(19)

SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 933151 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 933151

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
A61K 31/495
A61K 47/40
C08B 37/16
C08L 5/16

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **09.07.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **09.07.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **14.01.1994**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

13.07.1992 CH 2192/92

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •**Eprova Aktiengesellschaft,** Im Laternenacker 5, 8200 Schaffhausen, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •**Müller, Hans Rudolf,** Schaffhausen, SVEITSI, (CH)
2 •**Ulmann, Martin,** Dachsen, SVEITSI, (CH)
3 •**Conti, Josef,** Switzerland, SVEITSI, (CH)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention
5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo-syklodekstriini-sulkeumayhdisteet
5,10 metylentetrahydrofolsyre-cyklodextrin-inneslutningsföreningar

5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo-syklodekstriini-sulkeumayhdisteet - 5,10 metylentetrahydrofolsyre-cylkodextrininneslutningsföreningar

Keksintö koskee (6R)-, (6S)- ja (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon α-, ß-, γ-, hydroksipropyyli-ß-, hydroksipropyyli-γ-, dimetyyli-ß- ja dimetyyli-γ-syklodekstriinisulkeumayhdisteitä. Näiden yhdisteiden yllättävän hyvä stabiilius mahdollistaa ensimmäisen kerran niiden farmaseuttisen käytön.

Keksintö koskee myös menetelmää mainittujen substanssien valmistamiseksi sekä niiden käyttöä lääkkeiden valmistamiseen.

Seuraavassa hydroksipropyyli-syklodekstriini tarkoittaa hydroksipropyyli-syklodekstriiniä (0.6), hydroksipropyyli-syklodekstriiniä (0.9), 3-hydroksipropyyli-syklodekstriiniä, 2,3-dihydroksipropyyli-syklodekstriiniä ja ennen kaikkea 2-hydroksipropyyli-syklodekstriiniä. Samaten 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo tarkoittaa seuraavassa myös 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposuoloja, ennen kaikkea alkali- ja maa-alkalisuoloja.

Tetrahydrofolaatit ovat foolihappojen biologisesti aktiivisia muotoja (foolihappokofaktoreita). Tetrahydrofolaatteja käytetään lääkeaineena pääasiassa 5-formyyli-5,6,7,7-tetrahydrofoolihapon kalsiumsuolana (Leucovorin) esim. 5-fluorirasiilin terapeuttisen vaikutuksen vahvistamiseen tai esim. apusubstanssina käytettäessä metotreksaattia syövän hoidossa.

(6S)-5-formyylitetrahydrofoolihappo muuttuu elimistössä (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapoksi, joka muodostaa kofaktorina 5-fluoriurasiilista (5-FU) muodostuneen 5-fluori-desoksiuridiinimonofosfaatin (5-FdUMP) ja tymidylaattisyntetaasin (TS) kanssa sytostaattisesti vaikuttavan kovalenttisen ternaarisen kompleksin: 5-F-dUMP/TS/5,10-metylee-

nitetrahydrofoolihappo. Katso W.A. Bleyer, Cancer March 15 Supplement 1989: s., 995-1007 sekä E.L.R. Stockstad, Folic acid Metabolism in Health and Disease 1990 (Wiley-Liss Inc), sivu 9.

Siksi olisi edullista käyttää Leucovorinin (5-formyylitetrahydrofoolihapon) asemasta suoraan kofaktoria 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo. Katso WO 91/17660, sivu 5, rivit 24.-35. Tähän mennessä tämä yritys on rauennut 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ja sen suolojen riittämättömään puhtauteen ja stabiiliuteen. Vertaa EP 0 409 125, siinä kuvatut (6R,S)-5,10-metyleeniterahydrofoolihappopitoisuudet ovat yleensä 85-90 %. Ainoastaan (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kalsium- ja magnesiumsuoloista saadaan valmisteita, joiden sisältö on 96,5-98,8 %. Suolaliuosten stabiilius on kuitenkin hyvin kriittinen. pH:ssa 9 on 6 tunnin kuluttua jäljellä noin 85 % alkuperäisestä 5,10-metyleenitetrahydrofoolihaposta. Katso EP 0 409 125, taulukko, sivu 134.

Tetrahydrofoolihappo on liuoksena tasapainossa formaldehydin ja tetrahydrofoolihapon kanssa. Katso L.J. Machlin, Handbook of Vitamins, 2. painos (Marcel Decker Inc., N.Y.-/Basel), T. Brody, sivu 457; M.J. Osborn, et al, J. Am. Chem.Soc. 82, 4921 (1960), R.G. Kallen, et al., Biol. Chem., 241, 5851 (1966), Moran et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 1456-1460 (1979). Tämä tasapaino estää 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon parenteraalisen käytön. Myöskään WO 91/17660:ssä, jossa selostetaan intensiivisesti 5,10-metyleenitetrahydrofoolin käytön etuja verrattuna muihin tetrahydrofoolihappojohdannaisiin, ei esitetä mitään mahdollisuutta 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon stabiloimiseksi. Tämä stabilointi on kuitenkin peruste, joka mahdollistaa vasta 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon farmaseuttisen käytön. Tähän mennessä tunnetuissa tekniikoissa, kuten 5-formyylitetrahydrofoolihapon stabilointiin käytetyssä askorbiinihapon, parabeenien, merkaptoalkoholien tai trometamolin lisäyksessä, katso EP 0 416 232, tai 5-formyylitetrahydrofoolihapon kalsiumsuolan stabiloinnissa lisää-

mällä kompleksinmuodostusaineita maa-alkali-ionia varten, katso EP 0 401 895, ei voida käyttää 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappoa tai niissä on vain on vain rajoittunutta tulosta, esim. tetrahydrofoolihapon ja tetrahydrofoolihappojohdannaisen hapettumishajoamisen hidastumisen takia. Millään näistä menetelmistä ei saada kuitenkaan 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tasapainoa tetrahydrofoolihapon vapaan formaldehydin kanssa.

Samaten selvästi vain hapettumishajoamisen estämiseen suunnattu on ß-syklodekstriinin käyttäminen dihydrofoolihapon stabiloimiseen, jota voidaan käyttää substraattina metotreksaatin biokemiallisessa analysoinnissa (JP 58-48933 Sho), ja syklodekstriinin käyttö Leucovorinin stabilointiin (EP 0 427 078).

Yllättäen havaittiin, että tetrahydrofoolihappo menee syklodekstriinien kanssa kondensaatioreaktioon formaldehydin kanssa ja ennen kaikkea että vesiliuoksessa syntyy reaktion jälkeen 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon sulkeumayhdisteitä vastaavassa syklodekstriinissä ja siten ensimmäisen kerran mahdollistuu 5,10-metyleenitetrahydrofolihapon terapeuttinen käyttö vesiliuoksina.

Stabiiliuden lisääntyminen on sitäkin yllättävämpää, koska tähänastisista mittauksista on saatu lopputulos, että käytönnössä ei esiinny mitään tetrahydrofolaattien vuorovaikutusta syklodekstriinin kanssa. Katso D.W. Armstrong, et al, Science, 232, 1132-5. (1986), erityissivulla 134, palsta 2, rivi 2. Omilla mittauksilla voitiin vahvistaa, että syklodekstriini ei ole vuorovaikutuksessa 5-formyylitetrahydrofoolihapon kanssa ja se on erittäin heikosti vuorovaikutuksessa 5-metyylitetrahydrofoolihapon kanssa. Täten ei ollut odotettavissa 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon stabiloitumista ottaen huomioon kemiallinen hajaantuminen ja ennen kaikkea myös tasapainon siirtyminen vapaasta formaldehydistä ja tetrahydrofoolihaposta 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappoon.

Syklodekstriinisulkeumavalmisteet valmistetaan edullisesti EP-patenttihakemuksesta 0 495 204 helposti saatavalla (6S)-, (6R)- ja (6R,S)- tetrahydrofoolihapposulfaatilla tai sulfonihapposuolalla in situ ja suoritetun eristämisen tai vapauttamisen ja puhdistamisen jälkeen reagoittamalla formaldehydin kanssa vastaaavan syklodekstriinin läsnäollessa. Tetrahydrofoolihapon kvantitatiiviseen reagoittamiseen tarvitaan tällöin vain pieniä korkeintaan 10-20 % formadehydin mooliylimääriä. Reaktio tapahtuu tällöin edullisesti pH-alueella 8-9. Sulkeumayhdiste voidaan saada myös viemällä (6R)-, (6S)- tai (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo syklodekstriiniliuokseen tai syklodekstriinilietteeseen tai jauhamalla hienoksi kiinteässä muodossa oleva (6R,)-, (6S)-, tai (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo ja syklodekstriini. Saadut tuotteet ovat liuoksena stabiileja huoneenlämpötilassa. Ne sopivat parenteraalisten lääkemuotojen aineosiksi tai lähtömateriaaliksi oraalisten lääkemuotojen valmistamiseen. Sekä oraaliset että parenteraaliset lääkemuodot ovat sopivia syövän hoitoon, tiettyjen anemiamuotojen, autoimmuunisairauksien ja hermostollisten häiriöiden hoitoon.

Keksinnön kohteena ovat uudet (6R)-, (6S)- ja (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappojen α-, ß-, γ -, hydroksipropyyli-ß-, hydroksipropyyli-γ-, dimetyyli-ß- ja dimetyyli--syklodekstriinisulkeumayhdisteet. Nämä tuotteet ovat stabiileja vesiliuoksena. Ne sopivat parenteraalisten lääkemuotojen valmistamiseen esim. syövänhoidossa.

Suuren liukenevuuden ja fysiologisesti hyvän siedettävyyden takia sopivat 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon alkali- ja maa-alkalisuolat, erityisesti natrium-, kalium-, kalsium- tai magnesiumsuola, näiden yhdisteiden valmistamiseen. 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon magnesiumsuola on samanlaisessa puhtaudessa verrattuna kalsiumsuolaan noin kymmenen kertaa liukenevampaa, natrium- ka kaliumsuola vielä liukenevampaa. Nämä substanssit on siten nostettava esille erityisesti valmistettaessa farmaseuttisia tuotteita.

Edullisia yhdisteitä ovat:
(6R)- ja (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon alkali- ja maa-alkalisuolat syklodekstriinin kanssa,
(6R)- ja (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon alkali- ja maa-alkalisuolat hydroksipropyyli-ß-syklodekstriinin kanssa,
(6R)- ja (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon alkali- ja maa-alkalisuolat hydroksipropyyli-γ-syklodekstriinin kanssa,
(6R)- ja (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon alkali- ja maa-alkalisuolat γ-syklodekstriinin kanssa,
(6R)- ja (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon alkali- ja maa-alkalisuolat dimetyyli-ß-syklodekstriinin kanssa, jolloin 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon luonnollinen (6R)-muoto on edullineen sulkeumayhdisteen valmistamiseksi.

Keksinnön muuna kohteena on menetelmä 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon stabiilien syklodekstriini-sulkeumayhdisteiden valmistamiseksi, jolle on tunnusomaista, että 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo tai 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon johdannainen reagoitetaan α-, ß- tai γ-syklodekstriinin tai α-, ß- tai γ-syklodekstriinin johdannaisen kanssa ja edullisesti tetrahydrofoolihappo tai tetrahydrofoolihapon suola reagoitetaan vastaavan syklodekstriinin kanssa, suolataan uudestaan tai vapautetaan haluttaessa ja sen jälkeen 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo-syklodekstriini-sulkeumayhdisteitä valmistetaan in situ lisäämällä formadehydiä ja haluttaessa eristetään saatu 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo-syklodekstriinisulkeumayhdiste.

5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon, vast. tetrafoolihapon, edullisia suolatovereita ovat tällöin farmaseuttisesti hyväksyttävät kationit, kuten natrium, kalium, magnesium, kalsium, tai anionit, kuten sulfaatit, sulfonaatit, tai halogenidit.

Edulliset syklodekstriini-sulkeumayhdisteet syntyvät syklodekstriineillä, kuten ß-, hydroksipropyyli-ß-, dimetyyli-ß-, γ-, hydroksipropyyli-γ- tai dimetyyli-γ-syklodekstrii-

neillä. Syklodekstriinejä käytetään edullisesti vähintään 1:1 tai 2:1 molaarisissa suhteissa 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappoon. Suurkonsentroitujen syklodekstriiniliuosten käytöstä on tällöin etua. Voidaan käyttää myös erilaisten syklodekstriinien seoksia. Tällöin voi tulla edulliseksi kulloisenkin käyttötarkoituksen mukaisesti 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon määrätty suola, määrätty syklodekstriini tai 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ja syklodekstriinin määrätty suhde. Optimaaliset olosuhteet voidaan määrittää yksinkertaisilla kokeilla.

Tetrahydrofoolihapon reagoittaminen formaldehydin kanssa tapahtuu edullisesti liuottimessa, joka koostuu vedestä, tai veteen sekoittuvassa orgaanisessa liuottimessa, kuten alemmassa alifaattisessa karbonihapossa tai alemmassa alkoholissa.

Tetrahydrofoolihapon hapettumisherkkyyden takia suositellaan hapettumissuojan käyttöä.

Syklodekstriini-sulkeumayhdisteiden eristäminen tapahtuu tunnetuilla tekniikoilla, kuten esim. haihduttamalla liuotin korotetussa lämpötilassa tyhjössä, kiteyttämällä, lyofilisoimalla tai saostamalla lisäämällä orgaanista liuotinta.

Syklodekstriini-sulkeumayhdisteen valmistaminen voi tapahtua myös jauhamalla 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo ja syklodekstriini kiinteässä muodossa.

Keksintö koskee myös (6R)-, (6S)- tai (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappojen tai niiden suolojen käyttöä sulkeumayhdisteenä α-, ß- tai γ-syklodekstriinissä tai niiden johdannaisia aineosana tai lähtömateriaalina lääkkeiden valmistamiseen.

<u>Keksintöä valaisevat esimerkit</u>

<u>Esimerkki 1</u>

5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ja sen suolojen syklodekstriini-sulkeumayhdisteiden stabiilius vesiliuoksena

a) (6R)- ja (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natrium- ja kalsiumsuolaliuosten stabiilius 23 °C:ssa fosfaattipuskurissa

	viikkoa					
	1	2	4	5	7	14
Na-suola (6R)-CH_2-THF ei syklodekstriiniä typen alaisena	91,1	64,4	30,5	18,1	16,7	-
Na-suola (6R)-CH_2-THF ß-syklodekstriini	-	92,3	-	-	-	88,5
Na-suola (6R)-CH_2-THF ß-syklodekstriini	100,0	84,8	-	75,0	-	-
Na-suola (6R)-CH_2-THF α- + ß-syklodekstriini (1:1:1)	100,0	95,8	94,3	83,2	78,5	73,0
Ca-suola (6R)-CH_2-THF α- + ß-syklodekstriini (1:1:1)	-	80,2	57,3	50,2	47,4	44,0

CH_2-THF = 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo

b) (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolaliuosten stabiilius 60 °C/stressitestissä fosfaattipuskurissa

	tuntia					
	3	6	18	24	30	48
ei syklodekstriiniä	77,7	34,4	2,8	-	0,8	-
α-syklodekstriini	-	84,1	-	-	-	12,6
ß-syklodekstriini	91,2	-	-	75,2	-	-

dimetyyli-ß-syklodekstriini	88,9	-	-	31,5	-	-
hydroksipropyyli-ß-syklodekstriini	90,4	-	-	70,5	-	-
γ-syklodekstriini	95,4	-	-	63,5	-	-
hydroksipropyyli-γ-syklodekstriini	97,4	-	-	73,7	-	-

c) (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kalsiumsuolaliuoksen stabiilius 60 °C/stressitestissä fosfaattipuskurissa (PBS)

	tuntia					
	3	6	18	24	30	48
ei syklodekstriiniä	74,4	53,8	-	7,7	2,6	0,1
α-syklodekstriini	74,5	56,4	-	7,8	3,8	0,8
hydroksipropyyli-γ-syklodekstriini (0.6)	75,3	57,1	-	7,8	2,7	0,7
ß-syklodekstriini	87,7	77,8	-	42,0	33,3	14,8
dimetyyli-ß-syklodekstriini (1.8)	80,2	69,1	-	29,6	22,2	7,4
hydroksipropyyli-ß-syklodekstriini (0.6)	83,2	71,2	-	28,8	22,5	6,2
hydroksipropyyli-ß-syklodekstriini (0.9)	83,5	69,6	-	29,1	21,5	7,6
γ-syklodekstriini	81,2	66,2	-	16,2	8,8	1,2
hydroksipropyyli-γ-syklodekstriini (0.6)	95,1	81,4	-	13,6	6,8	1,0

d) (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon magnesiumsuolaliuoksen stabiilius 60 °C/stressitestissä fosfaattipuskurissa (PBS)

	tuntia				
	3	6	18	24	30
ei syklodekstriiniä	72,7	53,4	-	7,6	2,4
α-syklodekstriini	76,5	58,8	-	12,9	4,9
hydroksipropyyli-γ-syklodekstriini (0.6)	80,2	67,4	-	14,0	6,3

ß-syklodekstriini	79,1	61,6	-	26,7	17,4
dimetyyli-ß-syklodekstriini (1.8)	73,6	56,3	-	19,5	11,5
hydroksipropyyli-ß-syklodekstriini (0.6)	83,3	64,3	-	25,0	14,3
hydroksipropyyli-ß-syklodekstriini (0.9)	82,6	65,1	-	24,4	12,8
γ-syklodekstriini	82,1	64,3	-	20,2	18,8
hydroksipropyyli-γ-syklodekstriini (0.6)	81,2	64,7	-	17,6	8,9

Taulukoissa annetut arvot vastaavat kulloinkin 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon pitoisuutta lähtöarvon prosenttina (t=0).

Stabiiliuden määrittämiseen käytettiin liuoksia, joiden 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappokonsentraatio on noin 4 % pH:ssa 7 ja jotka valmistettiin esimerkkien 3-20 mukaan. Kokeiden kohteena oli saada jonkin taulukon a, b, c tai d mukaisia verrattavissa olevia mittaustuloksia. Optimaalisesti valituissa olosuhteissa voidaan määrittää helposti yksinkertaisissa kokeissa 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon, vast. syklodektriinin, konsentraation vaihtelulla tai niiden konsentraatiosuhteen vaihtelulla tai 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon suolan valinnalla, vast. liuottimen valinnalla, onko sulkeumatuotteen stabiilius selvästi suurempi.

Substanssien valmistamiseksi käytettiin syklodektriineitä, joiden vesipitoisuus on seuraava: α-syklodekstriini 11,5 %, ß-syklodekstriini 15,6 %, dimetyyli-ß-syklodekstriini 12,7 %, hydroksipropyyli-ß-syklodektriini 6,4 %, γ-syklodekstriini 9,8 %, dimetyyli-γ-syklodektriini 9,2 %, hydroksipropyyli-γ-syklodektriini 6,0 % (kaikki arvot on määritetty termogravimetrialla).

Esimerkki 2

5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon syklodekstriini-sulkeu-

mayhdisteiden kemiallinen siirtymä verrattaessa syklodekstriiniin ja 5-formyylitetrahydrofoolihappoon

5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ^{13}C-signaalien vast. 5-formyylitetrahdyrofoolihapon ^{13}C-signaalien ja 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ^{1}H-signaalien varjostuksen muutos (ppm) mitattiin vesiliuoksissa muodostamalla sulkeumayhdiste ß-syklodekstriinillä pH:ssa 9.

^{13}C-spektrit		Δppm
5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo	C-7	+0,532
	C-9	+0,908
	C-11	+1,301

^{13}C-spektrit		Δppm
5-formyylitetrahydrofoolihappo	C-7	+0,013
	C-9	+0,013
	C-11	-0,007

^{1}H-spektrit		
5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo	H_2-7	+0,20
	H-3'/H-5'	-0,15
	H-2'/H-6'	+0,07
	H_2- -Glu	-0.08

5-formyylitetrahydrofoolihapon ^{13}C-spektreistä ilmenee selvästi, että syklodektriinillä ei ole vuorovaikutusta tämän substanssin kanssa. Sitä vastoin osoittavat 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ^{13}C-spektrien ja ^{1}H-spektrien Δppm-arvot poikkeuksellisen vahvaa vuorovaikutusta, erityisesti molekyylin pteridiiniosassa.

Esimerkki 3

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ß-syklodektriinisulkeumayhdisteet

22,7 g ß-syklodektriiniä ja 4,88 g (6S)-tetrahydrofoolihappoa suspendoidaan typen alaisena huoneenlämpötilassa 2000 ml:aan vettä. Sen jälkeen lisätään tiputtamalla 1,3 ml formaliiniliuosta (36,2 %). Lämmittämällä kevyesti suspensio

noin 40 °C:een saadaan käytännössä kirkas liuos, joka haihdutetaan kirkkaaksi suodattamisen jälkeen kiertohaihduttimessa 20 °C:ssa / 1 mbar kuivaksi.

Saadaan 25,8 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ß-syklodekstriinisulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 13,3 % (määritetty HPLC:llä).

Esimerkki 4

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolan ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

a) 22,7 g ß-syklodektriiniä suspendoidaan 650 ml:aan vettä. Lisätään huoneenlämpötilassa typen alaisena 4,8 g (6S)-tetrahydrofoolihappoa. Tällöin suspension pH pidetään 7-9:ssä (16,3 ml NaOH 1n). Sen jälkeen lisätään tiputtamalla 0,93 ml formaliiniliuosta (36,2 %). Saatu liuos suodatetaan kirkkaaksi ja noin 20 minuutin jälkireaktioajan kuluttua haihdutetaan kirkkaaksi huoneenlämpötilassa 20 °C:ssa / 1 mbar kuivaksi.

Saadaan 26,3 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolan ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 17,9 % (määritetty HPLC:llä).

b) Jauhamalla intensiivisesti 10 g kosteaa ß-syklodektriiniä ja 2,6 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolaa saadaan samanlainen tuote, kuin esimerkissä 4 a) kuvataan.

Stabiilius kiintoaine: (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon pitoisuus 113 Tg/-25 °C:ssa jälkeen 100,0 %, 63 Tg/+23 °C:ssa jälkeen 98,2 %.

Esimerkki 5

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kalsiumsuolan ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

5,78 g ß-syklodektriiniä ja 320 mg kalsiumhydroksidia lietetään 30 ml:aan vettä. 1,97 g (6S)-tetrahydrofoolihappoa lisätään typen alaisena. Sen jälkeen lisätään 28 ml vettä ja 0,37 ml formaliiniliuosta (36,2 %). Saatu liuos suodatetaan kirkkaaksi ja sulkeumaliuos saostetaan suodatteesta 300 ml:lla etanolia 0 °C:ssa. Tuote pestään etanoli/vedellä ja kuivataan 20 °C:ssa.

Saadaan 7,8 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kalsiumsuolan ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 25,6 % (määritetty HPLC:llä).

Esimerkki 6

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kaliumsuolan ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kaliumsuolan ß-syklodekstriini-sulkeumayhdiste valmistetaan analogisesti tavalla, joka on kuvattu esimerkissä 4.

Esimerkki 7

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon magnesiumsuolan ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon magnesiumsuolan ß-syklodekstriini-sulkeumayhdiste valmistetaan analogisesti tavalla, joka on kuvattu esimerkissä 5.

Esimerkki 8

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kalsiumsuolan - ja ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

10,85 g α-syklodektriiniä, 12,9 g ß-syklodekstriiniä ja 744 mg kalsiumhydroksidia lietetään 100 ml:aan vettä. Typen alaisena lisätään 4,93 g (6S)-tetrahydrofoolihappoa, lisäksi lisätään 31 mg kalsiumhydroksidia ja 0,92 ml formaliiniliuosta (36,2 %). Noin 20 minuutin reaktioajan kuluttua liuos suodatetaan kirkkaaksi ja sulkeumayhdiste saostetaan suodatteesta lisäämällä 750 ml etanolia 0 °C:ssa, se pestään etanoli/vedellä ja kuivataan 20 °C:ssa.

Saadaan 29,2 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon α-/ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 16,5 % (määritetty HPLC:llä).

Esimerkki 9

(6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolan ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

2,27 g ß-syklodektriiniä suspendoidaan 100 ml:aan vettä. Lisätään huoneenlämpötilassa typen alaisena 608 mg (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappoa. Tällöin suspension pH pidetään 7-9:ssä (2,7 ml NaOH 1n). Saatu liuos suodatetaan kirkkaaksi ja lyofilisoidaan.

Saadaan 2,75 g (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolan ß-syklodekstriinisulkeumayhdistettä, jonka (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 16,0 % (määritetty HPLC:llä).

Stabiilius kiintoaine: (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo-THF pitoisuus 156 Tg/-25 °C:ssa jälkeen 100,0 %.

Esimerkki 10

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolan ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste sulfaatista

22,7 g ß-syklodektriiniä suspendoidaan 1130 ml:aan vettä. Lisätään huoneenlämpötilassa typen alaisena 5,4 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo-sulfaattia. Tällöin suspension pH pidetään 7-9:ssä (33 ml NaOH 1n). Saatu liuos suodatetaan kirkkaaksi ja lyofilisoidaan.

Saadaan 28,4 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolan ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 15,3 % (määritetty HPLC:llä).

Stabiilius kiintoaine: (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappopitoisuus 154 Tg/-25 °C:ssa jälkeen 99,5 %.

Esimerkki 11

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste liuoksesta

2,27 g ß-syklodektriiniä liuotetaan 150 ml:aan vettä. Lisätään typen alaisena 608 mg (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappoa (pH 3,7). Syntynyt liuos suodatetaan kirkkaaksi ja suodos lyofilisoidaan.

Saadaan 2,7 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 15,5 % (määritetty HPLC:llä).

Stabiilius kiintoaine: (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappopitoisuus 158 Tg/-25 °C:ssa jälkeen 100,0 %.

Esimerkki 12

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon sulfaatin ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

Käyttämällä 540 mg (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon rikkihapposuolaa analogisesti esimerkin 11 kanssa saadaan 2,65 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon rikkihapon ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 15,2 % (määritetty HPLC:llä).

Stabiilius kiintoaine: (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposulfaattipitoisuus 157 Tg/-25 °C:ssa jälkeen 99,0 %.

Esimerkki 13

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon bentseenisulfonaatin ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

Käyttämällä 603 mg (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon bentseenisulfonihapposuolaa analogisesti esimerkin 11 kanssa saadaan 2,94 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon bentseenisulfonihapposuolan ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 13,1 % (määritetty HPLC:llä).

Stabiilius kiintoaine: (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappobentseenisulfonaattipitoisuus 72 Tg/-25 °C:ssa jälkeen 100,0 %.

Esimerkki 14

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kalsiumsuolan ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

Käyttämällä 610 mg (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kalsiumsuolaa analogisesti esimerkin 11 kanssa saadaan 2,65 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon kalsiumsuolan ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 15,6 % (määritetty HPLC:llä).

Esimerkki 15

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon magnesiumsuolan ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

Käyttämällä 600 mg (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon magnesiumsuolaa analogisesti esimerkin 11 kanssa saadaan 2,69 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon magnesiumsuolan ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 13,1 % (määritetty HPLC:llä).

Stabiilius kiintoaine: (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon magnesiumsuolan pitoisuus 155 Tg/-25 °C:ssa jälkeen 99,5 %.

Esimerkki 16

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolan dimetyyli-ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

26,2 g dimetyyli-ß-syklodektriiniä liuotetaan 100 ml:aan vettä. Lisätään huoneenlämpötilassa typen alaisena 5,6 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo-sulfaattia. Liuoksen pH pidetään tällöin 7-9:ssä (37 ml NaOH 1n). Saatu liuos suodatetaan kirkkaaksi ja lyofilisoidaan.

Saadaan 32,6 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolan dimetyyli-ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä,

jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 14,3 % (määritetty HPLC:llä).

Stabiilius kiintoaine: (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon natriumsuolan pitoisuus 56 Tg/-25 °C:ssa jälkeen 100,0 %, 56 Tg/+25 °C:ssa jälkeen 97,5 %.

Esimerkki 17

(6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon rikkihapposuolan dimetyyli-ß-syklodektriini-sulkeumayhdiste

2,62 g dimetyyli-ß-syklodektriiniä liuotetaan 10 ml:aan vettä. Huoneenlämpötilassa lisätään typen alaisena 560 mg (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo-sulfaattia ja seuraavaksi 140 ml vettä. Syntynyt liuos suodatetaan kirkkaaksi ja lyofilisoidaan.

Saadaan 3,29 g (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon rikkihapposuolan dimetyyli-ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä, jonka (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapposisältö on 13,6 % (määritetty HPLC:llä).

Esimerkki 18

(6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon hydroksipropyyli-ß-syklodektriini-sulkeumayhdisteet

Käyttämällä hydroksipropyyli-ß-syklodektriiniä analogisesti esimerkkien 3-17 kanssa saadaan (6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai niiden suolojen hydroksipropyyli-ß-syklodekstriini-sulkeumayhdisteitä.

Esimerkki 19

(6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon hydroksipropyyli- -syklodektriinisulkeumayhdisteet

Käyttämällä hydroksipropyyli-γ-syklodektriiniä analogisesti esimerkkien 3-17 kanssa saadaan (6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai niiden suolojen hydroksipropyyli-γ-syklodekstriinisulkeumayhdisteitä.

Esimerkki 20

(6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon dimetyyli-γ-syklodektriini-sulkeumayhdisteet

Käyttämällä dimetyyli-γ-syklodektriiniä analogisesti esimerkkien 3-17 kanssa saadaan (6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai sen suolojen dimetyyli-ß-syklodekstriini-sulkeumayhdistettä.

Patenttivaatimukset

1. Stabiilit, vesipitoiset koostumukset, t u n n e t u t siitä, että ne sisältävät
i) (6R)-, (6S)- tai (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappoa tai (6R)-, (6S)- tai (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon suolaa ja
ii a) α-, ß- tai γ-syklodekstriiniä tai α-, ß- tai γ-syklodekstriinin johdannaista tai
ii b) α-, ß- tai γ-syklodekstriinin seosta tai α-, ß- tai γ-syklodekstriinin johdannaisten seosta tai α-, ß- tai γ-syklodekstriinin ja α-, ß- tai γ-syklodekstriinin johdannaisen seosta.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että käytetään (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihappoa tai (6R)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa ja ß- tai γ-syklodekstriiniä tai ß- tai γ-syklodekstriinin farmaseuttisesti hyväksyttävää johdannaista.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että 5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon farmaseuttisesti hyväksyttävänä suolana käytetään alkali- tai maa-alkalisuolaa, edullisesti natrium-, magnesium- tai kalsiumsuolaa, ja syklodekstriinin farmaseuttisesti hyväksyttävänä johdannaisena käytetään hydroksialkyloitua tai alkyloitua ß- tai γ-syklodekstriiniä, edullisesti hydroksipropyyli-ß-, hydroksipropyyli-γ- tai dimetyyli-ß-syklodekstriiniä.

4. (6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai niiden suolojen α-, ß- tai γ-syklodekstriini-sulkeumayhdisteet.

5. (6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai niiden suolojen hydroksialkyyli-ß- tai hydroksialkyyli-γ syklodekstriini-sulkeumayhdiste.

6. (6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai niiden suolojen hydroksipropyyli-ß- tai hydroksipropyyli-γ syklodekstriini-sulkeumayhdiste.

7. (6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai niiden suolojen alkyyli-ß- tai alkyyli-γ-syklodekstriini-sulkeumayhdiste.

8. (6R)- tai (6S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai niiden suolojen dimetyyli-ß- tai dimetyyli-γ-syklodekstriini-sulkeumayhdisteet.

9. Menetelmä (6R)-, (6S)- tai (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai sen suolojen vesiliuosten stabiloimiseksi, t u n n e t t u siitä, että lisätään α-, ß- tai γ-syklodekstriiniä tai α-, ß- tai γ-syklodekstriinin johdannaista.

10. Menetelmä (6R)-, (6S)- tai (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai sen suolojen stabiilien vesiliuosten valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että (6S)-, (6R)- tai (6R,S)-tetrahydrofoolihappo tai vastaavan tetrahydrofoolihapon suola reagoitetaan α-, ß- tai γ-syklodekstriinin tai α-, ß- tai γ-syklodekstriinin johdannaisen läsnäollessa formaldehydin kanssa, haluttaessa se suolataan uudelleen ja haluttaessa eristetään saatu 5,10-metyleenitetrahydrofoolihappo-syklodekstriini-sulkeumayhdiste.

11. (6R)-, (6S)- tai (6R,S)-5,10-metyleenitetrahydrofoolihapon tai sen suolojen käyttö sulkeumayhdisteinä α-, ß- tai γ-syklodekstriinissä tai niiden johdannaisissa aineosana tai lähtöaineena lääkkeiden valmistamiseksi.

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS **TUTKIMUSRAPORTTI**

Patentti- ja innovaatiolinja

HAKEMUSNUMERO	LUOKITUS
933151	A61K 31/495
	☐ jatkuu kääntöpuolella

TUTKITTU AINEISTO
Patenttivirastojen julkaisut FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US:
☐ jatkuu kääntöpuolella
Muu aineisto
☐ jatkuu kääntöpuolella

VIITEJULKAISUT

Kategoria*)	Julkaisun tunnistetiedot	Koskee vaatimuksia

☐ jatkuu kääntöpuolella

*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna

Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu

A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este

Päiväys	Tutkija
8.11.2002	Kirsi Kalro