

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 430 113**

51 Int. Cl.:

C07D 475/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2008 E 11003589 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2013 EP 2354142**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de sal de calcio amorfa estable del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico**

30 Prioridad:

30.05.2007 CH 8562007

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

19.11.2013

73 Titular/es:

**CERBIOS-PHARMA S.A. (100.0%)
Via Pian Scairolo 6
CH-6917 Barbengo, CH**

72 Inventor/es:

**MANZOTTI, RAFFAELLA y
MOROSOLI, MORENO**

74 Agente/Representante:

ROEB DÍAZ-ÁLVAREZ, María

ES 2 430 113 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

Procedimiento para la preparación de sal de calcio amorfa estable del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico.

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de sal de calcio amorfa estable del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico.

5 En la presente invención se usa a veces la abreviatura THF para el ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico.

En la introducción de la descripción del documento EP 0 455 013 A1 se encuentra un breve resumen de la importancia farmacológica del ácido N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico - abreviado en la presente memoria en parte con N(5)-metil-THF - y sus derivados. En el mismo documento se señala también la importancia de los diastereoisómeros individuales (6S) y (6R) del N(5)-metil-THF. Igualmente se describe el estado de la técnica
10 relativo a la preparación de los diastereoisómeros (6S) y (6R) puros del N(5)-metil-THF.

En el documento EP 1 044 975 A1 se describen sales cristalinas estables del N(5)-metil-THF. Asimismo también se describen sales de calcio cristalinas del (6S)-N(5)-metil-THF, presentando estas sales valores de 2-theta claramente definidos en el correspondiente diagrama de difracción de rayos X de polvo.

En el procedimiento de preparación de estas sales se usan como materiales de partida o bien la mezcla de
15 diastereoisómeros (6RS) o bien los diastereoisómeros (6S) o (6R) ya separados. Este procedimiento incluye un tratamiento térmico a más de 60 °C, preferentemente a más de 85 °C, mencionándose en los ejemplos de realización temperaturas de 90 °C a 100 °C.

Obviamente, un tratamiento térmico de este tipo es poco apropiado para una preparación industrial de estas sales.

En el documento EP 1 044 975 A1 no se indica cómo se han obtenido los diastereoisómeros individuales (6S) o (6R)
20 del N(5)-metil-THF.

Es un objetivo de la presente invención poner a disposición un procedimiento industrialmente aplicable para la preparación de una sal de calcio estable del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula V.

El producto que puede obtenerse con este procedimiento tendrá una pureza diastereoisomérica de al menos el 99 %.

25 Este procedimiento será sencillo y especialmente no contendrá tratamiento térmico.

Con la presente invención se alcanzan estos objetivos.

El procedimiento según la invención para la preparación de una disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula III metilando ácido (6S)-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula II con una proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente en el intervalo del 4 % en peso al 8 % en peso en agua se
30 caracteriza porque

- a la mezcla de reacción metilada obtenida se añaden de 0,70 a 0,82 equivalentes, referidos a la cantidad utilizada de THF, de cloruro de calcio,

- la sal de calcio del ácido (6RS)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristaliza en la disolución acuosa obtenida y se separa, y

35 - la disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula III se obtiene con una proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente del ≤ 2 % en peso.

Otra variante del procedimiento según la invención para la preparación de la sal de calcio amorfa estable del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula V se caracteriza porque

40 - se suspende en agua ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino de fórmula IV, teniendo el agua una temperatura de 35 °C a 41 °C,

preparándose el ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino de fórmula IV mediante un procedimiento en el que

45 -- a una disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula III con una proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente del ≤ 2 % en peso se añade o bien ácido acético o bien un ácido sulfónico en tal cantidad que se obtenga un valor de pH de 5,5,

-- la disolución así obtenida se calienta a una temperatura en el intervalo de 44 °C a 46 °C,

-- a esta disolución calentada se añade o bien ácido acético o bien un ácido sulfónico en tal cantidad que se obtenga

un valor de pH en el intervalo de 4,3 a 4,4, comenzando la cristalización del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula IV y manteniéndose el valor de pH durante esta cristalización en el intervalo de 4,3 a 4,4 mediante la adición continua de o bien ácido acético o bien un ácido sulfónico, y

-- el sólido cristalino así obtenido se filtra y aísla a una temperatura en el intervalo de 44 °C a 46 °C,

5 - a esta suspensión se añade en porciones una disolución de NaOH en tal cantidad que se obtenga un valor de pH en el intervalo de 6,7 a 6,9,

- a la disolución así preparada se añaden 0,90 equivalentes de cloruro de calcio, referidos a la cantidad utilizada de compuesto de fórmula IV,

10 - en la disolución así preparada, la concentración de compuesto de fórmula IV se ajusta a un valor en el intervalo del 14 % en peso al 16 % en peso bien mediante la adición o bien mediante la eliminación de agua,

- se inicia la precipitación de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula V mediante la adición de una pequeña cantidad de compuesto previamente preparado de fórmula V,

- la mezcla así preparada se mantiene durante 1 hora a una temperatura de 40 °C,

- después se reduce en el plazo de 2 horas la temperatura de 40 °C a una temperatura de 23 °C,

15 - se mantiene la temperatura mencionada de 23 °C durante 16 a 18 horas, y

- se aísla el sólido obtenido.

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

En la parte que sigue se describen formas de realización posibles de la presente invención.

En ellas también se hace referencia a las figuras.

20 La Figura 1 muestra un esquema de reacción que comienza con el compuesto de fórmula I y termina con el compuesto de fórmula V.

La Figura 2a muestra el perfil de la "calorimetría diferencial de barrido", DSC, del compuesto de fórmula IV. En la abscisa se representa la temperatura en °C y en la ordenada se representa el flujo de calor endotérmico en mW.

25 La Figura 2b muestra el perfil termogravimétrico, TGA, del compuesto de fórmula IV. En la abscisa se representa la temperatura en °C. En la ordenada izquierda se representan porcentajes en peso y en la ordenada derecha la derivada de estos porcentajes en peso frente al tiempo t (minutos). La línea continua se refiere a la ordenada izquierda y la línea discontinua se refiere a la ordenada derecha.

La Figura 3a muestra el diagrama de difracción de rayos X de polvo del compuesto de fórmula IV. En la abscisa se representan los valores de 2-theta y en la ordenada se representa la intensidad (cuentas).

30 La Figura 3b muestra los valores de 2-theta con un error de aproximadamente $\pm 0,2$ grados del diagrama de difracción de rayos X de polvo mostrado en la Figura 3a.

La Figura 4a muestra el perfil de la "calorimetría diferencial de barrido", DSC, del compuesto de fórmula V. En la abscisa se representa la temperatura en °C y en la ordenada se representa el flujo de calor endotérmico en mW.

35 La Figura 4b muestra el perfil termogravimétrico, TGA, del compuesto de fórmula V. En la abscisa se representa la temperatura en °C. En la ordenada izquierda se representan porcentajes en peso y en la ordenada derecha la derivada de estos porcentajes en peso frente al tiempo t (minutos). La línea continua se refiere a la ordenada izquierda y la línea discontinua se refiere a la ordenada derecha.

La Figura 5 muestra el diagrama de difracción de rayos X de polvo del compuesto de fórmula V. En la abscisa se representan los valores de 2-theta y en la ordenada se representa la intensidad (cuentas).

40 La Figura 6 muestra el espectro de Raman del compuesto de fórmula V. En la abscisa se representan los números de onda en cm^{-1} y en la ordenada se representa la intensidad Raman.

Se preparó ácido (6S)-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula II con una proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente en el intervalo del 4 % en peso al 8 % en peso según el documento EP 0 600 460.

45 Resultó sorprendente que se pudiera obtener una disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula III con un elevado contenido del isómero (6S), y concretamente por cristalización selectiva de la mezcla 1:1 de las sales diastereoisoméricas en la disolución.

De forma rutinaria se pudo aislar una disolución que tenía un contenido del isómero (6S) de al menos el 98 %.

También fue muy sorprendente que se obtuviera el ácido libre cristalino estable correspondiente de fórmula IV a partir de la disolución antes descrita: durante esta etapa se logró además aumentar adicionalmente la pureza diastereoisomérica a al menos el 99 %.

- 5 El ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino estable de fórmula IV se puede aislar con una pureza diastereoisomérica tal que este ácido pueda usarse como al menos un componente activo en un complemento alimenticio o en un medicamento.

A partir del ácido de fórmula IV se prepara la sal de calcio amorfa sorprendentemente estable de fórmula V.

- 10 A partir del diagrama de difracción de rayos X de polvo del compuesto de fórmula V - véase la Figura 5 - se deduce que este compuesto es prácticamente amorfo.

La presente invención se ilustra mediante los ejemplos siguientes.

Ejemplo 1 (preparación de la disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula III)

- 15 Se suspendieron bajo una atmósfera de nitrógeno 100 g de ácido (6S)-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula II con una pureza diastereoisomérica de (6S):(6R) de 92:8 - preparado según el documento EP 0 600 460 - en agua que tenía una temperatura de 7 °C.

El compuesto de fórmula II se disolvió mediante la adición de 65 ml de disolución acuosa de NaOH al 20 % (p/p). El pH ascendió a 9,05.

- 20 A esta disolución se añadieron bajo agitación 23,7 g de disolución acuosa de formaldehído al 36 % (p/p) en un plazo de 5 minutos a una temperatura de 8 °C.

Después de 15 minutos se añadió bajo agitación una disolución acuosa de NaBH₄, preparada por disolución de 21,3 g de NaBH₄ en 50 ml de agua y 1 ml de disolución acuosa de NaOH al 20 % (p/p), durante 1 hora a una temperatura de 8 °C.

- 25 Esta mezcla se agitó durante 30 minutos a una temperatura de 8 °C y a continuación durante 20 minutos a una temperatura de 61 °C.

La temperatura de reacción se redujo después a 20 °C en un plazo de 2 horas.

A continuación se añadieron gota a gota 79 ml de disolución acuosa de HCl al 18 % (p/p). El pH ascendió después a 8,03.

- 30 La mezcla se enfrió a una temperatura de 4 °C para permitir la precipitación de boratos. Después de 2 horas se eliminaron los boratos por filtración.

El pH de la disolución resultante se ajustó a un valor de 7,03 mediante la adición de 10 ml de disolución acuosa de HCl al 18 % (p/p).

Esta disolución se calentó a una temperatura de 20 °C, y después se añadieron primero 1,62 g de EDTA disódico y después 0,82 equivalentes (25,44 g) de CaCl₂·2H₂O.

- 35 Después se ajustó el valor de pH a un valor de 6,9 mediante la adición de 2 ml de disolución acuosa de NaOH al 20 % (p/p).

- 40 La cristalización selectiva de la sal de calcio del ácido (6RS)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico se llevó a cabo inoculando la disolución con 100 mg de cristales previamente preparados de la sal de calcio del ácido (6RS)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico, seguido de una reducción de la temperatura de temperatura ambiente a una temperatura de 4 °C en un plazo de 40 minutos.

La suspensión resultante se mantuvo durante 18 horas bajo agitación a una temperatura de 4 °C.

Los cristales obtenidos se separaron por filtración.

- 45 La disolución acuosa así obtenida de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula III tuvo una proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente del ≤ 2 % en peso, determinada mediante HPLC en una columna quiral.

Ejemplo 2 (preparación de ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino de fórmula IV)

A la disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula III con una

proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente del ≤ 2 % en peso, preparada según el Ejemplo 1 anterior, se añadieron en un plazo de 20 minutos 6 ml de ácido acético al 100 % hasta obtener un valor de pH de 5,5.

Después se aumentó la temperatura a 45 °C.

A esta temperatura se añadieron sucesivamente 1,35 g de ditionito sódico y 1,9 g de EDTA disódico.

- 5 A esta disolución se añadieron 25 ml de ácido acético al 100 % en un plazo de 15 minutos.

A un valor de pH de 4,5 comenzó la cristalización del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula IV.

El valor de pH se mantuvo en el intervalo de 4,3 a 4,4 mediante la adición continua de ácido acético al 100 % (10 ml).

Esta suspensión se agitó durante 30 minutos y a continuación se separó por filtración.

- 10 El sólido cristalino así obtenido se lavó con agua que tenía una temperatura de 40 °C.

Se obtuvieron 106,9 g de sólido cristalino húmedo.

Para determinar la pureza y la relación de los diastereoisómeros se lavó una muestra del compuesto de fórmula IV con etanol acuoso al 94 % (v/v) y después se secó a presión reducida. A este respecto se obtuvieron los resultados siguientes:

- 15 Pureza por HPLC: 96,45 %

Relación (6S)/(6R) = 99,1:0,9 (determinada mediante HPLC quiral).

El producto de fórmula IV así obtenido tuvo los siguientes datos de estabilidad (almacenado a una temperatura de 4 °C):

Tiempo (meses)	Pureza por HPLC (%)
0	96,45
6	96,66

20

Ejemplo 3 (preparación de la sal de calcio amorfa del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula V)

Se suspendieron 106,9 g del sólido cristalino húmedo, preparado según el Ejemplo 2 anterior, en 400 ml de agua que tenía una temperatura de 40 °C.

- 25 A esta suspensión se añadieron lentamente 65 ml de una disolución acuosa de NaOH al 20 % (p/p) hasta que se obtuvo una disolución transparente con un valor de pH de 6,8.

A esta disolución se añadieron 0,90 equivalentes de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (22,7 g, referidos a la cantidad de compuesto seco aislado de fórmula IV).

La determinación por HPLC del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico dio una concentración en disolución de $c = 14,7$ % en p/p.

- 30 El valor de pH se ajustó a un valor de 6,9 mediante la adición de 1 ml de disolución acuosa de NaOH al 20 % (p/p).

La precipitación de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula V se inició mediante la adición de 100 mg del compuesto previamente preparado de fórmula V.

La mezcla así preparada se mantuvo a una temperatura de 40 °C durante 1 hora.

- 35 Después se redujo la temperatura de 40 °C a una temperatura de 23 °C en el plazo de 2 horas, y la temperatura de 23 °C se mantuvo durante 18 horas.

Si la concentración de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico de fórmula V en el agua de cristalización fue inferior al 7,5 %, la suspensión se separó por filtración.

El sólido obtenido se lavó con 50 ml de agua, que tenía una temperatura de 10 °C.

El compuesto húmedo de fórmula V se suspendió a una temperatura de 22 °C en 250 ml con etanol acuoso al 94 %

ES 2 430 113 T3

(v/v) y se agitó durante 30 minutos.

Esta suspensión se separó luego por filtración y se lavó dos veces con 50 ml de etanol acuoso al 94 % (v/v).

Se obtuvieron 95 g de sólido húmedo que se secó bajo presión reducida. Se obtuvieron 47,4 g del compuesto de fórmula V.

5 A este respecto se obtuvieron los siguientes datos analíticos:

Pureza por HPLC: 98,75 %

Relación (6S)/(6R) = 99,75 : 0,25 (determinada mediante HPLC quiral).

El producto de fórmula V así obtenido tuvo los siguientes datos de estabilidad (almacenado a una temperatura de 25 °C a vacío [2 mbar]):

10

Tiempo (meses)	Ensayo de HPLC (%)	Pureza por HPLC (%)
0	99,0	98,7
1	98,8	98,7
2	99,8	98,9
3	100,2	98,8
6	99,9	98,5
9	100,7	98,9

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de una disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico metilando ácido (6S)-5,6,7,8-tetrahidrofólico con una proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente en el intervalo del 4 % en peso al 8 % en peso en agua, caracterizado porque
- 5 - a la mezcla de reacción metilada obtenida se añaden de 0,70 a 0,82 equivalentes, referidos a la cantidad utilizada de THF, de cloruro de calcio,
- la sal de calcio del ácido (6RS)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristaliza de forma selectiva en la disolución acuosa obtenida y se separa, y
- la disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico se obtiene con una
- 10 proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente del ≤ 2 % en peso.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el cloruro de calcio se añade en forma sólida o en forma de una disolución acuosa.
3. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizado porque la cristalización selectiva de la sal de calcio del ácido (6RS)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico se lleva a cabo inoculando con cristales
- 15 previamente preparados de la sal de calcio del ácido (6RS)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico, seguido de una reducción de la temperatura de temperatura ambiente a una temperatura en el intervalo de 3 °C a 5 °C, y porque esta temperatura se mantiene durante 16 a 18 horas.
4. Procedimiento para la preparación de la sal de calcio amorfa del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico, caracterizado porque
- 20 - se suspende en agua ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino, teniendo el agua una temperatura de 35 °C a 41 °C,
- preparándose el ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino mediante un procedimiento en el que
- a una disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico con una proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente del ≤ 2 % en peso se añade o bien ácido acético o bien un ácido sulfónico en
- 25 tal cantidad que se obtenga un valor de pH de 5,5,
- la disolución así obtenida se calienta a una temperatura en el intervalo de 44 °C a 46 °C,
- a esta disolución calentada se añade o bien ácido acético o bien un ácido sulfónico en tal cantidad que se obtenga un valor de pH en el intervalo de 4,3 a 4,4, comenzando la cristalización del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico, manteniéndose el valor de pH durante esta cristalización en el intervalo de 4,3 a 4,4 mediante la
- 30 adición continua de o bien ácido acético o bien un ácido sulfónico, y
- el sólido cristalino así obtenido se filtra y aísla a una temperatura en el intervalo de 44 °C a 46 °C,
- a esta suspensión se añade en porciones una disolución de NaOH en tal cantidad que se obtenga un valor de pH en el intervalo de 6,7 a 6,9,
- a la disolución así preparada se añaden 0,90 equivalentes de cloruro de calcio, referidos a la cantidad utilizada de
- 35 ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino,
- en la disolución así preparada, la concentración de ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino se ajusta a un valor en el intervalo del 14 % en peso al 16 % en peso bien mediante la adición o bien mediante la eliminación de agua,
- se inicia la precipitación de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico mediante la adición de
- 40 un pequeña cantidad de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico previamente preparada,
- la mezcla así preparada se mantiene durante 1 hora a una temperatura de 40 °C,
- después se reduce en el plazo de 2 horas la temperatura de 40 °C a una temperatura de 23 °C,
- se mantiene la temperatura mencionada de 23 °C durante 16 a 18 horas, y
- se aísla el sólido obtenido.
- 45 5. Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque el sólido cristalino obtenido se lava con agua que tiene una temperatura de 40 °C.
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 4 a 5, caracterizado porque el ácido sulfónico es

ácido p-toluenosulfónico.

7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, caracterizado porque la disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico con una proporción del diastereoisómero (6R) correspondiente del $\leq 2\%$ en peso se prepara según el procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3.
- 5 8. Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque el sólido obtenido se lava con agua que tiene una temperatura de 10 °C, el sólido lavado se suspende a temperatura ambiente en etanol acuoso al 94 % y a continuación el sólido así tratado se aísla mediante filtración.
9. Procedimiento según una de las reivindicaciones 4 u 8, caracterizado porque el cloruro de calcio se añade en forma sólida o en forma de una disolución acuosa.
- 10 10. Sal de calcio amorfa del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico obtenible porque
- se suspende en agua ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino, teniendo el agua una temperatura de 35 °C a 41 °C,
 - preparándose el ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino según un procedimiento en el que
 - a una disolución acuosa de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico con una proporción del
 - 15 diastereoisómero (6R) correspondiente del $\leq 2\%$ en peso se añade o bien ácido acético o bien un ácido sulfónico en tal cantidad que se obtenga un valor de pH de 5,5,
 - la disolución así obtenida se calienta a una temperatura en el intervalo de 44 °C a 46 °C,
 - a esta disolución calentada se añade o bien ácido acético o bien un ácido sulfónico en tal cantidad que se obtenga un valor de pH en el intervalo de 4,3 a 4,4, comenzando la cristalización del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-
 - 20 tetrahidrofólico, manteniéndose el valor de pH durante esta cristalización en el intervalo de 4,3 a 4,4 mediante la adición continua de o bien ácido acético o bien un ácido sulfónico, y
 - el sólido cristalino así obtenido se filtra y aísla a una temperatura en el intervalo de 44 °C a 46 °C,
 - a esta suspensión se añade en porciones una disolución de NaOH en tal cantidad que se obtenga un valor de pH en el intervalo de 6,7 a 6,9,
 - 25 - a la disolución así preparada se añaden 0,90 equivalentes de cloruro de calcio, referidos a la cantidad utilizada de ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino,
 - en la disolución así preparada, la concentración de ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico cristalino se ajusta a un valor en el intervalo del 14 % en peso al 16 % en peso bien mediante la adición o bien mediante la eliminación de agua,
 - 30 - se inicia la precipitación de la sal de calcio del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico mediante la adición de un pequeña cantidad de la sal de calcio del (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico previamente preparada,
 - la mezcla así preparada se mantiene durante 1 hora a una temperatura de 40 °C,
 - después se reduce en el plazo de 2 horas la temperatura de 40 °C a una temperatura de 23 °C,
 - se mantiene la temperatura mencionada de 23 °C durante 16 a 18 horas, y
 - 35 - se aísla el sólido obtenido.
11. Sal de calcio amorfa del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico según la reivindicación 10, obtenible porque el procedimiento se realiza según una de las reivindicaciones 8 a 9.
12. Sal de calcio amorfa del ácido (6S)-N(5)-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico según una de las reivindicaciones 10 a 11, caracterizada porque tiene
- 40 - el perfil de "calorimetría diferencial de barrido", DSC, mostrado en la Figura 4a,
- el perfil termogravimétrico, TGA, mostrado en la Figura 4b,
 - el diagrama de difracción de rayos X de polvo mostrado en la Figura 5, y
 - el espectro de Raman mostrado en la Figura 6.

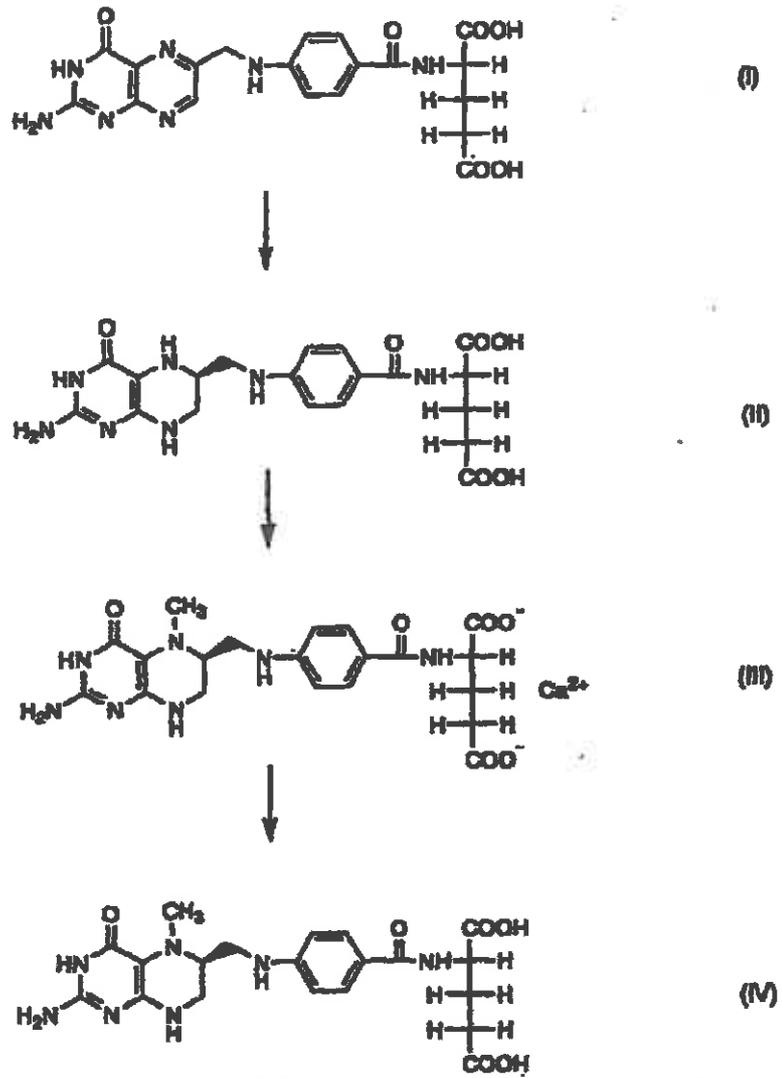


Fig.1

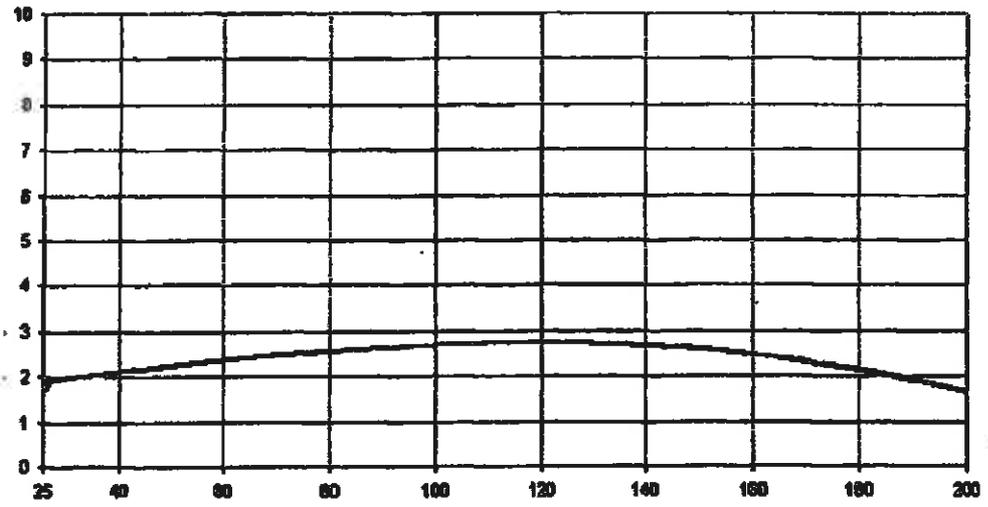


Fig. 2a

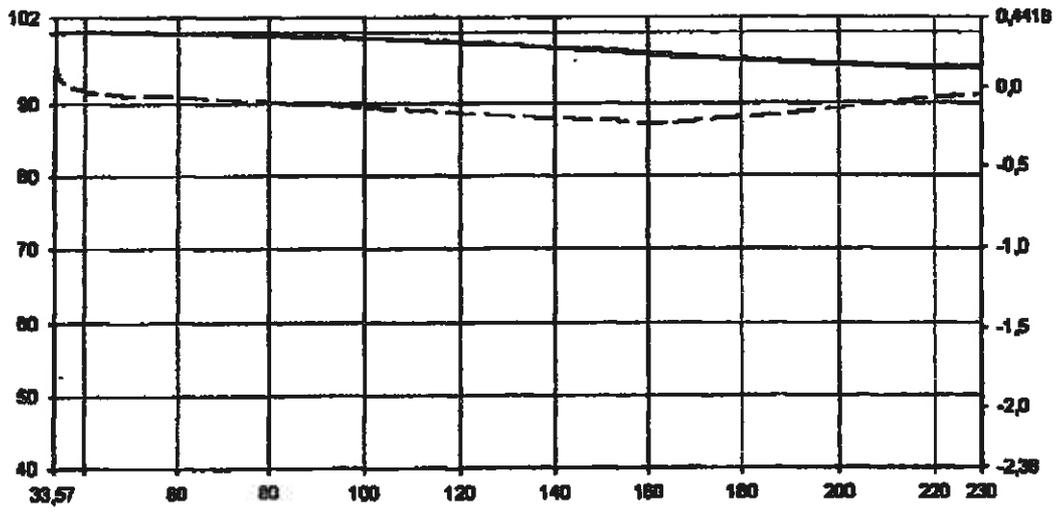


Fig. 2b

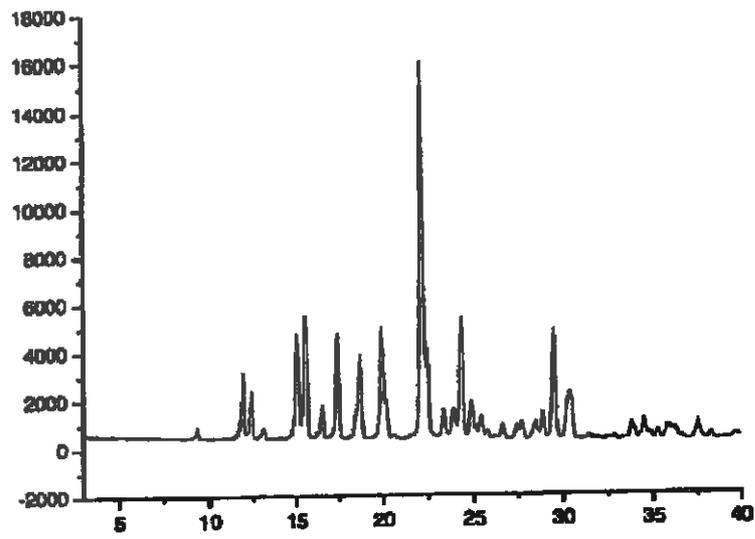


Fig.3a

Pos. [°2theta]	Altura [cuentas]	Ancho total a media altura [°2theta]	Espaciado d [Å]	Intensidad relativa [%]
9,3431	359,62	0,0836	9,46587	2,73
11,8681	2647,01	0,1171	7,45705	20,13
12,3773	1821,97	0,1171	7,15137	13,85
13,0412	401,95	0,1171	6,78879	3,06
15,0256	3901,81	0,1673	5,89638	29,87
15,5983	4007,87	0,1506	5,68114	30,47
16,2341	654,91	0,0669	5,46005	4,98
16,5335	1150,34	0,1338	5,36185	8,75
17,4160	4331,05	0,1506	5,09210	32,93
18,4448	951,34	0,1171	4,81033	7,23
18,7080	3064,94	0,1506	4,74324	23,30
19,9280	4004,29	0,1506	4,45553	30,45
20,1856	1379,90	0,1004	4,39924	10,49
20,5606	181,70	0,1004	4,31984	1,38
22,1784	13152,35	0,1673	4,00862	100,00
22,4365	3415,42	0,1004	3,98273	25,97
23,3256	1040,66	0,1171	3,81365	7,91
23,8520	1007,47	0,1224	3,72759	7,66
23,9477	901,13	0,0816	3,72213	6,85
24,3286	4533,85	0,2040	3,65564	34,47
24,8526	1398,77	0,1632	3,57973	10,64
25,0754	450,57	0,1020	3,54842	3,43
25,3878	821,59	0,2244	3,50547	6,26
25,7370	319,21	0,1224	3,45869	2,43
26,6345	568,65	0,1632	3,34414	4,32
27,4247	511,56	0,0816	3,24956	3,89
27,6855	634,16	0,1224	3,21839	4,82
28,4575	553,70	0,2040	3,13392	4,21
28,8157	980,98	0,1636	3,09577	7,46
29,4988	3680,74	0,2448	3,02583	27,99
30,1602	898,39	0,1224	2,96076	6,83
30,4262	1440,45	0,1632	2,93548	10,95
31,3576	124,72	0,1632	2,85038	0,95
32,8840	117,00	0,1632	2,72147	0,89
33,7872	501,16	0,1632	2,65078	3,81
34,5202	607,26	0,1428	2,59614	4,82
34,8769	250,91	0,1224	2,57039	1,91
35,2871	275,14	0,1632	2,54145	2,09
35,8915	432,75	0,3672	2,50003	3,29
36,2611	305,22	0,2040	2,47539	2,32
36,5806	123,96	0,1224	2,45449	0,94
37,5778	586,47	0,2448	2,39162	4,46
38,2761	209,70	0,1428	2,34958	1,59

Fig 3b

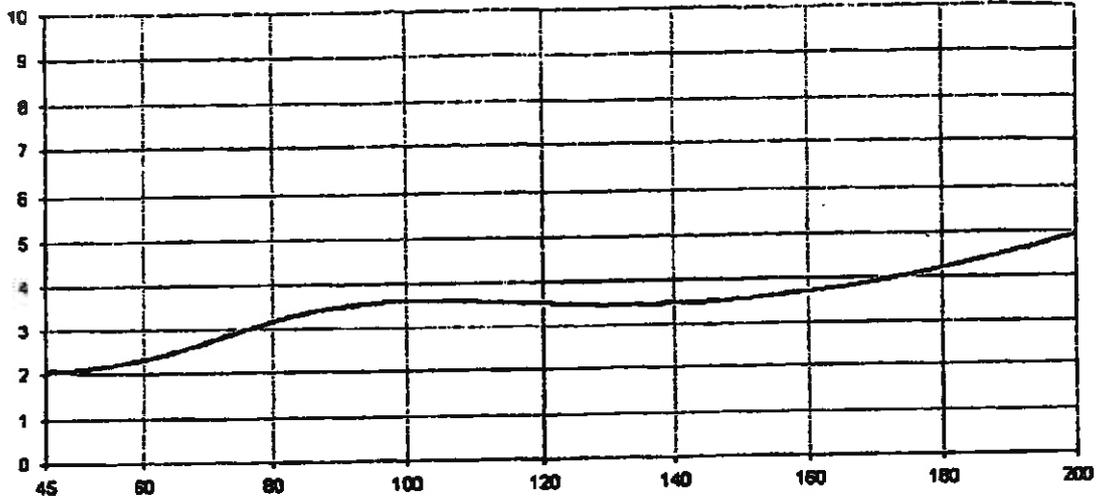


Fig. 4a

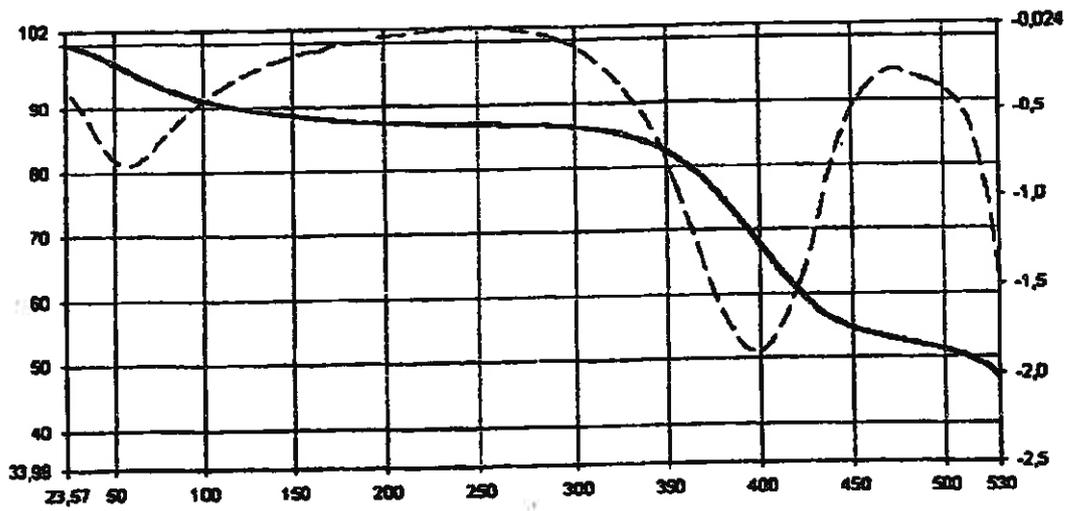


Fig. 4b

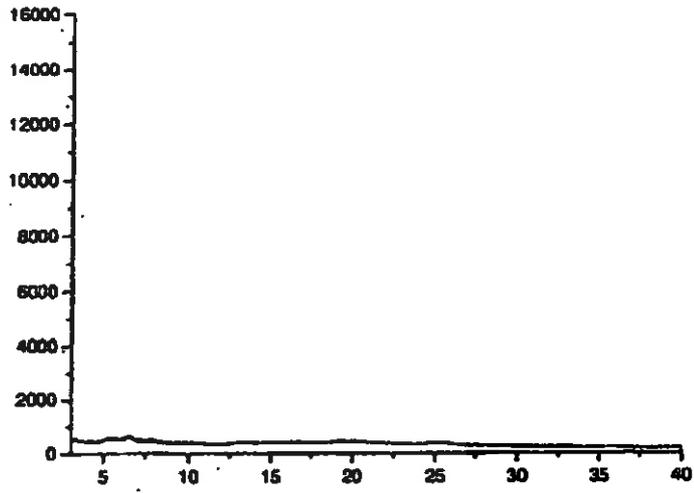


Fig. 5

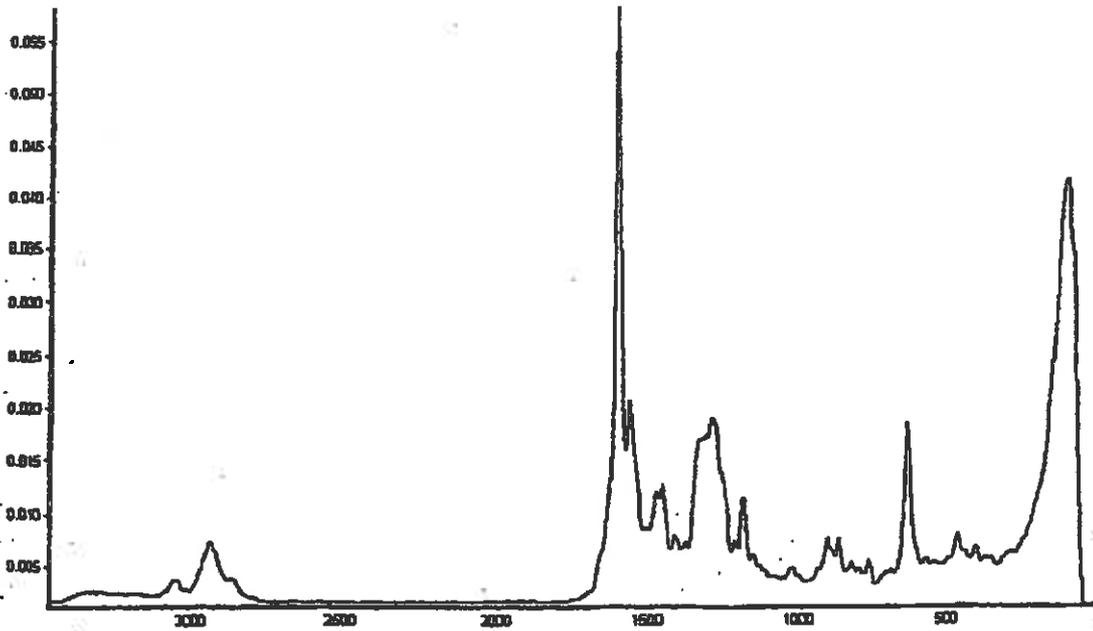


Fig. 6