



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **103310** (13) **C2**  
(51) МПК (2013.01)  
**C07D 475/00**  
**A61K 31/519** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2010 09825</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Валоті Ермано (ІТ),</b> <b>Б'янкі Давід (ІТ),</b> <b>Валеті Марко (ІТ)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>20.02.2008</b>	
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>10.10.2013</b>	
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку: <b>25.10.2010, Бюл.№ 20</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ГНОЗІС С.П.А.,</b> Via Laboratori Autobianchi, 1, I-20033 Desio (MI), Italy (IT)
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.10.2013, Бюл.№ 19</b>	<b>(74)</b> Представник: <b>Стогній Євген Степанович, реєстр. №65</b>
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>РСТ/EP2008/052037, 20.02.2008</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: FR 2 137 186 A, 29.12.1972 FR 0 773 221 A, 14.05.1997 FR 0 409 125 A, 23.01.1991

**(54) ФОЛАТИ, КОМПОЗИЦІЯ, ЩО ЇХ МІСТИТЬ, ТА ЇХ ВИКОРИСТАННЯ**

**(57) Реферат:**

Даний винахід стосується фолатів, композицій і їх використання; зокрема, описується кристалічна або аморфна сполука, яка є заміщеним або незаміщеним фолатом або відновленим фолатом, або їх природними чи штучними ізомерами, принаймні з однією органічною основою, а також композиції і їх використання. Сполуки даного винаходу мають довгострокову стабільність, а також відрізняються особливо високою розчинністю у воді.

UA 103310 C2



Винахід стосується фолатів, композицій і використання цих композицій, зокрема, винахід відображає сполуки, що є або фолатами, або відновленими фолатами, або природними або неприродними ізомерами, принаймні однієї органічної основи, а також композиції та використання цих композицій.

5 Фолієва кислота, тобто N-[4-[(2-аміно-1,4-дигідро-4-окси-6-птеридиніл-метил)аміно]бензоіл]-L-глутамінова кислота, і фолат, її аніон, є формами водорозчинного вітаміну B9 і попередниками дигідрофолієвої та тетрагідрофолієвої кислот і їх відповідних аніонів. У природному стані вони зустрічаються у продуктах харчування, переважно у вигляді кон'югатів, зокрема в печінці, нирках, дріжджах, фруктах і листових зелених овочах, а також можуть

10 вживатися у якості харчових добавок. Комерційно доступну фолієву кислоту, у вигляді вищезгаданих похідних сполук, все ще виготовляють синтетичним способом.

Фолієва кислота зустрічається у вигляді жовтого або жовтаво-оранжевого кристалічного порошку і дуже слабо розчинна у воді і нерозчинна у спирті; вона легко розчиняється у розведених розчинах лужних гідроксидів і карбонатів. Водні розчини фолієвої кислоти чутливі до нагрівання і швидко розкладаються у присутності світла та/або рибофлавіну; розчини слід зберігати у прохолодному місці, захищеному від світла.

Як добре відомо, вітаміни комплексної групи В сприяють перетворенню вуглеводів у глюкозу, яка піддається перетворенню у процесі обміну речовин, виробляючи енергію. Ці вітаміни є незамінними при розщепленні жирів та білків, відіграють важливу роль у підтриманні

20 тону м'язів по всій внутрішній поверхні шлунково-кишкового тракту і сприяють підтриманню здорового стану нервової системи, шкіри, волосся, очей, ротової порожнини і печінки.

Також відомо, що фолієва кислота необхідна для продукування і розвитку нових клітин. Такі функції особливо важливі у періоди швидкого поділу і росту клітин, таких як у ранньому дитинстві та при вагітності. Фолат потрібен для реплікації ДНК. Таким чином, дефіцит фолату перешкоджає синтезу ДНК і поділу клітин, дуже шкідливо впливаючи на кістковий мозок, який є

25 органом швидкого продукування та оновлення клітин. Через те, що синтезу РНК і білків ніщо не перешкоджає, продукуються великі червоні кров'яні тілця, тобто мегалобласти, що призводить до макроцитарної анемії, зокрема мегалобластової анемії (що спостерігається при глютенівій хворобі) і до анемії харчового походження. Отже, як дорослі, так і діти мають потребу у фолатах для утворення нормальних червоних кров'яних тілець і попередження анемії. Фолати також сприяють попередженню змін в ДНК, які можуть призводити до захворювання на рак.

Також відомо, що похідні фолієвої кислоти, такі як різноманітні похідні тетрагідрофолієвої

30 кислоти, можуть використовуватися як лікарські засоби або як вихідні речовини для одержання інших похідних. Окрім того відомо, що тетрагідрофолієва кислота і її похідні також характеризуються крайньою нестабільністю, особливо через їх схильність до окиснення.

Зокрема, 5-метилтетрагідрофолієва кислота має велике значення як інгредієнт ліків головним чином у онкології, де вживається як засіб супутньої терапії при лікуванні метотрексатом і 5-фторурацилом, і при лікуванні анемії, викликаній дефіцитом фолієвої кислоти у зв'язку з вагітністю, антибіотичною терапією тощо.

40 Серед фолатів і відновлених фолатів можна згадати солі кальцію як такі, що є відносно найстабільнішими похідними: патенти US 5,817,659 і US 6,441,168 дають опис кристалічних солей, найкраще солей кальцію, 5-метил-(6R,S)-, -(6S)- або -(6R)-тетрагідрофолієвої кислоти, де принаймні один еквівалент кристалізаційної води приходить на еквівалент вказаної кислоти.

45 5-метилтетрагідрофолат кальцію - це єдина, що є у продажу, похідна сіль фолієвої кислоти, яка здатна безпосередньо проникати через гематоенцефальний бар'єр без додаткового метаболізму. Поширена у природі 5-метилтетрагідрофолієва кислота існує лише у S-формі; R-форма є біохімічно неактивною і виводиться через нирки. Повідомляється про нерозчинність цих солей у воді.

50 Окрім того, описується ряд композицій для споживання людьми або тваринами, що включають як фолати, так і/або відновлені фолати у різних формах і сукупно з вітамінами, аргініном, лізином, тіаміном і/або іншими активними інгредієнтами, наприклад, у патентах US 5817659, US 5.997.915, US 6,093,703, US 6.241.996, US 6.254.904, US 6.261.600, US 6271374, US 6.440.450, US 6441168, US 6.444.218, US 6.451.360, US 6.514.973, US 6,544,944, US 6596721, US 6.605.646, US-6.673.381, US 6.808.725, US 6.914.073, US 6.921.754, US 6,995,158, US 2002/0094970, US 2004/0219262, US 2005/0113332, US 2006/0063768, або як харчові

55 добавки, або для лікування і профілактики різних захворювань, таких як, наприклад, неврологічні, патопсихологічні, серцево-судинні захворювання, артритні і запальні стани.

Як і раніше, є потреба у більш високій хімічній стабільності разом з такою бажаною розчинністю у воді, що зробило б можливим фармацевтичне використання фолатів та/або

відновлених фолатів, та/або композицій, що містять такі сполуки, без будь-яких особливих застережень

Несподівано було встановлено, що тривалу стабільність у сукупності з особливо високою розчинністю у воді можна забезпечити шляхом застосування даного винаходу.

Дійсно, згідно з першим незалежним пунктом формули винаходу, даний винахід відноситься до сполуки, що є фолатом або відновленим фолатом D-глюкозаміна або D-галактозаміна, таким як D-глюкозамін і D-галактозамінфолат, -дигідрофолат, -тетрагідрофолат, незаміщений або заміщений 5-метил-, 5-форміл-, 10-форміл-, 5,10-метил-, 5,10-метенилгрупою, причому сполука знаходиться у (6R,S)-, (6S)- або (6R)-конфігурації.

Ще краще, якщо фолат і відновлений фолат, згідно до винаходу, вибирають з групи, що містить D-глюкозамін-фолат, D-галактозамін-фолат, D-глюкозамін-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-(6S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-(6R)-тетрагідрофолат; D-галактозамін(6R,S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін(6S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-(6R)-тетрагідрофолат; D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6R)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6R)-тетрагідрофолат.

Також ще краще, якщо фолат і відновлений фолат вибирають із групи, що містить D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамінфолат; D-галактозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-галактозамінфолат.

D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат і D-глюкозамінфолат - це найкращі сполуки даного винаходу.

Згідно з найкращим варіантом реалізації цього винаходу відновлений фолат має (6S)-конфігурацію.

Також краще, щоб сполука даного винаходу була у аморфному стані.

Хоча термін "фолат" звичайно вживають у даній галузі для збірного позначення ряду хімічних форм, які одночасно є і структурно спорідненими, і мають аналогічну до фолієвої кислоти біологічну активність, у цьому описі термін "фолат" зазвичай відноситься до солі заміщеної або незаміщеної фолієвої кислоти і будь-яким їх природним або штучним ізомерам і/або їх сумішам, в той час як термін "відновлений фолат" звичайно відноситься до солі заміщеної або незаміщеної чи дигідрофолієвої, чи тетрагідрофолієвої кислоти і будь-яких їх природних або штучних ізомерів.

Сполука цього винаходу має надзвичайно тривалу хімічну стабільність, що фактично гарантує цілком незмінну чистоту навіть через кілька місяців зберігання, і те, що титр відповідної фолатної або відновленої фолатної групи буде залишатися, по суті, незмінним.

Ще одна особливість сполуки даного винаходу полягає в тому, що протийонна молекула фолату і відновленого фолату у сполуці даного винаходу не проявляє токсичності, вже будучи присутньою у тваринних організмах.

Крім винятково високої хімічної стабільності слід також відзначити, що сполуки D-глюкозаміна і D-галактозаміна, згідно з винаходом, виявляють надзвичайно повну розчинність у воді (навіть при концентрації вище за 1г/мл), що з очевидністю свідчить про відмінну біодоступність у порівнянні з іншими фолатами і відновленими фолатами, відомими на сьогодні, такими як, наприклад, солі лужних і лужноземельних металів, як солі кальцію.

Згідно з іншим незалежним пунктом формули винаходу, даний винахід відноситься до композиції, що містить принаймні одну вищезазначену сполуку цього винаходу.

Як зрозуміло фахівцям на основі загально відомих знань у даній сфері, композиція даного винаходу може бути приготована у різних формах, як у твердому стані (напр., таблетки), так і в рідкому стані (напр., розчини), краще у формі фармацевтичного препарату для парентерального і/або орального прийому, і може також містити інші неактивні і/або активні інгредієнти. З таких додаткових інгредієнтів композиція даного винаходу у кращому разі може також містити принаймні одну з наступних речовин: моногідрат лактози, мікрокристалічну целюлозу, гліколат натрового крохмалю, стеаринову кислоту, вітаміни [зокрема вітамін А, В (В1, В2, В6, В12), С, аскорбінову кислоту, аскорбати, D (D3), Е, К, РР], аргінін, лізин, тіамін, незамінні, насичені або ненасичені,  $\omega$ -3 і/або  $\omega$ -6 жирні кислоти (краще DHA, ARA, EPA), SAME, кобаламін, убіхінон, пробіотики (лактобацили, спори, дріжджі), фосфоліпіди, серин, холін, інозитол, етилендіамін, рослинні екстракти (чорниці, левкоцианідини, гінкго білоба, валеріана, страстоцвіт, ромашку), мелатонін, мінерали, олігоелементи тощо, і може бути введена у ефективній кількості пацієнту, що має потребу у таких лікуванні, в залежності від потреб і конкретних обставин.

Для прикладу вкажемо, що сполуку або композицію за даним винаходом, які описані вище, можна призначати пацієнту у кількості від 5 % до 3000 %, з більшою перевагою - від 5 % до 200 % добової потреби у фолієвій кислоті. Зокрема, доза може складати від 1 до 2000 мкг/добу, з більшою перевагою - від 1 до 500 мкг/добу, з найбільшою перевагою - від 20 до 200 мкг/добу і, особливо, від 5 мкг до 150 мкг на лікарську одиницю.

Відповідно до другого аспекту у даному винаході описується використання принаймні однієї сполуки і/або однієї композиції даного винаходу, як визначено вище, для одержання лікарського препарату, смакової добавки або харчової добавки, для профілактики і/або лікування або дефіцитного стану, або захворювання, на які позитивно впливає введення як фолатів, так і відновлених фолатів.

Просто для прикладу вкажемо, що сполуку і/або композицію даного винаходу, які описані вище, можна використовувати для приготування лікарського засобу, смакової добавки або харчової добавки для профілактики і/або лікування дефіцитних станів або захворювань, таких як неврологічні ураження, таких як, наприклад, пов'язаний з деменцією підгострий енцефаліт і вакуолярна мієлопатія; патопсихологічне, судинне і серцево-судинне захворювання, таких як, наприклад, рання оклюзивна, артеріальна хвороба, важке судинне захворювання у немовлят і у дитинстві, прогресуючий артеріальний стеноз, перемежна кульгавість, реноваскулярна гіпертензія, ішемічна цереброваскулярна хвороба, передчасна ретинальна артеріальна і ретинальна венозна оклюзія, церебральна оклюзивна артеріальна хвороба, оклюзивна периферична артеріальна хвороба, загроза передчасної смерті через тромбоемболічну хворобу і/або ішемічну хворобу серця; аутоімунні захворювання, такі як, наприклад, псоріаз, глютеніт хвороба, артритні і запальні стани; мегалобластова анемія, викликана дефіцитом фолату, порушення процесів всмоктування у кишковому, для зниження у жінок ризику викидня і/або при розвитку плоду з вадами нервового стовла, дефектом вухової губи і/або вухової пащі, для підтримання і/або нормалізації рівня гомоцистеїну і/або метаболізму; альтерація синтезу і/або функціонування, і/або змін ДНК і РНК, і альтерація синтезу клітин; депресивні захворювання.

Сполука, згідно з винаходом, може бути одержана із застосуванням загальних відомостей у даній області, які легко зрозуміти кваліфікованому фахівцеві; однак як приклад, що не обмежує створення та застосування винаходу, треба вказати, що сполуку винаходу можна одержати додаванням потрібної заміщеної або незаміщеної фолієвої або відновленої фолієвої кислоти до водного розчину, що містить D-глюкозамін або D-галактозамін, краще у атмосфері азоту і при перемішуванні, де вміст основи складає у молярній кількості біля 200-300 % відносно кислоти.

У результаті цього, потрібна кислота повністю розчиняється до одержання гомогенного і прозорого розчину з рН у діапазоні приблизно від 6,3 до 8,0, який містить потрібний фолат або відновлений фолат.

Солі, утворені D-глюкозаміном або D-галактозаміном і потрібним заміщенням або незаміщенням фолатом або відновленим фолатом у молярній кількості 200 %, повністю розчинні у воді і, з очевидністю, легко можуть бути виділені, що фахівцеві буде зрозуміло при урахуванні загально відомих знань з даної сфери, наприклад, у якості альтернативи, за допомогою прямого сублімаційного висушування одержаного розчину потрібного фолату або відновленого фолату, або розпилювального висушування одержаного розчину потрібного фолату або відновленого фолату.

Доцільно відмітити, що незалежно від способу виконання винаходу потрібний фолат чи відновлений фолат одержують у наближено рівних вимірюваних дозах. Наступні приклади ілюструють винахід без обмеження його дії.

Приклад 1.

Одержання D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолату.

4,60 г (10 ммоль) 5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолієвої кислоти додали порціями і повністю розчинили у 30 мл водного розчину D-глюкозаміну (3,58 г, 20 ммоль) з перемішуванням у атмосфері азоту. Одержаний розчин (рН 6,53) висушили сублімацією, одержавши 8,72 г кінцевого продукту - D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолату.

Аналітичні дані:

Титр HPLC (рідинна хроматографія високого тиску) в 5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолієвій кислоті: вираховано 56,18 % (на сухий продукт); зареєстровано 55,22 % (98,3 % від теоретичного значення):

Питоме обертання  $[\alpha]^{20}_D = +54,2^\circ$  (C = 1 у воді)

NMR (D<sub>2</sub>O) (ядерний магнітний резонанс): 7.45 (d, 2H); 6.55 (d, 2H); 5.20 (bs, 2H); 4.05 (m, H); 3.70-3.40 (m, 7H); 3.38-3.00 (m, 6H); 2.99-2.70 (m, 4H); 2.40 (s, 3H); 2.15-2.05 (m, 2H); 2.05-1.90 (m, 1H); 1.90-1.75 (m, 1H).

Приклад 2.

Одержання D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолату.

9,19 г (20 ммоль) 5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолієвої кислоти додали порціями і повністю розчинили у 60 мл водного розчину D-глюкозаміну (7,12 г, 40 ммоль) з перемішуванням у атмосфері азоту. Одержаний розчин (pH 6,53) висушили сублімацією, одержавши 16,9 г кінцевого продукту - D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолату.

Аналітичні дані:

Титр HPLC (рідинна хроматографія високого тиску) в 5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолієвій кислоті: вираховано 56,18 % (на сухий продукт); зареєстровано 55,13 % (98,2 % від теоретичного значення):

Питоме обертання  $[\alpha]^{20}_D = +54,0^\circ$  (C = 1 у воді)

NMR (D<sub>2</sub>O) (ядерний магнітний резонанс): 7.45 (d, 2H); 6.55 (d, 2H); 5.20 (bs, 2H); 4.05 (m, H); 3.70-3.40 (m, 7H); 3.38-3.00 (m, 6H); 2.99-2.70 (m, 4H); 2.40 (s, 3H); 2.15-2.05 (m, 2H); 2.05-1.90 (m, 1H); 1.90-1.75 (m, 1H).

Приклад 3.

Одержання D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолату.

4,60 г (10 ммоль) 5-метил-(6S)-тетрагідрофолієвої кислоти, що одержана розділенням відповідної (6R,S)-5-метилтетрагідрофолієвої кислоти додали порціями і повністю розчинили у 30 мл водного розчину D-глюкозаміну (3,58 г, 20 ммоль) з перемішуванням у атмосфері азоту. Одержаний розчин (pH 6,53) висушили сублімацією, одержавши 8,72 г кінцевого продукту - D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолату.

Аналітичні дані:

Титр HPLC (рідинна хроматографія високого тиску) в 5-метил-(6S)-тетрагідрофолієвій кислоті: вираховано 56,18 % (на сухий продукт); зареєстровано 55,7 % (99,1 % від теоретичного значення):

Питоме обертання  $[\alpha]^{20}_D = +42,6^\circ$  (C = 1 у воді)

NMR (D<sub>2</sub>O) (ядерний магнітний резонанс): 7.45 (d, 2H); 6.55 (d, 2H); 5.20 (bs, 2H); 4.05 (m, H); 3.70-3.40 (m, 7H); 3.38-3.00 (m, 6H); 2.99-2.70 (m, 4H); 2.40 (s, 3H); 2.15-2.05 (m, 2H); 2.05-1.90 (m, 1H); 1.90-1.75 (m, 1H).

Приклад 4.

Одержання D-глюкозамін-L-фолату.

4,41 г (10 ммоль) L-фолієвої кислоти додали порціями і повністю розчинили у 40 мл водного розчину D-глюкозаміну (3,58 г, 20 ммоль) з перемішуванням у атмосфері азоту. Одержаний розчин (pH 6,53) висушили сублімацією, одержавши 7,95 г кінцевого продукту - D-глюкозамін-L-фолату.

Аналітичні дані:

Титр HPLC (рідинна хроматографія високого тиску) в L-фолієвій кислоті: вираховано 55,2 % (на сухий продукт); зареєстровано 54,6 % (99,0 % від теоретичного значення):

Питоме обертання  $[\alpha]^{20}_D = +44,5^\circ$  (C = 1 у воді)

NMR (D<sub>2</sub>O) (ядерний магнітний резонанс): 8.42 (s, 1H); 7.45 (d, 2H); 6.42 (d, 2H); 5.20 (bs, 2H); 4.25 (s, 2H); 4.05 (m, 1H); 3.75-3.45 (m, 6H); 3.35-3.20 (m, 2H); 3.15-3.00 (m, 2H); 2.15-2.05 (m, 2H); 2.05-1.90 (m, 1H); 1.90-1.75 (m, 1H).

Приклад 5.

Одержання D-галактозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолату.

4,60 г (10 ммоль) 5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолієвої кислоти додали порціями і повністю розчинили у 30 мл водного розчину D-галактозаміну (3,58 г, 20 ммоль) з перемішуванням у атмосфері азоту. Одержаний розчин (pH 6,53) висушили сублімацією, одержавши 8,72 г кінцевого продукту - D-галактозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолату.

Аналітичні дані:

Титр HPLC (рідинна хроматографія високого тиску) в 5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолієвій кислоті: вираховано 56,18 % (на сухий продукт); зареєстровано 55,5 % (98,8 % від теоретичного значення):

Питоме обертання  $[\alpha]^{20}_D = +51,43^\circ$  (C = 1 у воді)

NMR (D<sub>2</sub>O) (ядерний магнітний резонанс): 7.45 (d, 2H); 6.55 (d, 2H); 5.20 (bs, 2H); 4.15 (m, H); 3.70-3.35 (m, 7H); 3.30-2.85 (m, 10H); 2.40 (s, 3H); 2.15-2.05 (m, 2H); 2.05-1.90 (m, 1H); 1.90-1.75 (m, 1H).

Приклад 6.

Одержання D-галактозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолату.

4,60 г (10 ммоль) 5-метил-(6S)-тетрагідрофолієвої кислоти, що одержана розділенням відповідної (6R,S)-5-метилтетрагідрофолієвої кислоти додали порціями і повністю розчинили у 30 мл водного розчину D-галактозаміну (3,58 г, 20 ммоль) з перемішуванням у атмосфері азоту.

Одержаний розчин (рН 6,53) висушили сублімацією, одержавши 8,72 г кінцевого продукту - D-галактозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолату.

Аналітичні дані:

5 Титр HPLC (рідинна хроматографія високого тиску) в 5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолієвій кислоті: вираховано 56,18 % (на сухий продукт); зареєстровано 55,5 % (98,8 % від теоретичного значення):

Питоме обертання  $[\alpha]_D^{20} = +66,5^\circ$  (C = 1 у воді)

10 NMR (D<sub>2</sub>O) (ядерний магнітний резонанс): 7.45 (d, 2H); 6.55 (d, 2H); 5.20 (bs, 2H); 4.15 (m, 1H); 3.70-3.35 (m, 7H); 3.30-2.85 (m, 10H); 2.40 (s, 3H); 2.15-2.05 (m, 2H); 2.05-1.90 (m, 1H); 1.90-1.75 (m, 1H).

Приклад 7.

Одержання D-галактозамін-L-фолату.

15 4,41 г (10 ммоль) L-фолієвої кислоти додали порціями і повністю розчинили у 40 мл водного розчину D-галактозаміну (3,58 г, 20 ммоль) з перемішуванням у атмосфері азоту. Одержаний розчин (рН 6,53) висушили сублімацією, одержавши 7,95 г кінцевого продукту - D-галактозамін-L-фолату.

Аналітичні дані:

Титр HPLC (рідинна хроматографія високого тиску) в L-фолієвій кислоті: вираховано 55,2 % (на сухий продукт); зареєстровано 54,7 % (99,1 % від теоретичного значення):

20 Питоме обертання  $[\alpha]_D^{20} = +49,77^\circ$  (C = 1 у воді)

NMR (D<sub>2</sub>O) (ядерний магнітний резонанс): 8.42 (s, 1H); 7.45 (d, 2H); 6.42 (d, 2H); 5.20 (bs, 2H); 4.25 (s, 2H); 4.05 (m, 1H); 3.75-3.45 (m, 6H); 3.35-3.20 (m, 2H); 3.15-3.00 (m, 2H); 2.15-2.05 (m, 2H); 2.05-1.90 (m, 1H); 1.90-1.75 (m, 1H).

СТАБІЛЬНІСТЬ

25 Сполуки, наведені у наступній таблиці (форма порошкоподібна, у запаяних пакетах з алюмінієвої фольги), випробовувались на стабільність зберіганням зразків у герметичному контейнері, захищеному від світла, і вимірювалась їх чистота і титр через 6 і 12 місяців.

Сполука	Початкові значення		Через 6 місяців		Через 12 місяців	
	Чистота	Титр	Чистота	Титр	Чистота	Титр
D-GLU фолат	99,1	54,6	98,8	54,3	98,7	54,0
D-GAL фолат	99,2	54,8	99,1	54,5	98,7	54,2
D-GLU 5-MTHF	99,1	55,2	98,9	55,0	99,0	54,8
D-GLU (6S)-5-MTHF	99,3	55,7	99,0	55,4	98,5	55,1
D-GAL (6R,S)-5-MTHF	99,1	55,5	98,9	, 55,2	98,7	55,3

D-GLU=D-глюкозамін; D-GAL=D-галактозамін.

30 Для порівняння слід відмітити, що кристалічні кальцієві солі (6R,S)-, (6S)- і (6R)-тетрагідрофолієвої кислоти, описані у патенті US 5,817,659 (Приклад 1), показали зниження титру приблизно на 2 % після дев'яти місяців зберігання, в той час як подібне зниження, як описується у патенті US 6,271,374 (Приклад 1) для кристалічних кальцієвих солей (6S)- і (6R)-тетрагідрофолієвої кислоти, складає приблизно 7 % після 12 місяців зберігання. Щодо кристалічних кальцієвих солей 5-метил-(6S)-тетрагідрофолієвої кислоти, то у патенті US 6,441,168 (Приклад 1) зазначається замість цього зниження титру приблизно до 1 % після 12 місяців зберігання.

35 З огляду на дані, показані у вищенаведеній таблиці, для сполуки по винаходу може бути надійно установлений термін придатності у 12 місяців. Надалі після 12 місяців відмічається зниження титру на рівні нижче 1 %. Будь-яка із сполук, наведених у таблиці, проявляє високу стабільність, оскільки як їх чистота, так і титр, навіть після дванадцяти місяців зберігання, дають зниження, повністю відповідне необхідним нормам. Зокрема, стабільність кислотної складової можна контролювати методом HPLC-аналізу, визначаючи її чистоту і титр.

БІОДОСТУПНІСТЬ

45 Біологічні дослідження проводилися на 12 мишах вагою 200-300 г. Кожній з них призначали по одній 3 мг капсулі, що містила нижчевказану дозу вибраної речовини, диспергованої у лактозі.

Параметри крові для вибраних сполук оцінювались через регулярні інтервали часу (0, 30, 60, 95, 120 хв.).

Наступні сполуки: D-глюкозамінфолат (60 мкг), D-глюкозамін (6R,S)-5-метилтетрагідрофолат (61 мкг), D-глюкозамін-(6S)-5-метилтетрагідрофолат (61 мкг), D-галактозамінфолат (60 мкг), D-галактозамін-(6R,S)-5-метилтетрагідрофолат (61 мкг), D-галактозамін-(6S)-5-метилтетрагідрофолат (61 мкг), - перевірили і порівняли з наступними сполуками: аморфною кальцієвою сіллю фолієвої кислоти (38 мкг), аморфною кальцієвою сіллю (6R,S)-5-метилтетрагідрофолієвої кислоти (39 мкг), аморфною кальцієвою сіллю (6S)-5-метилтетрагідрофолієвої кислоти (39 мкг), кристалічною кальцієвою сіллю фолієвої кислоти (39 мкг), кристалічною кальцієвою сіллю (6R,S)-5-метилтетрагідрофолієвої кислоти (39 мкг), кристалічною кальцієвою сіллю (6S)-5-метилтетрагідрофолієвої кислоти (39 мкг).

Біологічні дослідження показали, що при введенні сполук даного винаходу гематологічні значення виявилися приблизно на 20 % вищими, ніж значення, одержані при введенні тваринам аналогічної дози кальцієвих солей відповідного фолату і відновленого фолату.

Крім того, було відмічено незначне, але все таки суттєве підвищення біодоступності (приблизно 10 %) при призначенні аморфних кальцієвих солей у порівнянні з кристалічними кальцієвими солями, як це ілюструє наступна таблиця.

Час (год.)	D-Glu F (аморфна) (нмоль/л)	D-Glu 5-MTHF (аморфна) (нмоль/л)	D-Glu (6S)-5- MTHF (аморфна) (нмоль/л)	Ca 5-MTHF (кристалічна) (нмоль/л) (для порівняння)	Ca 5-MTHF (аморфна) (нмоль/л) (для порівняння)
0,5	75,3±4,3	83,2±4,9	83,7±5,2	63,2±4,5	68,2±5,1
1	79,8±5,2	86,5±4,9	86,1±5,0	69,0±6,1	73,2±5,9
1,5	78,4±4,3	83,8±4,3	83,7±4,3	70,5±4,3	75,2±4,3
2	76,8±4,3	82,8±4,3	83±4,3	70,1±4,3	74,1±4,3

D-Glu=D-глюкозамін; D-Gal=D-галактозамін; F = фолат

Таким чином, є очевидним, що висока розчинність у воді сполук D-глюкозаміну і D-галактозаміну, згідно з винаходом, позитивно і суттєво впливає на їх всмоктування, тим самим підвищуючи біодоступність всіх складових активної молекули.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука, що є фолатом або відновленим фолатом D-глюкозаміну або D-галактозаміну, таким як D-глюкозамін і D-галактозамінфолат, -дигідрофолат, -тетрагідрофолат, незаміщений або заміщений 5-метил-, 5-форміл-, 10-форміл-, 5,10-метил-, 5,10-метенілгрупою, причому сполука знаходиться у (6R,S)-, (6S)- або (6R)-конфігурації.

2. Сполука за п. 1, де фолат або відновлений фолат вибирають із групи, що містить D-глюкозамінфолат, D-галактозамінфолат, D-глюкозамін(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін(6S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін(6R)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-(6S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-(6R)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6R)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6R)-тетрагідрофолат.

3. Сполука за п. 1 або 2, де фолат або відновлений фолат вибирають із групи, що містить D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамінфолат, D-галактозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-галактозамінфолат.

4. Сполука за будь-яким з попередніх пунктів, яка являє собою D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат або D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат.

5. Сполука за будь-яким із пп. 1-4, яка являє собою D-глюкозамінфолат.

6. Сполука за будь-яким з попередніх пунктів, де відновлений фолат знаходиться у (6S)-конфігурації.

7. Сполука за будь-яким з попередніх пунктів, яка знаходиться у аморфному стані.

8. Сполука за будь-яким з попередніх пунктів, де відновлений фолат являє собою D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат або D-галактозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат.

9. Сполука за будь-яким з попередніх пунктів, яка являє собою D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат.



10. Композиція, що містить принаймні одну сполуку, що є фолатом або відновленим фолатом D-глюкозаміну або D-галактозаміну, таким як D-глюкозамін і D-галактозамінфолат, -дигідрофолат, -тетрагідрофолат, незаміщений або заміщений 5-метил-, 5-форміл-, 10-форміл-, 5,10-метилен-, 5,10-метенілгрупою, причому сполука знаходиться у (6R,S)-, (6S)- або (6R)-конфігурації, при цьому вказана композиція додатково містить принаймні одну з наступних речовин: моногідрат лактози, мікрокристалічну целюлозу, натрієву сіль гліколяту крохмалю, стеаринову кислоту, вітаміни, аскорбінову кислоту, аскорбати, аргінін, лізин, тіамін, незамінні, насичені або ненасичені,  $\omega$ -3 і/або  $\omega$ -6 жирні кислоти, SAMe, кобаламін, убіхінон, пробіотики, фосфоліпіди, серин, холін, інозит, етилендіамін, рослинні екстракти, мелатонін, мінерали, мікроелементи.
11. Композиція за п. 10, де фолат або відновлений фолат вибирають із групи, що містить D-глюкозамінфолат, D-галактозамінфолат, D-глюкозамін-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-(6S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-(6R)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-(6S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-(6R)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6R)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6R)-тетрагідрофолат.
12. Композиція за будь-яким з пп. 10-11, де фолат або відновлений фолат вибирають із групи, що містить D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-глюкозамінфолат, D-галактозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат, D-галактозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат, D-галактозамінфолат.
13. Композиція за будь-яким з пп. 10-12, де сполука являє собою D-глюкозамін-5-метил-(6R,S)-тетрагідрофолат або D-глюкозамін-5-метил-(6S)-тетрагідрофолат.
14. Композиція за будь-яким з пп. 10-13, де сполука являє собою D-глюкозамінфолат.
15. Композиція за будь-яким з пп. 10-14, де вітаміни, жирні кислоти, пробіотики та рослинні екстракти вибирають відповідно із наступних груп, що містять вітаміни A, B, C, D, E, K, PP, DHA, ARA, EPA, молочнокислі бактерії, спори, дріжджі, чорниці, лейкоціанідини, гінкго білоба, женьшень, зелений чай, валеріана, страстоцвіт, ромашка.
16. Композиція за будь-яким з пп. 10-15, де вітамін B являє собою вітаміни B1, B2, B6 або B12 і вітамін D являє собою вітамін D3.
17. Використання принаймні однієї сполуки і/або однієї композиції за будь-яким з попередніх пунктів для одержання лікарського засобу, смакової добавки або харчової добавки для профілактики і/або лікування дефіцитних станів або захворювань, на які позитивно впливає введення як фолатів, так і відновлених фолатів, таких як неврологічні ураження, таких як, наприклад, пов'язаний з деменцією підгострий енцефаліт і вакулярна мієлопатія; патопсихологічне, судинне і серцево-судинне захворювання, такі, як, наприклад, рання оклюзивна, артеріальна хвороба, важке судинне захворювання у немовлят і у дітей, прогресуючий артеріальний стеноз, переміжна кульгавість, реноваскулярна гіпертензія, ішемічна цереброваскулярна хвороба, передчасна ретинальна артеріальна і ретинальна венозна оклюзія, церебральна оклюзивна артеріальна хвороба, оклюзивна периферична артеріальна хвороба, загроза передчасної смерті, викликаної тромбоемболічною хворобою і/або ішемічною хворобою серця; аутоімунні захворювання, такі як, наприклад, псоріаз, глютенна хвороба, артритні і запальні стани; мегалобластова анемія, викликана дефіцитом фолату, порушення процесів всмоктування у кишечнику, для зниження у жінок ризику викидня і/або при розвитку плоду з вадами нервової трубки, дефектом вовчої губи і/або вовчої пащі, для підтримання і/або нормалізації рівня і/або метаболізму гомоцистеїну; альтерація синтезу і/або функціонування, і/або змін ДНК і РНК, і альтерація синтезу клітин; депресивні захворювання.

---

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601