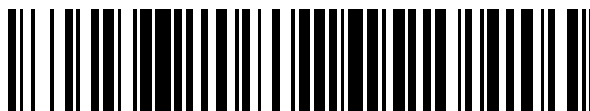


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 538 480**

51 Int. Cl.:

C07D 475/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2008** **E 08709119 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2015** **EP 2245032**

54 Título: **Folatos, composiciones y usos de los mismos**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.06.2015

73 Titular/es:

GNOSIS S.P.A. (100.0%)
Via Laboratori Autobianchi, 1
20033 Desio (MI), IT

72 Inventor/es:

VALOTI, ERMANNO;
BIANCHI, DAVIDE y
VALETTI, MARCO

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 538 480 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

Folatos, composiciones y usos de los mismos

La presente invención se refiere a folatos, a composiciones y usos de los mismos; en particular, la presente invención describe compuestos cristalinos y amorfos que son folatos o folatos reducidos, o los isómeros naturales o no naturales de los mismos, de al menos una base orgánica, así como composiciones y usos de los mismos.

El ácido fólico, es decir, el ácido N-[4-[(2-amino-1,4-dihidro-4-oxo-6-pteridinil)metil]amino]benzoil]-L-glutámico, y el folato, el anión del mismo, son formas de la vitamina B9 hidrosoluble y los precursores de los ácidos dihidrofólico y tetrahidrofólico, y de los respectivos aniones de los mismos. Estos están presentes de forma natural en alimentos, en su gran mayoría como conjugados de los mismos, en particular, en el hígado, riñones, levaduras, frutas y hortalizas de hoja verde, y también pueden ser ingeridos como suplementos. El ácido fólico disponible de forma comercial, como los derivados antes citados del mismo, ya se preparan de forma sintética.

El ácido fólico se presenta como un polvo cristalino amarillo o amarillento-naranja y es muy poco soluble en agua e insoluble en alcohol; este es fácilmente soluble en soluciones diluidas de hidróxidos y carbonatos alcalinos. Las soluciones acuosas de ácido fólico son termosensibles y se descomponen rápidamente en presencia de luz y/o riboflavina; por tanto, las soluciones deberán almacenarse en un lugar fresco, protegidas de la luz.

Como es bien conocido, las vitaminas del complejo vitamínico B ayudan al cuerpo a convertir los hidratos de carbono en glucosa, que es metabolizada para producir energía. Estas vitaminas son esenciales en la descomposición de grasas y proteínas y desempeñan una importante función en el mantenimiento del tono muscular junto con el revestimiento del tracto digestivo y promueven la salud del sistema nervioso, piel, pelo, ojos, boca e hígado.

También es conocido que el ácido fólico es necesario para la producción y mantenimiento de nuevas células. Esto es especialmente importante durante períodos de rápida división celular y crecimiento tales como la infancia y el embarazo. El folato es necesario para replicar el ADN. Así, una deficiencia en folato obstaculiza la síntesis de ADN y la división celular, afectando en su mayor parte clínicamente a la médula ósea, un sitio de rápida renovación celular. Puesto que la síntesis de ADN y proteínas no se ven obstaculizadas, se producen glóbulos rojos voluminosos, es decir, magaloblastos, dando lugar a anemia macrocítica, tal como anemia megaloblástica (como puede observarse en la enfermedad celíaca) y en anemias de origen nutricional, o en el embarazo, infancia o niñez. Por consiguiente, tanto los adultos como los niños necesitan folato para generar glóbulos rojos normales y prevenir la anemia. El folato también ayuda a prevenir cambios en el ADN que pueden conducir a cáncer.

También es conocido que los derivados del ácido fólico tales como diversos derivados del ácido tetrahidrofólico pueden usarse como medicamentos o como sustancias de base para la preparación de otros derivados. Hasta ahora también el ácido tetrahidrofólico y los derivados del mismo son conocidos por poseer una inestabilidad extrema, en particular, debido a su susceptibilidad a la oxidación.

En particular, el ácido 5-metiltetrahidrofólico tiene importancia como ingrediente en medicamentos, principalmente en oncología, como terapia concomitante con el tratamiento de metotrexato y 5-fluorouracilo, y en el tratamiento de anemia por deficiencia de ácido fólico asociada con el embarazo, tratamiento con antibióticos y similares.

El documento FR 2137186 describe sales de alcanol amonio del ácidos fólicos solubles en agua.

Entre los folatos y folatos reducidos, las sales de calcio pueden citarse como los derivados relativamente más estables; los documentos US 5.817.659 y US 6.441.168 describen sales cristalinas, preferiblemente, sales de calcio, de ácido 5-metil-(6R,S)-, -(6S)- o -(6R)-tetrahidrofólico que tienen agua de cristalización de al menos un equivalente por equivalente de dicho ácido. El 5-metiltetrahidrofolato de calcio es el único derivado de ácido fólico en el mercado que puede penetrar directamente la barrera hematoencefálica sin un metabolismo posterior. El ácido 5-metiltetrahidrofólico de origen natural está únicamente en la forma S; la forma R es bioquímicamente inactiva y es excretada a través del riñón.

La insolubilidad en agua de estas sales se ha descrito. Además, una serie de composiciones para consumo humano y veterinario, que comprenden bien folatos y/o folatos reducidos, se describen, en varias formas y junto con vitaminas, arginina, lisina, tiamina y/u otros ingredientes activos, por ejemplo, en los documentos US 5817659, US 5.997.915, US 6.093.703, US 6.241.996, US 6.254.904, US 6.261.600, US 6.271.374, US 6.440.450, US 6.441.168, US 6.444.218, US 6.451.360, US 6.514.973, US 6.544.944, US 6.596.721, 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, bien como suplemento nutricional o para el tratamiento y prevención de diversas enfermedades tales como, por ejemplo, enfermedades neurológicas, patopsicológicas, cardiovasculares, estados patológicos artríticos e inflamatorios.

Por tanto, todavía es demandada una mayor estabilidad química junto con una deseable solubilidad en agua que haría posible el uso farmacéutico de folatos y/o folatos reducidos y/o las composiciones que comprenden tales compuestos, sin ninguna precaución particular.

Se ha encontrado de forma inesperada que por medio de la presente invención puede obtenerse una estabilidad de larga duración así como una solubilidad en agua particularmente elevada.

Preferiblemente, el folato reducido de la presente invención muestra una configuración (6R,S), (6S) o (6R) y es, en particular, un di- o tetrahidrofolato.

- 5 El folato y el folato reducido de la presente invención está seleccionado preferiblemente del grupo que consiste en folato, dihidrofolato, tetrahidrofolato de D-glucosamina, de D-galactosamina, no sustituido o sustituido con un resto 5-metil-, 5-formil-, 10-formil-, 5,10-metileno-, 5,10-metenil-, estando el compuesto, siempre que sea contemplado, en una configuración (6R,S), (6S) o (6R).

- 10 Más preferiblemente, el folato y folato reducido de la presente invención están seleccionados del grupo que consiste en folato de D-glucosamina, folato de D-galactosamina, (6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, (6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, (6R)-tetrahidrofolato de D-glucosamina; (6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, (6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, (6R)-tetrahidrofolato de D-galactosamina; 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6R)-tetrahidrofolato de D-glucosamina; 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, 5-metil-(6R)-tetrahidrofolato de D-galactosamina.

De acuerdo con una realización preferida, el folato reducido de la presente invención está en una configuración (6S).

- 20 Todavía más preferiblemente, el folato y el folato reducido están seleccionados del grupo que consiste en 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, folato de D-glucosamina, 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, folato de D-galactosamina. Los compuestos más preferidos de la presente invención son 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina y folato de D-glucosamina.

También se prefiere que el compuesto de la presente invención esté en un estado amorfo.

- 25 Aunque el término "folato" se usa de forma genérica en el campo técnico para referirse de forma colectiva a una serie de formas químicas que están estructuralmente relacionadas con, y que tienen similar actividad biológica que el ácido fólico, en la presente memoria descriptiva, el término hará referencia de forma general, a una sal de ácido fólico sustituido o no sustituido y de cualquier isómero natural o no natural del mismo y/o mezclas de los mismos, mientras que el término "folato reducido" hará referencia de forma general a una sal de ácido dihidrofólico o tetrahidrofólico sustituido o no sustituido y de isómeros naturales o no naturales del mismo.

- 30 El compuesto de la invención muestra una estabilidad química de larga duración extraordinaria, garantizando esto realmente una pureza bastante inalterada, incluso meses después, y que el título del resto folato correspondiente o folato reducido correspondiente resulte sustancialmente inalterado.

Otra peculiaridad más del compuesto de la invención puede apreciarse en que la molécula del ion contrario del folato o folato reducido del compuesto de la invención muestra de forma evidente ausencia de toxicidad, estando ya presente en animales.

- 35 Además de su excepcionalmente alta estabilidad química, puede también apreciarse que los compuesto de D-glucosamina y D-galactosamina de la presente invención muestran una solubilidad sorprendentemente completa en agua (incluso mayor que 1 g/ml) lo cual significa de forma evidente una excelente biodisponibilidad, al contrario que los otros folatos y folatos reducidos conocidos hasta la fecha tales como, por ejemplo, sales alcalinas y alcalinotérricas tales como sales de calcio.

- 40 Conforme a otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende al menos un compuesto de la presente invención.

- 45 Como comprenderá un experto en la técnica en base a los conocimientos generales habituales de la técnica, la composición de la invención puede formularse de diversas formas, bien sólida (por ejemplo, comprimidos) o líquida (por ejemplo, soluciones), preferiblemente en forma de una preparación farmacéutica parenteral y/u oral, y puede comprender además otros ingredientes inactivos y/o activos. Entre tales ingredientes adicionales, la composición de la invención puede comprender, además y de forma preferida, al menos una de las siguientes sustancias: lactosa monohidrato, celulosa microcristalina, almidón glicolato de sodio, ácido esteárico, vitaminas [en particular, vitamina A, B (B1, B2, B6, B12), C, ácido ascórbico, ascorbato, D (D3) E, K, PP], arginina, lisina, tiamina, ácidos grasos esenciales, saturados o insaturados, ω -3 y/o ω -6 (preferiblemente DHA, ARA, EPA), SAME, cobalamina, ubiquinona, probióticos (lactobacilos, esporas, levaduras), fosfolípidos, serina, colina, inositol, etilendiamina, extractos de plantas (arándanos, leucocianidinas, ginkgo biloba, ginseng, té verde, valeriana, pasiflora, manzanilla), melatonina, minerales, oligoelementos y similares, y puede administrarse en una cantidad eficaz a un sujeto que lo necesite, dependiendo de las necesidades y circunstancias que el caso pueda presentar.

- 55 Simplemente a modo de ejemplo, el compuesto y/o la composición de la presente invención puede administrarse en una cantidad que proporcione de 5 % a 3000 %, más preferiblemente de 5 % a 200 % de los requerimientos de

ácido fólico diarios para el sujeto. En particular, la dosis puede suponer entre 1 y 2.000 $\mu\text{g}/\text{día}$, más preferiblemente entre 1 μg y 500 μg , lo más preferentemente entre 20 y 200 $\mu\text{g}/\text{día}$ y, en particular de 5 μg a 150 μg , por dosis unitaria.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención describe el uso de al menos un compuesto y/o una composición de la presente invención, como se han definido antes, para la preparación de un medicamento, un aditivo alimentario o un suplemento nutricional, para la prevención y/o el tratamiento de deficiencias o enfermedades afectadas de forma positiva por la administración tanto de folatos como de folatos reducidos.

Simplemente a modo de ejemplo, el compuesto y/o la composición de la presente invención, como se han definido antes, pueden usarse para la preparación de un medicamento, un aditivo alimentario o un suplemento nutricional, para la prevención y/o el tratamiento de afección neurológica tal como, por ejemplo, encefalitis subaguda asociada con demencia y mielopatías vacuolares; patopsicológica, vascular y cardiovascular tal como, por ejemplo, enfermedad arterial oclusiva prematura, enfermedad vascular grave en la infancia y la niñez, estenosis arterial progresiva, claudicación intermitente, hipertensión renovascular, enfermedad cerebrovascular isquémica, oclusión prematura de la arteria retiniana y la vena retiniana, enfermedad arterial oclusiva cerebral, enfermedad arterial oclusiva periférica, muerte prematura debida a enfermedad tromboembólica y/o cardiopatía isquémica; enfermedades autoinmunes, tales como, por ejemplo, psoriasis, enfermedad celíaca, afecciones artríticas e inflamatorias; anemia megaloblástica debida a deficiencia de folato, malasorción intestinal, para reducir el riesgo de una mujer de sufrir aborto y/o de tener un feto con un defecto en el tubo neural, un defecto de labio leporino, y/o un defecto de paladar hendido, para mantener y/o normalizar el nivel y/o el metabolismo de homocisteína; alteraciones de la síntesis y/o el funcionamiento y/o los cambios del ADN y ARN y las alteraciones de la síntesis celular; enfermedades depresivas.

El compuesto de la invención puede prepararse sencillamente aplicando los conocimientos generales habituales de la técnica, como el experto comprenderá fácilmente; sin embargo, como ejemplo no limitante, el compuesto de la invención puede prepararse añadiendo el ácido fólico o ácido fólico reducido sustituido o no sustituido a una solución acuosa que contenga D-glucosamina o D-galactosamina, mantenida preferiblemente bajo nitrógeno y agitando, estando la base en una cantidad molar de aproximadamente 200 a 300 % del ácido.

Como consecuencia, el ácido deseado queda totalmente disuelto y se obtiene de este modo una solución homogénea y transparente, que tiene un pH de entre aproximadamente 6,3 y 8,0 y que contiene el folato o folato reducido deseado.

Las sales obtenidas de D-glucosamina o D-galactosamina con el folato o folato reducido sustituido o no sustituido, en una cantidad molar de 200 %, son totalmente solubles en agua y, evidentemente, pueden ser recogidas de forma muy sencilla, como el experto apreciará inmediatamente, aplicando de forma sencilla los conocimientos generales habituales de la técnica, por ejemplo y de forma alternativa, por liofilización directa de la solución obtenida de folato o folato reducido deseado, o por secado por aspersión de la solución de folato o folato reducido deseado.

Puede ser ventajoso que, independientemente de la forma de recuperación llevada a cabo, el folato o folato reducido deseado de la presente invención se obtenga en una cantidad aproximadamente cuantitativa.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitarla.

EJEMPLO 1

Preparación de 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina

Se añadieron 4,60 g (10 mmol) de ácido 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofólico en varias porciones y se disolvieron totalmente en 30 ml de solución acuosa de D-glucosamina (3,58 g, 20 mmol) agitada bajo nitrógeno. La solución resultante (pH 6,53) se liofilizó, obteniendo 8,72 g del producto del epígrafe.

Datos analíticos:

Título HPLC en ácido 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofólico: calculado 56,18 % (en el producto seco); encontrado 55,22 % (98,3 % del valor teórico);

Rotación específica $[\alpha]_D^{20} = +54,2^\circ$ (C = 1 en agua)

RMN (D_2O): 7,45 (d, 2H); 6,55 (d, 2H); 5,20 (s ancho, 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).

EJEMPLO 2

Preparación de 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina

Se añadieron en varias porciones 9,19 g (20 mmol) de ácido 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofólico y se disolvieron totalmente en 60 ml de una solución acuosa de D-glucosamina (7,12 g, 40 mmol) agitada bajo nitrógeno. La solución

resultante (pH 6,53) se secó por aspersión, obteniendo 16,9 g del producto del epígrafe.

Datos analíticos:

Título HPLC en ácido 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofólico: calculado 56,18 % (en el producto seco); encontrado 55,13 (98,2 % del valor teórico);

5 Rotación específica $[\alpha]^{20}_D = +54,0$ (C = 1 en agua)

RMN (D_2O): 7,45 (d, 2H); 6,55 (d, 2H); 5,20 (s ancho, 2H); 4. 0 5 (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).

EJEMPLO 3

Preparación de 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina

10 Se añadieron en varias porciones 4,60 g (10 mmol) de ácido 5-metil-(6S)-tetrahidrofólico, obtenido por la resolución del ácido (6R,S)-5-metiltetrahidrofólico correspondiente, y se disolvieron totalmente en 30 ml de una solución acuosa de D-glucosamina (3,58 g, 20 mmol) agitada bajo nitrógeno. La solución resultante (pH 6,53) se liofilizó, obteniendo 8,72 g del producto del epígrafe.

Datos analíticos:

15 Título HPLC en ácido 5-metil-(6S)-tetrahidrofólico: calculado 56,18 % (en el producto seco); encontrado 55,7 % (99,1 % del valor teórico);

Rotación específica $[\alpha]^{20}_D = +42,6^\circ$ (C = 1 en agua)

RMN (D_2O): 7,45 (d, 2H); 6,55 (d, 2H); 5,20 (s ancho, 2H); 4. 0 5 (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).

20 EJEMPLO 4

Preparación de L-folato de D-glucosamina

Se añadieron en varias porciones 4,41 g (10 mmol) de ácido L-fólico y se disolvieron totalmente en 40 ml de una solución acuosa de D-glucosamina (3,58 g, 20 mmol) agitada bajo nitrógeno. La solución resultante (pH 6,53) se liofilizó obteniendo 7,95 g del producto del epígrafe.

25 Datos analíticos:

Título HPLC en ácido L-fólico: calculado 55,2 % (en el producto seco); encontrado 54,6 (99,0 % del valor teórico); Rotación específica $[\alpha]^{20}_D = +44,5^\circ$ (C = 1 en agua)

RMN (D_2O): 8,42 (s, 1H); 7,45 (d, 2H); 6,42 (d, 2H); 5,20 (s ancho, 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).

30 EJEMPLO 5

Preparación de 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina

Se añadieron en varias porciones 4,60 g (10 mmol) de ácido 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofólico y se disolvieron totalmente en 30 ml de una solución acuosa de D-galactosamina (3,58 g, 20 mmol) agitada bajo nitrógeno. La solución resultante (pH 6,53) se liofilizó, obteniendo 8,72 g del producto del epígrafe.

35 Datos analíticos:

Título HPLC en ácido 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofólico: calculado 56,18 % (en el producto seco); encontrado 55,5 % (98,8 % del valor teórico);

Rotación específica $[\alpha]^{20}_D = +51,43^\circ$ (C = 1 en agua)

40 RMN (D_2O): 7,45 (d, 2H); 6,55 (d, 2H); 5,20 (s ancho, 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).

EJEMPLO 6

Preparación de 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina

Se añadieron en varias porciones 4,60 g (10 mmol) de ácido 5-metil-(6S)-tetrahidrofólico, obtenido por la resolución del ácido (6R,S)-5-metiltetrahidrofólico correspondiente, y se disolvieron totalmente en 30 ml de una solución acuosa

de D-galactosamina (3,58 g, 20 mmol) agitada bajo nitrógeno. La solución resultante (pH 6,53) se liofilizó, obteniendo 8,72 g del producto del epígrafe.

Datos analíticos:

- 5 Título HPLC en ácido 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofólico: calculado 56,18 % (en el producto seco); encontrado 55,5 % (98,8 % del valor teórico);

Rotación específica $[\alpha]_D^{20} = +66,5^\circ$ (C = 1 en agua)

RMN (D_2O): 7,45 (d, 2H); 6,55 (d, 2H); 5,20 (s ancho, 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).

EJEMPLO 7

- 10 Preparación de L-folato de D-galactosamina

Se añadieron en varias porciones 4,41 g (10 mmol) de ácido L-fólico y se disolvieron totalmente en 40 ml de una solución acuosa de D-galactosamina (3,58 g, 20 mmol) agitada bajo nitrógeno. La solución resultante (pH 6,53) se liofilizó obteniendo 7,95 g del producto del epígrafe.

Datos analíticos:

- 15 Título HPLC en ácido L-fólico: calculado 55,2 % (en el producto seco); encontrado 54,7 (99,1 % del valor teórico); Rotación específica $[\alpha]_D^{20} = +49,77$ (C = 1 en agua)

RMN (D_2O): 8,42 (s, 1H); 7,45 (d, 2H); 6,42 (d, 2H); 5,20 (s ancho, 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).

ESTABILIDAD

- 20 Se ensayó la estabilidad de los compuestos listados en la tabla siguiente, en forma de polvo y en una bolsa de lámina de aluminio sellada, manteniendo las muestras en un recipiente hermético, protegido de la luz y midiendo la pureza y el título después de 6 y 12 meses.

Compuesto	Valores de partida		Después de 6 meses		Después de 12 meses	
	Pureza	Título	Pureza	Título	Pureza	Título
Folato de D-GLU	99,1	54,6	98,8	54,3	98,7	54,0
Folato de D-GAL	99,2	54,8	99,1	54,5	98,7	54,2
5-MTHF de D-GLU	99,1	55,2	98,9	55,0	99,0	54,8
(6S)-5-MTHF de D-GLU	99,3	55,7	99,0	55,4	98,5	55,1
(6R,S)-5-MTHF de D-GAL	99,1	55,5	98,9	55,2	98,7	55,3

D-GLU = D-glucosamina; D-GAL = D-galactosamina

- 25 Como comparación, puede apreciarse que las sales de calcio de ácido (6R,S)-, (6S)- y (6R)-tetrahidrofólico cristalinas, que se describen en el documento US 5.817.659 (Ejemplo 1), muestran una disminución del título de aproximadamente un 2 %, después de nueve meses, mientras que dicha disminución, como se describe en el documento US 6.271.374 (Ejemplo 1) para sales de calcio de ácido (6S)- y (6R)-tetrahidrofólico cristalinas, asciende a aproximadamente un 7 % después de doce meses. En lo que se refiere a sales de calcio del ácido 5-metil-(6S)-tetrahidrofólico cristalinas, el documento US 6.441.168 (Ejemplo 1) describe en cambio una disminución del título que asciende a aproximadamente un 1 % después de doce meses.

- 30 A la vista de los datos ilustrados en la tabla anterior, puede establecerse de forma segura una fecha de caducidad de doce meses para el compuesto de la presente invención, indicando además una disminución del título menor de un 1 % después de doce meses. Cualquiera de los compuestos listados en la tabla anterior mostró una alta estabilidad puesto que su pureza y título, incluso después de doce meses, resultaron estar dentro de las especificaciones requeridas. En particular, la estabilidad del resto ácido se observó por HPLC, detectando la pureza y título del mismo.

BIODISPONIBILIDAD

- 40 Los ensayos biológicos se llevaron a cabo en 12 ratones con un peso de 200 a 300 g, administrando a cada uno de ellos una cápsula de 300 mg que contenía la dosis del compuesto seleccionado, como se indica más adelante, dispersada en lactosa.

Los valores hemáticos del compuesto seleccionado se evaluaron seguidamente después de intervalos de tiempo regulares (0, 30, 60, 95, 120 min.).

5 Los siguientes compuestos, folato de D-glucosamina (60 µg), [6R,S]5-metiltetrahidrofolato de D-glucosamina (61 µg), [6S]5-metiltetrahidrofolato de D-glucosamina (61 µg), folato de D-galactosamina (60 µg), [6R,S]5-metiltetrahidrofolato de D-galactosamina (61 µg), [6S]5-metiltetrahidrofolato de D-galactosamina (61 µg), se ensayaron y se compararon con los siguientes, sal de calcio de ácido fólico amorfa (38 µg), sal de calcio de ácido [6R,S]5-metiltetrahidrofólico amorfa (39 µg), sal de calcio de ácido [6S]-5-metiltetrahidrofólico amorfa (39 µg), sal de calcio de ácido fólico cristalina (39 µg), sal de calcio de ácido [6R,S]-5-metiltetrahidrofólico cristalina (39 µg), sal de calcio de ácido [6S]-5-metiltetrahidrofólico cristalina (39 µg).

10 Los ensayos biológicos mostraron que, administrando los compuestos de la presente invención, los niveles hemáticos resultaron aproximadamente un 20 % mayores que los valores encontrados administrando a los animales una dosis análoga de las sales de calcio de folato y folato reducido correspondientes.

15 Además, se ha apreciado un ligero y aun significativo aumento en la biodisponibilidad (aproximadamente un 10 %) administrando sales de calcio amorfas en comparación con sales de calcio cristalinas, como se ilustra en la tabla siguiente.

Tiempo (h)	F de D-Glu (amorfo) (nmol/l)	5-MTHF de D-Glu (amorfo) (nmol/l)	(6S)-5-MTHF de D-Glu (amorfo) (nmol/l)	5-MTHF de Ca (cristalino) (nmol/l) (comparativo)	5-MTHF de Ca (amorfo) (nmol/l) (comparativo)
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-glucosamina; D-Gal = D-galactosamina; F = folato

Por tanto, resulta evidente cómo la elevada solubilidad en agua de los compuestos de D-glucosamina y D-galactosamina de la presente invención afecta de forma positiva y significativa a la absorción de los mismos, mejorando así la biodisponibilidad de todos los restos activos de la molécula.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto cristalino o amorfo que es un folato o un folato reducido de D-glucosamina, D-galactosamina, -folato, -dihidrofolato, -tetrahidrofolato, no sustituido o sustituido con un resto 5-metil-, 5-formil-, 10-formil-, 5,10-metileno-, 5,10-metenil-, estando el compuesto, siempre que sea contemplado, en una configuración (6R,S), (6S) o (6R).
2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que el folato y el folato reducido están seleccionados del grupo que consiste en folato de D-glucosamina, folato de D-galactosamina, (6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, (6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, (6R)-tetrahidrofolato de D-glucosamina; (6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, (6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, (6R)-tetrahidrofolato de D-galactosamina; 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6R)-tetrahidrofolato de D-glucosamina; 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, 5-metil-(6R)-tetrahidrofolato de D-galactosamina.
3. El compuesto según la reivindicación 1 o 2, en el que el folato y el folato reducido están seleccionados del grupo que consiste en 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, folato de D-glucosamina, 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, folato de D-galactosamina.
4. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que es 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina o 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina.
5. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que es folato de D-glucosamina.
6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el folato reducido está en una configuración (6S).
7. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que está en un estado amorfo.
8. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el folato reducido es 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina o 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina.
9. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que es 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina.
10. Una composición que comprende al menos un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
11. Una composición según la reivindicación anterior, en la que el compuesto es un compuesto cristalino o amorfo que es un folato o un folato reducido, de D-glucosamina y D-galactosamina y en el que comprende además almidón glicolato de sodio, ácido esteárico, vitaminas, ácido ascórbico, ascorbatos, arginina, lisina, tiamina, ácidos grasos esenciales, saturados o insaturados, ω -3 y/o ω -6, SAME, cobalamina, ubiquinona, probióticos, fosfolípidos, serina, colina, inositol, etilendiamina, extractos de plantas, melatonina, minerales, oligoelementos.
12. Una composición según la reivindicación 10 u 11, en la que el folato y el folato reducido están seleccionados del grupo que consiste en folato de D-glucosamina, folato de D-galactosamina, (6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, (6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, (6R)-tetrahidrofolato de D-glucosamina; (6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, (6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, (6R)-tetrahidrofolato de D-galactosamina; 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6R)-tetrahidrofolato de D-glucosamina; 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, 5-metil-(6R)-tetrahidrofolato de D-galactosamina.
13. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10-12, en la que el folato y el folato reducido están seleccionados del grupo que consiste en 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina, folato de D-glucosamina, 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-galactosamina, folato de D-galactosamina.
14. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10-13, en la que el compuesto es 5-metil-(6R,S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina o 5-metil-(6S)-tetrahidrofolato de D-glucosamina.
15. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10-14, en la que el compuesto es folato de D-glucosamina.
16. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10-15, en la que las vitaminas, ácidos grasos, probióticos y extractos de plantas están seleccionados -respectivamente- de los siguientes grupos que consisten en: vitamina A, B, C, D, E, K, PP; DHA, ARA, EPA; lactobacilos, esporas, levaduras; arándanos, leucocianidinas, ginkgo biloba, ginseng, té verde, valeriana, pasiflora, manzanilla.
17. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10-16, en la que la vitamina B es vitamina B1, B2, B6

o B12 y la vitamina D es vitamina D3.

- 5 **18.** Uso de al menos un compuesto y/o una composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para la preparación de un medicamento, un aditivo alimentario o un suplemento nutricional, para la prevención y/o el tratamiento de deficiencias o enfermedades afectadas de forma positiva por la administración de folatos y folatos
- 10 reducidos seleccionadas de afección neurológica tal como, por ejemplo, encefalitis subaguda asociada con demencia y mielopatías vacuolares; patopsicológica, vascular y cardiovascular tal como, por ejemplo, enfermedad arterial oclusiva prematura, enfermedad vascular grave en la infancia y la niñez, estenosis arterial progresiva, claudicación intermitente, hipertensión renovascular, enfermedad cerebrovascular isquémica, oclusión prematura de la arteria retiniana y la vena retiniana, enfermedad arterial oclusiva cerebral, enfermedad arterial oclusiva periférica,
- 15 muerte prematura debida a enfermedad tromboembólica y/o cardiopatía isquémica; enfermedades autoinmunes, tales como, por ejemplo, psoriasis, enfermedad celíaca, afecciones artríticas e inflamatorias; anemia megaloblástica debida a deficiencia de folato, malasorción intestinal, para reducir el riesgo en una mujer de sufrir aborto y/o de tener un feto con un defecto en el tubo neural, un defecto de labio leporino, y/o un defecto de paladar hendido, para mantener y/o normalizar el nivel y/o el metabolismo de homocisteína; alteraciones de la síntesis y/o el funcionamiento y/o los cambios del ADN y ARN y las alteraciones de la síntesis celular; enfermedades depresivas.