , 4 4 1 , 1 6 8 号の教示を念頭に置いて導き出すことはできなかった。

10

【 0 0 2 6 】

5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸は、水にほとんど溶けない。カルシウム塩 (形態 I I I) の熱力学的に安定な形態は約 2 . 5 m g / m l の水溶解度を示すことが知られており、準安定形態 I の溶解度は、室温で約 1 0 m g / m l である。特定の p H 条件下、特に環境の p H が所与の塩の平衡 p H より低い場合、塩は潜在的に遊離酸に不均化し、その結果、溶解度は実質的に低下する。したがって、中性 ~ 低い p H 値でのクレームの塩の熱力学的溶解度は塩の不均化が遅い (難溶性遊離酸の形成) ために、アクセスできない。しかしながら、バイオアベイラビリティは、動力的効果によって支配される。固形の製剤を投与した後、溶解し、最初の溶解工程の後、薬物を体液で希釈し、分配する。したがって、最初に溶解した原薬は容易に希釈され輸送されるため、動力的溶解度はバイオアベイラビリティに影響を及ぼす重要なパラメータである。5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩については、驚くべきことに、カルシウム塩の既知の (準安定形態 I) に対して約 3 倍の動力的溶解度が改善されることが見出された。カルシウム塩の熱力学的に安定な形態 (形態 I I I) に対する本発明の塩の動力的溶解度の差は、おそらく、さらに大きいであろう。したがって、一時的に、はるかに高い薬剤物質濃度を達成することができる。

20

【 0 0 2 7 】

本発明のさらなる側面は、5 - メチル - (6 S) テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶性塩を得るための方法であり、

30

a) 5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸と 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの混合物を、任意選択で適当な溶媒または溶媒の混合物中で、準備する工程、

b) 結晶化する工程、

c) 任意選択で、より多くの溶媒または溶媒の混合物を添加する工程、および

d) 得られた結晶を単離する工程、

を含む方法である。

【 0 0 2 8 】

好ましくは、工程 a) における 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンのモル比が 1 : 1 ~ 1 : 3 の範囲である。

40

【 0 0 2 9 】

さらに好ましくは、溶媒が水、アルコールおよび / またはケトンである。

【 0 0 3 0 】

工程 b) および / または c) において、種結晶を添加することができる。

【 0 0 3 1 】

5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶塩は 1 つの明確に定義された多形変異においてのみその結晶形態で存在するので、本結晶塩を製造する方法は結晶化条件の非常に正確な制御を必要としない。

【 0 0 3 2 】

本発明のさらなる側面は、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 -

50

ヒドロキシエチル) - モルホリンの結晶性塩および任意選択で1以上の許容可能な賦形剤を含む医薬組成物、食品添加物および/または調剤であり、これらもまた本発明の一部である。医薬組成物は、錠剤、カプセル、経口液体調剤、粉末、凍結乾燥物、顆粒、ロゼンジ、再構成可能な粉末、注射可能または注入可能な溶液または懸濁液または坐剤の形態を有し得る。また、医薬組成物は、少なくとも1つの追加の治療薬をさらに含み得る。本発明による医薬組成物は、すべての投与様式、好ましくは経口、非経口、筋肉内、脊髄内、髄腔内、歯周、局所または直腸投与に適している。

【0033】

本発明のさらなる態様は、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶塩を、薬物の製造のための成分としておよび/または食品添加物として使用することである。

10

【0034】

好ましくは、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを含む結晶塩が、貧血、神経管欠損、心血管疾患、うつ病、アルツハイマー病、認知障害および骨粗鬆症、ならびに/または低血漿および/もしくは低赤血球および/もしくは低脳脊髄液および/もしくは低末梢もしくは中枢神経系葉酸塩の食事管理のホモシステイン低下、貧血、神経管欠損、心血管疾患、うつ病、アルツハイマー病の治療において使用される。

【0035】

要約すると、本発明の5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩によって提供される特性のプロフィールは、薬剤または食品添加物としての使用に有利である。特に、20% ~ 80%の相対湿度環境における水分含量の低い変化および高い動力学的溶解度は、当業者によって予見されなかった。

20

【実施例】

【0036】

粉末X線回折

Mythen 1 K検出器を備えたStoe Stadi P ; Cu - K α 1放射線 ; 標準測定条件 : 伝送 ; 40 kVおよび40 mA管出力 ; 湾曲Geモノクロメーター ; 0 . 0 2 ° 2 θ ステップサイズ、48秒ステップ時間、1 . 5 ~ 50 . 5 ° 2 θ 走査範囲 ; 検出器モード : ステップ走査 ; 1 ° 2 θ 検出器ステップ ; 標準試料調製 : 10 ~ 20 mg 試料を2つのアセテートフォイルの間に置く ; 試料ホルダー : Stoe透過試料ホルダー ; 測定中に試料を回転させた。全ての試料の調製および測定は、周囲空気雰囲気中で行った。

30

【0037】

TG - FTIR

熱重量測定は、Bruker FTIR分光計ベクター 2 2 (ピンホールを有する試料パン、N₂大気、熱速度10 K / 分) に連結したNetzsch Thermo-Microbalance TG 209を用いて行った。

DVS

DVS測定は、代表的には、SPS 11 - 100n "Sorptions Prufsystem" をProUmi d(以前の"Projekt Messtechnik")、August-Nagel-Str.23, 89079 Ulm (ドイツ)、から取得して実施する。

40

DVS測定は、以下のように行った : 試料を微量天秤の上のアルミニウムホルダー上に置き、下記所定の湿度プログラムを開始する前に50% RHで平衡化させた :

- (1) 50%一定相対湿度(RH)に2時間保ち、次いで、
- (2) 毎時5%の割合でRHを95%に上げ、
- (3) RHを95%に5時間維持し、
- (4) 毎時5%の割合で0%RHに低減し、
- (5) RHを0%に5時間維持し、
- (6) 毎時5%の割合でRHを95%に上げ、
- (7) RHを95%に5時間維持し、

50

- (8) 毎時 5 % の割合で 0 % RH に低減し、
- (9) RH を 0 % に 5 時間維持し、
- (10) 毎時 5 % の割合で 50 % RH まで上げ、
- (11) RH を 50 % に約 1 時間維持した。

【 0 0 3 8 】

実施例 1 : 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを用いた 5 - メチル - (6 S)
- テトラヒドロ葉酸の結晶塩の調製

4 . 7 6 3 グラムの 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸一水和物 (アッセイ 5 -
メチルテトラヒドロ葉酸 9 7 . 6 5 % w / w) を、マグネチックスターラーバーを備えた
ガラスフラスコ中に秤量した。 9 . 5 m L の水および 4 . 7 6 m L の 4 - (2 - ヒドロキ
シエチル) - モルホリン (Aldrich # H 2 8 2 0 3) を添加した。室温で約 2 分間攪拌した
後、茶色の透明な溶液が形成された。溶液を室温で攪拌しながら、 9 5 m L のアセトン
を約 2 . 5 時間以内にゆっくりと添加した。形成された懸濁液を室温で約 2 3 時間攪拌した
。次いで、懸濁液をフリットガラスフィルター (多孔率 P 4) で濾過し、フィルターケー
キを周囲温度で風乾した。 1 0 0 m L のエタノールを濾過ケーキに添加し、洗浄溶液を真
空吸引により濾過に通した。洗浄工程を別の 1 0 0 m L のエタノールで繰り返した。次い
で、濾過ケーキを約 0 . 5 時間風乾した (空気をフリットガラス濾過に通した) 。約 5 .
6 グラムの固体生成物が得られ、HPLC、粉末 X 線回折、H-NMR 分光法および T G -
F T I R によって特性を決定した。粉末 X 線回折は、表 1 に示されるようなピーク位置を
有する図 1 に示されるような P X R D パターンを有する材料が結晶であることを示した。

【 0 0 3 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表1 実施例1による5-メチル-(6S)-テトラヒドロ葉酸および4-(2-ヒドロキシエチル)-
-モルホリンの塩についての 2θ 角、d間隔および定性的強度

$^{\circ} 2\theta$	d間隔[Å]	強度(定性的)
4.9	17.9	m
12.2	7.2	s
14.2	6.2	vs
14.8	5.98	vs
15.1	5.86	s
15.3	5.78	s
16.5	5.37	s
16.9	5.25	m
17.4	5.10	s
17.8	4.97	s
18.7	4.74	m
19.3	4.60	s
19.7	4.50	vs
20.0	4.44	vs
20.6	4.30	vs
21.0	4.24	s
21.2	4.19	m
21.7	4.09	s
22.0	4.04	s
22.7	3.91	s

【0 0 4 0】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

表1(つづき)

23.6	3.76	s
24.9	3.58	s
25.1	3.54	m
25.5	3.49	s
25.8	3.46	m
26.1	3.41	s
26.6	3.35	m
26.9	3.31	s
28.1	3.18	s
29.4	3.03	m
32.5	2.75	m

10

20

【0041】

Vs = 非常に強い、s = 強い、m = 中程度、w = 弱い、vw = 強度が非常に弱い。強度値は、好ましい配向効果のために実質的に変化し得ることに留意されたい。

30

【0042】

実施例 2：4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを用いた 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸の結晶塩の調製

47.63 g の 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸一水和物 (分析：5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸 97.99 % w/w、6 S - ジアステレオ異性体：98.0 %) を室温で 95 mL の水に懸濁した。47.6 mL の 4 (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンを、温度を冷却せずに、約 50 °C に上昇させながら添加した。混合物を室温まで冷却した。暗褐色透明溶液に 950 mL のアセトンを経過し、約 2.5 時間以内にゆっくりと加えた。形成された懸濁液を室温で約 23 時間攪拌した。次いで、懸濁液をフリットガラスフィルター (多孔率 G3) で濾過し、フィルターケーキを 1000 mL のエタノールで洗浄した。そのようにして得られた軽いベージュ色の固体を 40 °C / 10 mbar で一晩乾燥した。約 52.4 g の固体生成物が得られ、高速液体クロマトグラフィー、粉末 X 線回折および ¹H-NMR 分光法によって特性決定した。HPLC 分析は 98.7 % 面積の純度、6 S - ジアステレオ異性体を示した：98.7 % 粉末の X 線回折は、生成物が表 1 に示されるようなピーク位置を有する図 1 に示されるような PXRD パターンを有する結晶であることを示した。

40

【0043】

実施例 3：吸湿性および含水量 (DVS 実験)

実施例 1 による 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩の試料の TG-FITIR 分析は、試料が約 8.9 % w/w の水を含

50

有することを示した。この値は、約 35 % の相対湿度で T G - F T I R によって決定された。この試料を、0 ~ 95 % r.h. の相対湿度範囲内で動的な水蒸気吸着分析 (D V S) によって試験した。D V S 測定は、上記のように行った。

【 0 0 4 4 】

5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸と 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩の結果を 5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩の結果と比較すると、5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸と 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩の水分含量は相対湿度 20 % から 80 % の範囲内で約 2 % 変化し、5 - メチル (6 S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩の変化は約 4 % であることがわかる (参考例 2) 。さらに、実施例は相対湿度 50 % での 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩の水分含量が約 10 % であり、相対湿度が 50 % から 95 % に増加した場合に化合物が約 2 % の追加の水を吸収することを示す。50 % r.h. は中央ヨーロッパの夏の日の典型的な周囲相対湿度条件であるが、生成物が浴室に貯蔵される場合、相対湿度は一時的に少なくとも 95 % に達する。

10

【 0 0 4 5 】

実施例 4 : 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩の動力学的溶解度

実施例 1 に従って調製した 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸および 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩 27.1 mg を、スクリュウキャップ付きの 7 mL ガラスバイアルに秤量し、調整可能な容量ピペットを使用して、精製 / 脱イオン水 0.5 mL を固体に添加した。混合物を室温で激しく攪拌し、数秒後に全ての固体が溶解し、透明な溶液が得られた。このことは、5 - 酸メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸と 4 - (2 - ヒドロキシエチル) - モルホリンの塩について、54 mg / mL 以上の水を容易に溶解できるということを意味する。これは、水 1 mL 当たり 37 mg より多い 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸の即時動力学的溶解度に相当する。

20

【 0 0 4 6 】

参考例 1 : 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩の動力学的溶解度 無水形態の結晶性 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸カルシウム塩 42.5 mg を、スクリュウキャップ付きの 7 mL ガラスバイアル中に秤量した。2.00 mL の精製 / 脱イオン水を、調整可能な容量ピペットを用いて固体に添加した。混合物を室温で 1 分間激しく攪拌した。1 分後、懸濁液が観察された。懸濁液を遠心濾過によって濾過し、1.50 mL の水溶液を風袋を量ったガラスバイアル (約 10 mL 容量) に移した。水を空気乾燥機中で 40 °C で約 15 時間、次いで 50 °C で約 8 時間蒸発させた。その後、真空下 (10 ~ 20 mbar) 、50 °C で約 13 時間乾燥を完了させた。溶解度は、固体残渣の重量評価によって決定した。溶解度は、水 1 mL 当たり 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸 9.0 mg であった。

30

【 0 0 4 7 】

参考例 2 : 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩の吸湿性及び含水率

5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸カルシウム塩の試料の T G - F T I R 分析は、試料が約 12.4 % の水を含有することを示した。この試料を、0 ~ 95 % r.h. の相対湿度範囲内で動的な水蒸気吸着分析 (D V S) によって試験した。D V S 測定は、上記のように行った。

40

【 0 0 4 8 】

結果を図 3 に示し、20 % ~ 80 % の最も適切な範囲内で、5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩の水分含量が約 4 % 変化することを示した。さらに、参考例は相対湿度 50 % での 5 - メチル - (6 S) - テトラヒドロ葉酸のカルシウム塩の水分含量が約 12.4 % であり、相対湿度が 50 % から 95 % に増加した場合に化合物が 10 % を超える追加の水を吸収することを示した。

【図面】
【図 1】

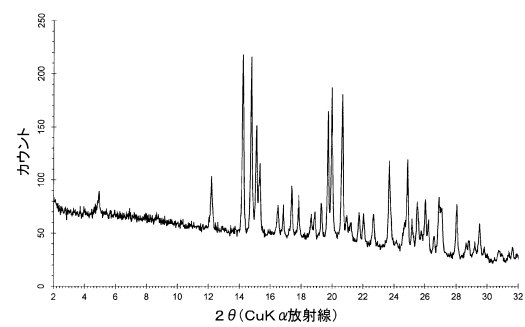


図1：5-メチル(6S)-テトラヒドロ葉酸塩および4-(2-ヒドロキシエチル)-モルホリンを含む結晶塩の粉末X線回折パターン。

【図 2】

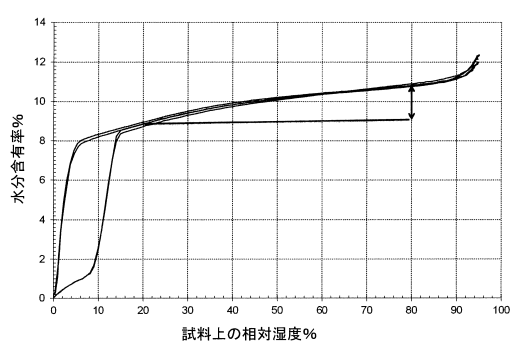


図2：5-メチル(6S)-テトラヒドロ葉酸塩および4-(2-ヒドロキシエチル)-モルホリンを含む結晶塩のDVS測定。y軸軸は、試料の含水量を示す。垂直矢印は、約2%である20～80%の相対湿度範囲における水分含量の変化を示す。

【図 3】

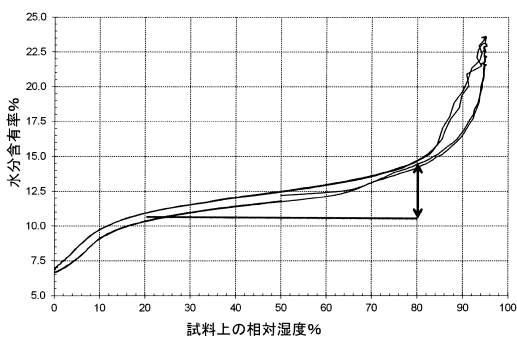


図3：5-メチル(6S)-テトラヒドロ葉酸によるカルシウム塩のDVS測定。y軸軸は、試料の含水量を示す。垂直の矢印は、約4%である20～80%の相対湿度の範囲における水分含量の変化を示す。

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/00
A 6 1 P	25/24 (2006.01)	A 6 1 P	25/24
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28
A 6 1 P	19/10 (2006.01)	A 6 1 P	19/10
A 6 1 P	7/00 (2006.01)	A 6 1 P	7/00
A 6 1 P	3/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/00
A 6 1 K	9/20 (2006.01)	A 6 1 K	9/20
A 6 1 K	9/48 (2006.01)	A 6 1 K	9/48
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/08
A 6 1 K	9/19 (2006.01)	A 6 1 K	9/19
A 6 1 K	9/14 (2006.01)	A 6 1 K	9/14
A 6 1 K	9/10 (2006.01)	A 6 1 K	9/10
A 6 1 K	9/02 (2006.01)	A 6 1 K	9/02

(74)代理人 100127454

弁理士 緒方 雅昭

(74)復代理人 100143856

弁理士 中野 廣己

(72)発明者 モーザー、 ルドルフ

スイス国 8 2 0 0 シャフハウゼン ラーンハルデ 1 1

(72)発明者 グレーン、 ヴィオーラ

スイス国 8 4 4 7 ダッハセン ノイヴィンガートーシュトラッセ 9

(72)発明者 ベーニ シュタム、 ルース

スイス国 8 2 6 0 シュタイン アム ライン ツォリコフ 8

(72)発明者 ブラッター、 フリッツ

スイス国 4 1 5 3 ライナハ エリンシュトラッセ 6 7

(72)発明者 シエラギエヴィッチ、 マルティン

スイス国 4 0 5 9 バーゼル ホーエ ヴィンデーシュトラッセ 1 5 1

審査官 早乙女 智美

(56)参考文献 特許第 7 1 6 9 2 9 2 (J P , B 2)

特開 2 0 0 0 - 3 2 7 6 8 0 (J P , A)

特表 2 0 1 1 - 5 1 2 3 6 6 (J P , A)

中国特許出願公開第 1 0 6 9 8 6 8 7 3 (C N , A)

中国特許出願公開第 1 0 2 6 5 9 6 0 9 (C N , A)

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 C

C 0 7 D

A 6 1 K

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)