(19) **RU** (11) **2 135 519** (13) **C1**

(51) МПК[6] **C 08 B 37/02, C 08 L 5/02, C 07 D 487/14**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 93047800/04, 06.07.1993

(24) Дата начала действия патента: 06.07.1993

(30) Приоритет: 13.07.1992 CH 02192/92-0

(46) Дата публикации: 27.08.1999

(56) Ссылки: Osborn. M.J. et al., J.Am.Chem. Soc., 82, 4921 (1960). Kallen R.G. et al., J.Biol.Chem., 241, 5851 (1966). EP 0495204 A, 1992. EP 0427078 A, 1991. Б.Йиргенсонс. Природные органические макромолекулы. - М.: М., 1965.

(98) Адрес для переписки:
101000, Москва, М.Златоустинский пер. 10-15, ЕВРОМАРКПАТ Веселицкой И.А.

(71) Заявитель:
Епрова АГ (CH)

(72) Изобретатель: Ханс Рудольф Мюллер (CH), Мартин Ульманн (CH), Йозеф Конти (CH)

(73) Патентообладатель:
Епрова АГ (CH)

(54) СТАБИЛЬНЫЕ ВОДНЫЕ СОСТАВЫ СОЕДИНЕНИЙ ВКЛЮЧЕНИЯ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ, СОЕДИНЕНИЯ ВКЛЮЧЕНИЯ α-, β- или γ- ЦИКЛОДЕКСТРИНА ИЛИ ЕГО АЛКИЛ- ИЛИ ГИДРОКСИАЛКИЛПРОИЗВОДНЫХ И (6R)- ИЛИ (6S)-5,10-МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ ИЛИ ЕЕ СОЛИ, СПОСОБ СТАБИЛИЗАЦИИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ И СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СТАБИЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

(57) Реферат:

Стабильные водные составы соединений включения циклодекстринов содержат а) (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевую кислоту или соль 6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты, б) α-,β- или γ-циклодекстрин или алкил или гидроксиалкил-производные α-,β- или γ-циклодекстрина или в) смесь α-,β- или γ-циклодекстрина или алкил- или гидроксиалкилпроизводных α-,β- или γ-циклодекстрина, или смесь α-,β- или γ-циклодекстрина с алкил- или гидроксиалкилпроизводным α-,β- или γ-циклодекстрина. При этом оказалось, что указанные соединения включения более стабильны, чем сама 5,10-тетрагидрофолиевая кислота. Эти соединения стабильны в водном растворе и пригодны для получения парентеральных лекарственных средств. 5 с. и 8 з.п. ф-лы, 5 табл.

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

(19) **RU** (11) **2 135 519** (13) **C1**

(51) Int. Cl.[6] **C 08 B 37/02, C 08 L 5/02, C 07 D 487/14**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 93047800/04, 06.07.1993

(24) Effective date for property rights: 06.07.1993

(30) Priority: 13.07.1992 CH 02192/92-0

(46) Date of publication: 27.08.1999

(98) Mail address:
101000, Moskva, M.Zlatoustinskij per. 10-15,
EVROMARKPAT Veselitskoj I.A.

(71) Applicant:
Eprova AG (CH)

(72) Inventor: Khans Rudol'f Mjuller (CH),
Martin Ul'mann (CH), Jozef Konti (CH)

(73) Proprietor:
Eprova AG (CH)

(54) STABLE AQUEOUS COMPOSITIONS OF CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPOUNDS, COMPOUNDS INCLUDING α-,β- or γ- DEXTRIN OR ITS ALKYL- OR HYDROXYALKYL DERIVATIVES AND (6R)-OR (6S)-5,10-METHYLENE TETRAHYDROFOLIC ACID OR ITS SALT, METHOD OF STABILIZING AQUEOUS SOLUTIONS, AND METHOD OR PREPARING STABLE SOLUTIONS

(57) Abstract:

FIELD: chemical industry. SUBSTANCE: stable aqueous compositions of cyclodextrin inclusion compounds comprise (a) (6R)-or (6R,S)-5,10-methylene tetrahydrofolic acid or salt of (6R)-, (6S)- or (6R,S)-5,10-methylene tetrahydrofolic acid and (b) α-,β- or γ-- cyclodextrin or α-,β- or γ-cyclodextrin alkyl- or hydroxyalkyl derivatives or (c) mixture of (α-,β- or γ--cyclodextrin or α-,β- or γ-- cyclodextrin alkyl- or hydroalkyl derivatives, or mixture of α-,β- or γ-- cyclodextrin with α-,β- or γ--cyclodextrin alkyl- or hydroalkyl derivatives. Said inclusion compounds are more stable than 5,10-tetrahydrofolic acid itself. These compounds are stable in aqueous solution and are useful for preparing parentheral medicinals. EFFECT: improved properties of the title compounds. 14 cl, 20 ex, 5 tbl

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

Изобретение относится к новым соединениям включения, α-, β- или γ-циклодекстрина или его алкил- или гидроксиалкилпроизводных и (6R)-, (6S) или (6R,S)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли, стабильным растворам соединений включения циклодекстрина, способу стабилизации водных растворов и способу получения стабильных растворов, которые могут быть использованы в фармацевтической промышленности.

Изобретение касается, кроме того, способа получения названных веществ, а также их применения для получения лекарственных препаратов.

Предпочтителен гидроксипропилциклодекстрин, выбранный из группы: гидроксипропилциклодекстрин (0,6), гидроксипропилциклодекстрин (0,9), 3-гидроксипропилциклодекстрин, 2,3 -дигидроксипропилциклодекстрин, особенно, 2-гидроксипропилциклодекстрин. Соли 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты, прежде всего, представляют собой соли щелочных и щелочноземельных металлов.

Тетрагидрофолаты являются биологически активными формами фолиевой кислоты (Co-факторы фолиевой кислоты). В качестве лекарственных средств обычно используют 5-формил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевую кислоту (лейкофорин) в виде соли кальция, например, для усиления терапевтического действия 5-фторурацила или, например, в качестве реску-вещества при использовании метотрексата при терапии рака.

В организме (6S)-5-формилтетрагидрофолиевая кислота превращается в (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевую кислоту, под действием которой в качестве Co-фактора 5-фторурацил (5-FU) превращается в 5-фтордезоксиуридинмонофосфат (5-F-dUMP) и под действием тимидилат-синтетазы (TS) цитостатически в активный ковалентный комплекс: 5-F-dUMP(TS)-5,10-метилентетрагидрофолиевую кислоту. (См. , W.A.Bleyer, Cancer March 15 Supplement 1989: S. 995- 1007 sowie E. L. R. Stokstad, Folic Acid Metabolism in Health and Disease 1990 (Wiley-Liss Inc.), Seite 9).

Было бы выгоднее применять вместо лейкофорина (5- формилтетрагидрофолиевой кислоты) непосредственно Co-фактор 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты. (См., WO 91/17660, стр.5, строки 24-35). До настоящего времени эти попытки терпели неудачу из-за недостаточной чистоты и стабильности 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и ее солей. Согласно EP 0409125, в этих соединениях содержание (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты, как правило, находится в интервале 85-90%. Лишь из соли кальция и магния (6R, S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты были получены соединения с содержанием 96,5-98,8%. Однако стабильность растворов соли очень критическая. При значении pH 9 через 6 часов наблюдали лишь 85% первоначального количества 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты. (См. EP 0409125, таблицу на стр. 14).

5,10-Метилентетрагидрофолиевая кислота в растворе находится в равновесии с формальдегидом и тетрагидрофолиевой кислотой. (См., L.J. Machlin, Handbook of Vitamins, 2nd Ed. (Marcel Decker Inc., N.Y./Basel), T. Brody S. 457; M.J. Osborn, et al, J.Am. Chem. Soc. 82, 4921 (1960), R.G. Kallen, et al., J. Biol. Chem. , 241, 5851 (1966), Moran et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 1456-1460 (1979). Это равновесие противопоказано для парентерального применения 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты. Даже в WO 91/17660, где четко указаны преимущества применения 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты по сравнению с производными тетрагидрофолиевой кислоты, не указано на возможность стабилизации 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты. Однако именно стабильность является определяющей для фармацевтического применения 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты. Известные до настоящего времени технологии, в которых используется для стабилизации 5-формилтетрагидрофолиевой кислоты добавление аскорбиновой кислоты, парабенов, меркаптоспиртов или трометомола, (см. европейский патент EP 0416232), или, в случае стабилизации соли кальция 5-формилтетрагидрофолиевой кислоты добавление комплексообразователя для щелочноземельного иона (см. европейский патент EP 0401895) не могут быть применены для 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или проявляют лишь ограниченный эффект, например, удлиняют время окислительного расщепления тетрагидрофолиевой кислоты и производных тетрагидрофолиевой кислоты. Ни один из этих методов, однако, не оказывает влияния на равновесие 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и тетрагидрофолиевой кислоты и свободного формальдегида.

Известно лишь то, что на торможение окислительного разложения направлено использование β- циклодекстрина при стабилизации дигидрофолиевой кислоты, который может употребляться как субстрат в биохимическом анализе метотрексата (патент Японии 58-48933 Sho) и использование циклодекстрина для стабилизации лейкофорина (европейский патент 0427078).

Неожиданно было обнаружено, что тетрагидрофолиевая кислота даже в присутствии циклодекстрина вступает в реакцию конденсации с формальдегидом и после реакции в водном растворе получаются стабильные соединения включения 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и соответствующих циклодекстринов. В результате этого впервые стало возможно терапевтическое применение 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты в водных растворах.

Увеличение стабильности является тем более неожиданным, что проводимое ранее изучение реакции включения практически не показали взаимодействия тетрагидрофолатов с циклодекстрином (см., D.W. Armstrong et al., Science, 232, 1132-5 (1986), и особенно стр.134, столбец 2, строка 2). Путем особых измерений смогли установить, что циклодекстрин с

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

5-формилтетрагидрофолиевой кислотой и с 5-метилтетрагидрофолиевой кислотой не вступает во взаимодействие вообще или очень слабо. Таким образом, нельзя было ожидать стабилизации 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты в отношении химического разложения и, прежде всего, в отношении сдвига равновесия свободного формальдегида и тетрагидрофолиевой кислоты в сторону 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты.

Настоящее изобретение относится к получению и изучению соединений включения циклодекстринов с 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислотой. При этом неожиданно оказалось, что эти соединения включения более стабильны, чем сама 5,10-тетрагидрофолиевая кислота. При этом стабильность присуща соединениям включения в любом виде, в том числе и в виде водных растворов.

Таким образом, предметом настоящего изобретения являются соединения включения α-, β- или γ- циклодекстрина или его алкил- или гидроксиалкилпроизводных и (6R) или (6S)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли, при их молярном соотношении от 1:1 до 1:2.

Эти соединения стабильны в водном растворе и пригодны для получения парентеральных лекарственных средств, например при терапии рака.

Предпочтительны соединения включения, представляющие собой соединение включения гидроксиалкил- β- или гидроксиалкил -γ- циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли, в частности представляющие собой соединения включения гидроксипропил- β- или гидроксипропил-γ-циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли, либо соединения включения, представляющие собой соединение включения алкил- β- или алкил- γ-циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли, в частности, представляющее собой соединение включения диметил- β- или диметил- γ-циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли.

Благодаря высокой растворимости и хорошей физиологической совместимости для получения этих соединений пригодны прежде всего соли щелочных или щелочноземельных металлов, предпочтительно соли натрия, калия, кальция или магния 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты. Магниевая соль 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты по сравнению с кальциевой солью при одинаковой чистоте обладает приблизительно на порядок большей растворимостью, а соли натрия и калия еще большей растворимостью. Эти вещества поэтому особенно предпочтительны при получении фармацевтических продуктов.

Предпочтительными соединениями являются:

соли щелочных и щелочноземельных металлов (6R)- и (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с β-циклодекстрином;

соли щелочных и щелочноземельных металлов (6R)- и (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с гидроксипропил -β- циклодекстрином;

соли щелочных и щелочноземельных металлов (6R)- и (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с гидроксипропил -γ- циклодекстрином;

соли щелочных и щелочноземельных металлов (6R)- и (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с γ-циклодекстрином;

соли щелочных и щелочноземельных металлов (6R)- и (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с диметил-β-циклодекстрином.

При этом соответственно природная (6R)-форма 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты является предпочтительной для получения соединения включения.

Другим предметом настоящего изобретения является способ получения соединений включения (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты или их солей, заключающийся в том, что получают стабильный водный раствор соединений включения в результате взаимодействия (6R)-, (6S)- или (6R, S)-тетрагидрофолиевой кислоты или ее соли с формальдегидом в присутствии α-, β- или γ-циклодекстрина или алкил- или гидроксиалкилпроизводного α-, β- или γ-циклодекстрина с последующим выделением из него соединений включения циклодекстрина 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты.

Соединения включения циклодекстрина предпочтительно получают из легко доступного (см. EP 0495204 A) сульфата (6S)-, (6R)- и (6RS)-тетрагидрофолиевой кислоты или соли сульфоновой кислоты in situ или после предварительного выделения, или выделения и очистки в результате взаимодействия с формальдегидом в присутствии соответствующего циклодекстрина. Для количественного превращения тетрагидрофолиевой кислоты при этом необходим лишь незначительный молярный избыток формальдегида, максимально 10-20%. Реакцию проводят при этом предпочтительно в интервале pH от 8 до 9. Соединение включения можно, однако, при этом получить также путем введения (6R)-, (6S)- или (6R, S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты в циклодекстриновый раствор или суспензию циклодекстрина, или путем растирания (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и циклодекстрина в твердой форме. Полученные продукты стабильны в растворе при комнатной температуре. Они пригодны как составные части парентеральных лекарственных форм или как исходный материал для получения оральных лекарственных форм. Как оральные, так и парентеральные лекарственные формы пригодны, например, для терапии рака, для лечения определенных форм анемии, аутоиммунных заболеваний и нервных расстройств.

Предметом настоящего изобретения являются также стабильные водные составы

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

соединений включения циклодекстринов, содержащие:

а) (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевую кислоту или соль (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты, и

б) α-, β- или γ-циклодекстрин или алкил- или гидроксиалкилпроизводные α-, β- или γ-циклодекстрина, или

в) смесь α-, β- или γ- циклодекстрина или смесь алкил- или гидроксиалкилпроизводных α-, β- или γ-циклодекстрина, или смесь α-, β- или γ-циклодекстрина с алкил- или гидроксиалкилпроизводным α-, β- или γ-циклодекстрина.

Предпочтительны составы, содержащие (6R)-5,10- метилентетрагидро-фолиевую кислоту или фармацевтически совместимую соль (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и β- или γ- циклодекстрин или фармацевтически совместимое алкил- или гидроксиалкилпроизводное β- или γ-циклодекстрина.

При этом в качестве фармацевтически совместимой соли 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты состав обычно содержит соль щелочного или щелочноземельного металла, предпочтительно соль натрия, магния или кальция и в качестве фармацевтически совместимого алкил- или гидроксиалкилпроизводного циклодекстрина предпочтительно гидроксипропил -β-, гидроксипропил -γ- или диметил -β-циклодекстрин.

Все указанные выше составы обладают терапевтической активностью.

Изобретение также относится к способу стабилизации водных растворов (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли путем добавления α-, β- или γ- циклодекстрина или алкил- или гидроксиалкилпроизводного α-, β- или γ-циклодекстрина,

а также к способу получения стабильных растворов (6R)-, (6S)- или (6R, S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли, заключающемуся во взаимодействии (6R)-, (6S)- или (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты или ее соли с формальдегидом в присутствии α-, β- или γ-циклодекстрина или алкил- или гидроксиалкилпроизводного α-, β- или γ-циклодекстрина.

Обычно осуществляют взаимодействие (6R)-, (6S)- или (6R,S)- тетрагидрофолиевой кислоты или ее соли с формальдегидом в присутствии α-, β- или γ- циклодекстрина или алкил- или гидроксиалкилпроизводного α-, β- или γ- циклодекстрина и полученное соединение включения превращают в соль.

Свободное соединение включения может быть получено превращением соответствующей соли.

Предпочтительными солевыми компонентами 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или тетрагидрофолиевой кислоты являются фармацевтически совместимые катионы, такие, как натрий, калий, магний, кальций или анионы, как сульфаты, сульфонаты или галогениды.

Предпочтительные циклодекстриновые соединения включения получают с циклодекстринами такими как β-, гидроксипропил -β-, диметил -β-, γ-гидроксипропил -γ- или диметил -γ-циклодекстрин. Циклодекстрины используют предпочтительно по меньшей мере в молярном отношении к 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоте, например, 1: 1 или 2:1. При этом использование высококонцентрированных растворов циклодекстрина является предпочтительным. Можно использовать также смеси различных циклодекстринов. В зависимости от цели применения может быть предпочтительной при этом определенная соль 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты, определенный циклодекстрин или определенное отношение 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты к циклодекстрину. Оптимальные условия могут быть определены простыми опытами.

Взаимодействие тетрагидрофолиевой кислоты с формальдегидом в присутствии циклодекстрина осуществляют предпочтительно в растворителе, состоящем из воды или смешиваемого с водой органического растворителя, как низшие алифатические карбоновые кислоты или низший спирт.

Так как тетрагидрофолиевая кислота чувствительна к окислению, рекомендуется применять защиту от окисления.

Выделение циклодекстринового соединения включения осуществляют с помощью известных методов, например, испарением растворителя при повышенной температуре в вакууме, кристаллизацией, лиофилизированием или осаждением путем добавления органического растворителя.

Получать циклодекстриновое соединение включения можно также растиранием 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и циклодекстрина в твердой форме.

Нижеприведенные примеры иллюстрируют изобретение.

Пример 1

Стабильность соединения включения циклодекстрина и 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и ее солей в растворе

а) Стабильность растворов солей натрия и кальция (6R)- и (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты при 23°С в фосфатном буферном растворе (см. табл.1 в конце описания).

б) Стабильность растворов натриевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты при 60°С (стрессовый тест) в фосфатном буферном растворе (см. табл.2 в конце описания).

в) Стабильность раствора кальциевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты при 60°С (стрессовый тест) в фосфатном буферном растворе (см. табл.3 в конце описания).

г) Стабильность раствора магниевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты при 60°С (стрессовый тест) в фосфатном буферном растворе (см. табл.4 в конце описания).

Указанные в таблицах значения соответствуют содержанию

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты в процентах начального значения (t=0).

Для определения стабильности использовали растворы 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с концентрацией около 4% при pH=7, полученные по примерам 3-20. Целью опытов было получение соответственно сравнимых значений, указанных в таблицах а)-г). При оптимальных выбранных условиях, которые легко могут быть определены простыми опытами путем изменения концентрации 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или циклодекстрина, или путем изменения концентраций обоих компонентов, или путем выбора соли 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты, или путем выбора растворителя, стабильность соединения включения явно выше.

Для получения веществ в нижеприведенных примерах были использованы циклодекстрины со следующим содержанием воды: α-циклодекстрин 11,5%, β- циклодекстрин 15,6%, диметил- β-циклодекстрин 12,7%, гидроксипропил-β- циклодекстрин 6,4% γ-циклодекстрин 9,8%, диметил- γ-циклодекстрин 9,2%, гидроксипропил-γ-циклодекстрин 6,0% (все значения определены с помощью термогравиметрии).

Пример 2

Изучение наличия химического взаимодействия соединений включения циклодекстрина и 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты по сравнению со смесью циклодекстрина и 5-формилтетрагидрофолиевой кислоты

В водных растворах было измерено изменение △ ppm) ^{13}C-сигнала 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ^{13}C-сигнала 5-формилтетрагидрофолиевой кислоты и ^{1}H-сигнала 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты при получении соединения включения с циклодекстрином при pH 9 (см. табл.5 в конце описания).

Из значений △ppm ^{13}C-спектров 5-формилтетрагидрофолиевой кислоты ясно видно, что циклодекстрин с этим веществом не взаимодействует. Напротив, значения △ppm ^{13}C-спектров и ^{1}H-спектров 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты указывают на сильное взаимодействие особенно в птеридиновой части молекулы.

Пример 3

Соединение включения β- циклодекстрина и (6R)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты

22,7 г β- циклодекстрина и 4,88 г (6S)-тетрагидрофолиевой кислоты суспендируют в атмосфере азота при комнатной температуре в 2000 мл воды. После этого по каплям добавляют 1,3 мл раствора формальдегида (36,2%). При легком нагревании суспензии приблизительно до 40 °C получают практически прозрачный раствор, который после энергичной фильтрации на роторном испарителе при 20 °C и 1 мбар испаряют досуха.

Получают 25,8 г соединения включения β- циклодекстрина и (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 13,3% (определено с помощью HPLC).

Пример 4

Соединение включения β- циклодекстрина и Na-соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

а) 22,7 г β- циклодекстрина суспендируют в 650 мл воды. При комнатной температуре в атмосфере азота добавляют 4,8 г (6S)-тетрагидрофолиевой кислоты. При этом поддерживают pH 7-9 (16,3 мл 1н. NaOH). После этого по каплям добавляют 0,93 мл раствора формалина (36,2%). Полученный раствор энергично фильтруют и после 20 минут последующей реакции при комнатной температуре при 20°C/1 мбар испаряют досуха.

Получают 26,3 г соединения включения β- циклодекстрина и натриевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 17,9% (определено с помощью HLPC).

б) Продукт, подобный описанному в примере 4а, получают в результате интенсивного растирания 10 г влажного β-циклодекстрина и 2,6 г натриевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты.

Стабильность твердого вещества: содержание (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты через 113 дней, -25°C - 100,0%, через 63 дня при +23°C - 98,2%.

Пример 5

Соединение включения β- циклодекстрина и кальциевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

5,78 г β- циклодекстрина и 320 мг гидроксида кальция суспендируют в 30 мл воды. В атмосфере азота добавляют по каплям 1,97 г (6S)-тетрагидрофолиевой кислоты. После этого добавляют 28 мл воды и 0,37 мл раствора формальдегида (36,2%). Полученный раствор быстро фильтруют и из фильтрата осаждают соединение включения добавлением 300 мл этанола при 0°C. Продукт промывают смесью этанол/вода, и при 20°C высушивают.

Получают 7,7 г соединения включения β-циклодекстрина и кальциевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 25,6% (определено с помощью HLPC).

Пример 6

Соединение включения β- циклодекстрина и калиевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

Соединение включения β- циклодекстрина и калиевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты получают по аналогии с описанным в примере 4.

Пример 7

Соединение включения β- циклодекстрина

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

и магниевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

Соединение включения β- циклодекстрина и магниевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты получают по аналогии с описанным в примере 5.

Пример 8

Соединения включения α- и β-циклодекстрина и кальциевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

10,85 г α- циклодекстрина, 12,9 л β-циклодекстрина и 744 мг гидроксида кальция суспендируют в 100 мл воды. В атмосфере азота добавляют 4,93 г (6S)-тетрагидрофолиевой кислоты, затем 31 мг гидроксида кальция и 0,92 мл раствора формалина (36,2%). По окончании реакции через 20 минут раствор быстро фильтруют и из фильтрата добавлением 750 мл этанола при 0°C выпадает соединение включения; его промывают смесью этанол/вода и при 20°C высушивают.

Получают 29,2 г соединения включения α-/β- циклодекстрина и (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 16,5% (определено с помощью HPLC).

Пример 9

Соединение включения β- циклодекстрина и натриевой соли (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

2,27 г β- циклодекстрина суспендируют в 100 мл воды. При комнатной температуре в атмосфере азота добавляют 608 мг (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты. При этом поддерживали значение pH 7-9 (2,7 мл 1н. NaOH). Полученный раствор быстро фильтровали и лиофилизировали.

Получают 2,75 г соединения включения β- циклодекстрина и натриевой соли (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 16,0% (определено с помощью HPLC).

Стабильность твердого вещества: содержание (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты - через 156 дней при -25°C 100,0%.

Пример 10

Соединение включения β-циклодекстрина и натриевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты из сульфата

22,7 г β- циклодекстрина суспендируют в 1130 мл воды. При комнатной температуре в атмосфере азота добавляют 5,4 г сульфата (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты. При этом поддерживают значение pH суспензии 7-9 (33 мл 1н. NaOH). Полученный раствор быстро фильтруют и лиофилизируют.

Получают 28,4 г соединения включения β- циклодекстрина и натриевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 15,3% (определено с помощью HPLC).

Стабильность твердого вещества: содержание натриевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты после 154 дней при -25°C 99,5%.

Пример 11

Соединение включения β- циклодекстрина и (6R)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты из раствора

2,27 г β- циклодекстрина растворяют в 150 мл воды при 25°C. В атмосфере азота добавляют 608 мг (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты (pH 3,7). Полученный раствор быстро фильтруют и лиофилизируют.

Получают 2,7 г соединения включения β-циклодекстрина и (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 15,5% (определено с помощью HPLC).

Стабильность твердого вещества: содержание (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты через 158 дней при -25°C 100,0%.

Пример 12

Соединение включения β- циклодекстрина и сульфата (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

В результате применения 540 мг сульфата (6R)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты по аналогии с примером 11 получают 2,65 г соединения включения β-циклодекстрина и сульфата (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 15,2% (определено с помощью HPLC).

Стабильность твердого вещества: содержание (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты через 157 дней при -25°C 99,0%.

Пример 13

Соединение включения β-циклодекстрина и бензолсульфоната (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

В результате применения 603 мг соли бензолсульфоновой кислоты (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты по аналогии с примером 11 получают 2,94 г соединения включения β-циклодекстрина и бензолсульфоната (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 13,1% (определено с помощью HPLC).

Стабильность твердого вещества: содержание бензолсульфоната (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты через 72 дня при -25°C 100,0%.

Пример 14

Соединение включения кальциевой соли β- циклодекстрина и (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

В результате применения 610 мг кальциевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты по аналогии с примером 11 получают 2,65 г соединения включения β- циклодекстрина и

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

кальциевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 15,6% (определено с помощью HPLC).

Пример 15

Соединение включения β- циклодекстрина и магниевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

В результате применения 600 мг магниевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты по аналогии с примером 11 получают 2,69 г соединения включения β- циклодекстрина и магниевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 13,1% (определено с помощью HPLC).

Стабильность твердого вещества: стабильность соли магния (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты через 155 дней при -25°C 99,5%.

Пример 16

Соединения включения диметил- β-циклодекстрина и натриевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

26,2 г диметил-β-циклодекстрина растворяют в 100 мл воды. При комнатной температуре в атмосфере азота добавляют 5,6 г сульфата (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты. При этом поддерживают pH раствора 7-9 (37 мл 1н. NaOH). Полученный раствор быстро фильтруют и лиофилизируют.

Получают 32,6 г соединения включения диметил-β-циклодекстрина натриевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 14,3% (определено с помощью HPLC).

Стабильность твердого вещества: содержание натриевой соли (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты через 76 дней при -25°C 100%, через 56 дней при -25°C 97,5%.

Пример 17

Соединение включения диметил - β-циклодекстрина и соли серной кислоты (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

2,62 г диметил-β-циклодекстрина растворяют в 10 мл воды. При комнатной температуре в атмосфере азота добавляют 560 мг сульфата (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и непосредственно после этого добавляют 140 мл воды. Полученный раствор быстро фильтруют и лиофилизируют.

Получают 3,29 г соединения включения диметил-β-циклодекстрина и сернокислой соли (6R)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты с содержанием (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты 13,6% (определено с помощью HPLC).

Пример 18.

Соединения включения гидроксипропил - β- циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

В результате применения гидроксипропил -β- циклодекстрина по аналогии с примерами 3 -17 получают соединения включения гидроксипропил -β- циклодекстрина (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и их солей.

Пример 19

Соединения включения гидроксипропил - γ- циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

В результате применения гидроксипропил -γ- циклодекстрина по аналогии с примерами 3-17 получают соединения включения гидроксипропил -γ- циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10- метилентетрагидрофолиевой кислоты или их солей.

Пример 20

Соединения включения диметил - γ-циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты

В результате применения диметил - γ-циклодекстрина по аналогии с примерами 3-17 получают соединения включения диметил -γ- циклодекстрина (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или их солей.

Формула изобретения:

1. Стабильные водные составы соединений включения циклодекстринов, содержащие

а) (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевую кислоту или соль (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты,

б) α-,β- или γ-циклодекстрин или алкил- или гидроксиалкилпроизводные α-,β- или γ-циклодекстрина, или

в) смесь α-,β- или γ-циклодекстрина или смесь алкил- или гидроксиалкилпроизводных α-,β- или γ-циклодекстрина, или смесь α-,β- или γ-циклодекстрина с алкил- или гидроксиалкилпроизводным α-,β- или γ-циклодекстрина.

2. Составы по п. 1, отличающиеся тем, что содержат (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевую кислоту или фармацевтически совместимую соль (6R)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты и β- или γ-циклодекстрин или фармацевтически совместимое алкил- или гидроксиалкилпроизводное β- или γ-циклодекстрина.

3. Составы по п.1 или 2, отличающиеся тем, что в качестве фармацевтически совместимой соли 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты содержат соль щелочного или щелочноземельного металла, предпочтительно соль натрия, магния или кальция и в качестве фармацевтически совместимого алкил- или гидроксиалкилпроизводного циклодекстрина предпочтительно гидроксипропил -β-, гидроксипропил -γ- или диметил- β-циклодекстрин.

4. Составы по пп.1 - 3, отличающиеся тем, что обладают терапевтической активностью.

5. Соединения включения α-,β- или γ-циклодекстрина или его алкил- или гидроксиалкилпроизводных и (6R) или

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

(6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли, при их молярном соотношении 1 : 1 - 1 : 2.

6. Соединения включения по п.5, представляющие собой соединения включения гидроксиалкил- β- или гидроксиалкил-γ- циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли.

7. Соединения включения по п.6, представляющие собой соединения включения гидроксипропил- β- или гидроксипропил-γ-циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли.

8. Соединения включения по п.5, представляющие собой соединения включения алкил- β- или алкил- γ-циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли.

9. Соединение включения по п.8, представляющее собой соединение включения диметил- β- или диметил- γ-циклодекстрина и (6R)- или (6S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли.

10. Способ стабилизации водных растворов (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли путем добавления α-,β- или γ- циклодекстрина или алкил- или гидроксиалкилпроизводного α-,β- или γ-циклодекстрина.

11. Способ получения стабильных растворов (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или ее соли, заключающийся во взаимодействии (6R)-, (6S)- или (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты или ее соли с формальдегидом в присутствии α-,β- или γ-циклодекстрина или алкил- или гидроксиалкилпроизводного α-,β- или γ-циклодекстрина.

12. Способ получения по п.11, отличающийся тем, что осуществляют взаимодействие (6R)-, (6S)- или (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты или ее соли с формальдегидом в присутствии α-,β- или γ-циклодекстрина или алкил- или гидроксиалкилпроизводного α-,β- или γ-циклодекстрина и полученное соединение включения превращают в соль.

13. Способ получения соединений включения (6R)-, (6S)- или (6R,S)-5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты или их солей, заключающийся в том, что получают стабильный водный раствор соединений включения в результате взаимодействия (6R)-, (6S)- или (6R,S)-тетрагидрофолиевой кислоты или ее соли с формальдегидом в присутствии α-,β- или γ-циклодекстрина или алкил- или гидроксиалкилпроизводного α-,β- или γ-циклодекстрина с последующим выделением из него соединений включения циклодекстрина 5,10-метилентетрагидрофолиевой кислоты.

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

Таблица 1

	Недели					
	1	2	4	5	7	14
Na-соль (6R)-CH_2-тетрагидрофолиевой кислоты без циклодекстрина в атмосфере азота	91,1	64,4	30,5	18,1	16,7	-
Na-соль (6R)-CH_2-тетрагидрофолиевой кислоты, β-циклодекстрин	-	92,3	-	-	-	88,5
Na-соль (6S)-CH_2-тетрагидрофолиевой кислоты, β-циклодекстрин	100,0	84,8	-	75,0	-	-
Na-соль (6R)-CH_2-тетрагидрофолиевой кислоты, α- + β-циклодекстрин (1:1:1)	100,0	95,8	94,3	83,2	78,5	73,0
Ca-соль (6R)-CH_2-тетрагидрофолиевой кислоты, α- + β-циклодекстрин (1:1:1)	-	80,2	57,3	50,2	47,4	44,0

Таблица 2

	Часы					
	3	6	18	24	30	48
без циклодекстрина	77,7	34,4	2,8	-	0,8	-
α-цикло-декстрин	-	84,1	-	-	-	12,6

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

Продолжение таблицы 2

	Часы					
	3	6	18	24	30	48
β-цикло-декстрин	91,2	-	-	75,2	-	-
диметил-β-циклодекстрин	88,9	-	-	31,5	-	-
гидроксипропил-β-цикло-декстрин	90,4	-	-	70,5	-	-
γ-цикло-декстрин	95,4	-	-	63,5	-	-
гидроксипропил-γ-цикло-декстрин	97,4	-	-	73,7	-	-

Таблица 3

	Часы					
	3	6	18	24	30	48
без цикло-декстрина	74,4	53,8	-	7,7	2,6	0,1
α-цикло-декстрин	74,5	56,4	-	7,8	3,8	0,8
гидроксипропил-α-цикло-декстрин (0,6)	75,3	57,1	-	7,8	2,7	0,7
β-цикло-декстрин	87,7	77,8	-	42,0	33,3	14,8
диметил-β-циклодекстрин (1,8)	80,2	69,1	-	29,6	22,2	7,4

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

Продолжение таблицы 3

	Часы					
	3	6	18	24	30	48
гидроксипропил-β-цикло-декстрин (0,6)	83,8	71,2	-	28,8	22,5	6,2
гидроксипропил-β-цикло-декстрин (0,9)	83,5	69,6	-	29,1	21,5	7,6
γ-цикло-декстрин	81,2	66,2	-	16,2	8,8	1,2
гидроксипропил-γ-цикло-декстрин (0,6)	95,1	81,4	-	13,6	6,8	1,0

Таблица 4

	Часы				
	3	6	18	24	30
без декстрина	72,7	53,4	-	7,6	2,4
α-декстрин	76,5	58,8	-	12,9	4,9
гидроксипропил-α-циклодекстрин (0,6)	80,2	67,4	-	14,0	6,3
β-циклодекстрин	79,1	61,6	-	26,7	17,4
диметил-β-циклодек-стрин (1,8)	73,6	56,3	-	19,5	11,5
гидроксипропил-β-циклодекстрин (0,9)	83,3	64,3	-	25,0	14,3
гидроксипропил-β-циклодекстрин (0,9)	82,6	65,1	-	24,4	12,8
γ-циклодекстрин	82,1	64,3	-	20,2	10,8

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1

Продолжение таблицы 4

	Часы				
	3	6	18	24	30
гидроксипропил-γ-циклодекстрин (0,6)	81,2	64,7	-	17,6	8,9

Таблица 5

^{13}C-спектры	Δ ppm
5,10-метилентетрагидрофолиевая кислота	C-7 +0,532 C-9 +0,908 C-11 +1,301
^{13}C-спектры	Δ ppm
5-формилтетрагидрофолиевая кислота	C-7 +0,013 C-9 +0,013 C-11 -0,007
^{1}H-спектры	Δ ppm
5,10-метилентетрагидрофолиевая кислоты	$H_2$7 +0,20 H-3'/H-5' -0,15 H-2'/H-6' +0,07 H_2-γ-Glu -0,08

RU 2135519 C1

RU 2135519 C1