

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 824 807**

(51) Int. Cl.:

**C07H 19/167** (2006.01)  
**A61K 31/7076** (2006.01)  
**A61P 25/00** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61P 37/00** (2006.01)  
**A61P 9/00** (2006.01)  
**A61P 1/00** (2006.01)  
**A61P 3/00** (2006.01)  
**A61P 39/00** (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.01.2014 PCT/US2014/011935**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **24.07.2014 WO14113609**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.01.2014 E 14704211 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 2945959**

---

(54) Título: **Sales de indol-3-propionato estables de S-adenosil-L-metionina**

(30) Prioridad:

**16.01.2013 US 201361753300 P**  
**15.03.2013 US 201361792467 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**13.05.2021**

(73) Titular/es:

**HEBERT SAM-E LLC (100.0%)**  
**P.O. Box 646**  
**Carson City, NV 89702, US**

(72) Inventor/es:

**HEBERT, ROLLAND, F.**

(74) Agente/Representante:

**MILTENYI , Peter**

**ES 2 824 807 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

Sales de indol-3-propionato estables de S-adenosil-L-metionina

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a sales estables de indol-3-propionato de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, a procesos para preparar las sales de indol-3-propionato, a composiciones farmacéuticas que comprenden las sales de indol-3-propionato y a usos terapéuticos de las mismas. Estas sales de indol-3-propionato poseen una potente actividad en el tratamiento de diversas afecciones asociadas al envejecimiento y otras afecciones en mamíferos.

10 **Antecedentes de la invención**

15 S-adenosil-L-metionina (SAMe)

La S-adenosil-L-metionina (SAMe) es una sustancia de origen natural que está presente en todos los organismos vivos y tiene una serie de funciones biológicas muy importantes. La SAMe existe en dos formas diastereoméricas importantes como (S,S) S-adenosil-L-metionina y (R,S) S-adenosil-L-metionina. Entre estas funciones se encuentran las siguientes: donador de grupo metilo en reacciones de transmetilación (es el único donante de grupo metilo en tales reacciones incluyendo la metilación del ADN, proteínas, hormonas, catecol e indolaminas y fosfatidiletanolamina a fosfatidilcolina); un sustrato de una enzima liasa que convierte SAMe en la molécula metiltioadenosina y homoserina; un donador de cadena aminobutírica para ARNt; y un donador de cadena de aminoácidos en la biosíntesis de biotina. La SAMe, después de la descarboxilación, también es donante de grupos aminopropilo para la biosíntesis de las poliaminas neurorreguladoras espermidina y espermina. (Zappia *et al.* (1979), "Biomedical and Pharmacological roles of Adenosylmethionine and the Central Nervous System", página 1, Pergamon Press. NY). SAMe se ha usado clínicamente durante más de veinte años en el tratamiento de enfermedad hepática (Friedel H, Goa, K. L. y Benfield P. (1989), "S-Adenosyl-L-methionine: a review of its pharmacological properties and therapeutic potential in liver dysfunction and affective disorders in relation to its physiological role in cell metabolism", *Drugs*, 38.389-416), artritis (Di Padova C, (1987), "SAMe in the treatment of osteoarthritis: review of the clinical studies", *Am J. Med.* 83, (Suppl. 5), 6-65) y depresión (Kagan, B, Sultz D. L., Rosenlicht N y Gemer R. (1990), "Oral S-adenosylmethionine in depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial", *Am. J. Psychiatry* 147, 591-595). Los pacientes de Alzheimer tienen niveles reducidos de SAMe en el líquido cefalorraquídeo (Bottiglieri *et al.* (1990), "Cerebrospinal fluid SAMe in depression and dementia: effects of treatment with parenteral and oral S-adenosyl-1-methionine", *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 53, 1096-1098). En un estudio preliminar, SAMe pudo producir una mejora cognitiva en pacientes con enfermedad de Alzheimer (Bottiglieri *et al.* (1994), "The clinical potential of admetionine (S-adenosyl-1-methionine) in neurological disorders", *Drugs* 48, 137-152).

40 Los niveles cerebrales de SAMe en pacientes con enfermedad de Alzheimer también están gravemente disminuidos (Morrison *et al.*, (1996), "Brain S-adenosylmethionine levels are severely decreased in Alzheimer's disease", *Journal of Neurochemistry*, 67, 1328-1331). También se ha demostrado que los pacientes con enfermedad de Parkinson tienen niveles sanguíneos de SAMe significativamente reducidos. (Cheng *et al.*, (1997), "Levels of L-methionine S-adenosyltransferase activity in erythrocytes and concentrations of S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine in whole blood of patients with Parkinson's disease", *Experimental Neurology* 145, 580-585). La administración oral de SAMe a pacientes con y sin enfermedad hepática ha dado como resultado aumentos en los niveles de glutatión en el hígado (Vendemiale G *et al.*, "Effect of oral SAMe on hepatic glutathione in patients with liver disease", *Scand J Gastroenterol* 1989;24: 407-15).

50 La administración oral de SAMe a pacientes que padecían colestasis intrahepática tuvo mejoras tanto en el prurito como en los marcadores bioquímicos de colestasis (Giudici *et al.*, "The use of admetionine (SAMe) in the treatment of cholestatic liver disorders", *Meta-analysis of clinical trials*, Mato *et al.* editores, *Methionine Metabolism: Molecular Mechanism and Clinical Implications*. Madrid: CSIC Press; 1992 pp 67-79). La administración oral de SAMe a pacientes que padecían fibromialgia primaria dio como resultado una mejora significativa después de un ensayo a corto plazo (Tavoni *et al.*, "Evaluation of S-adenosylmethionine in Primary Fibromyalgia", *The American Journal of Medicine*, Vol 83 (supl. 5A), pp 107-110, 1987). Lee Hong Kyu desveló en una solicitud de patente publicada PCT N.º WO 02/092105 (21 de noviembre de 2002) que SAMe podría usarse para tratar la diabetes y la resistencia a la insulina.

60 Un informe de pruebas publicado recientemente titulado "SAMe for the treatment of depression, osteoarthritis and liver disease" proporciona datos tanto de seguridad como de efectividad clínica para SAMe (Informe de evidencia número 64, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Healthcare Research and Quality. octubre de 2002).

65 SAMe es clínicamente útil en muchas áreas aparentemente no relacionadas debido a su importante función en los procesos metabólicos básicos. Uno de sus usos clínicos más llamativos es en el tratamiento de la cirrosis hepática alcohólica que, hasta ahora, permaneció médicalemente intratable. Se ha demostrado la capacidad de la SAMe oral en la cirrosis hepática alcohólica en la disminución de la mortalidad general y/o la progresión al trasplante de hígado en

un 29 % frente a un 12 % en comparación con un grupo tratado con placebo (Mato *et al.* (1999), "S-adenosylmethionine in alcohol liver cirrhosis: a randomized, placebo-controlled, double blind, multi-center clinical trial", *Journal of Hepatology*, 30, 1081-1089). El amplio uso clínico de SAMe ha demostrado su eficacia, así como su ausencia de toxicidad, en una serie de afecciones clínicas diferentes.

5 SAMe presenta ciertos problemas difíciles en términos de su estabilidad a temperatura ambiente que dan como resultado la degradación de la molécula a productos de degradación indeseables tales como la metiltioadenosina. Además, la mayoría de las sales que se usan para estabilizar la SAMe son basadas en azufre y estas sales basadas en azufre son la causa más probable del malestar gastrointestinal que los pacientes informan como motivo para interrumpir el tratamiento.

10 SAMe ha sido objeto de numerosas patentes dirigidas tanto a la obtención de sales estables de SAMe como hacia la provisión de procesos de preparación que pueden implementarse a escala industrial. Existen numerosas patentes que describen sales de SAMe, pero ninguna describe sales de ácido indol-3-propiónico (IPA) de SAMe. La Pat. de EE.UU.

15 N.º 3.893.999 desvela una nueva sal de SAMe hecha con tri-*p*-toluensulfonato pero no el uso de ácido indol-3-propiónico para formar una sal estable de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU.

N.º 3.954.726 desvela sales dobles de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar una sal estable de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 4.028.183 desvela, entre otros, *p*-toluenosulfonato como un medio para estabilizar la molécula de SAMe, pero no describe el uso de ácido indol-

20 3-propiónico para formar una sal estable de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 4.057.686 desvela sales estables de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 4.465.672 desvela

25 nuevas sales de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 4.543.408 desvela nuevas sales de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 4.558.122 desvela nuevas sales de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 4.990.606 desvela nuevas sales de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe. La Solicitud de Patente Publicada de EE.UU. N.º 2003/0032796 desvela sales sulfónicas no

30 tóxicas de SAMe, en particular SAMe disulfato resorcinol-4,6-disulfonato, SAMe disulfato catecol-3,5-disulfonato y SAMe disulfato fenol-2,4,6-trisulfonato y sus sales de sodio. La solicitud de patente publicada PCT N.º WO 2007/004244 desvela sales de SAMe de ácido fítico, posiblemente salificado parcialmente con cationes metálicos.

35 Además, La Pat. de EE.UU. N.º 5.102.791 desvela, entre otros, una sal de 1,4-butanodisulfonato de SAMe pero no el uso de ácido indol-3-propiónico para formar una sal estable de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. La Pat. de EE.UU. N.º 5.114.931 desvela sales de SAMe inyectables pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU.

N.º 5.128.249 desvela nuevas sales de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe. La Pat. de EE.UU. N.º 3.707.536 desvela una nueva sal bisulfato de SAMe pero no el uso de ácido

40 indol-3-propiónico para formar una sal estable de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. La Pat. de EE.UU. N.º 4.109.079 desvela nuevas sales estables de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 4.242.505 desvela nuevas sales estabilizadoras de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe. La Pat. de EE.UU. N.º 4.369.177 desvela composiciones estables de SAMe y sales

45 de SAMe usando una sal de un metal bivalente o trivalente pero no desvela el uso de sales de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 5.166.328 no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

50 Adicionalmente, la Pat. de EE.UU. N.º 2.969.353 desvela un método para la preparación de SAMe y una sal estable de SAMe pero no el uso de ácido indol-3-propiónico para formar una sal estable de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 4.764.603 desvela el uso de nuevas sales de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar una sal estable de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 5.073.546 desvela nuevas sales de SAMe pero no desvela el uso de ácido indol-3-

55 propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La Pat. de EE.UU. N.º 6.117.849 desvela el uso de SAMe complejado con nucleósidos como inhibidores del VIH pero no desvela el uso de ácido indol-3-propiónico para formar sales estables de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

#### Ácido indol-3-propiónico (IPA)

60 El ácido indol-3-propiónico (ácido 3-(3-indolil) propiónico) (IPA) es un compuesto natural que se encuentra en plantas y animales, incluyendo seres humanos. Se ha encontrado en plasma y líquido cefalorraquídeo de mamíferos, incluyendo plasma y líquido cefalorraquídeo humano. El ácido indol-3-propiónico y SAMe están disponibles en el mercado.

65 IPA, aunque es un compuesto natural que se encuentra en el plasma de los mamíferos, incluyendo el plasma humano

como subproducto de la microflora intestinal, puede descomponerse en subproductos de degradación que pueden ser potencialmente tóxicos. Pueden formarse subproductos potencialmente tóxicos a través de una reacción de oxidación, especialmente en presencia de luz.

- 5 La presencia de tales subproductos tóxicos puede determinarse fabricando una solución acuosa de IPA y observando la solución a lo largo del tiempo. La degradación aumenta con la luz y a pH básico y la solución desarrollará un color amarillo, o se observará un aumento de la absorción de UV a 420 nm. Una coloración amarilla de la solución también podría deberse a la formación de ácido cinúrico y, para diferenciar el ácido cinúrico del producto de degradación potencialmente tóxico, puede determinarse el pico de absorción de fluorescencia UV del producto tóxico, que se ha informado a una longitud de onda ligeramente superior a 420 nm.

10 Las composiciones que comprenden IPA y SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, se desvelan en las solicitudes de patente publicadas de EE.UU. N.º 2010/0004191 y 2006/0127506. Sin embargo, las 15 composiciones desveladas en las mismas no son sales de IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas. Adicionalmente, las composiciones desveladas en las mismas no resolvieron el problema de la degradación del IPA.

20 Por lo tanto, existe una gran necesidad en la técnica de sales IPA estables de SAMe que no solo ofrezcan una estabilidad superior de la molécula de SAMe *per se*, sino que también ofrezcan pocos efectos secundarios gastrointestinales de las sales de SAMe previamente conocidas y una estabilidad de IPA aumentada. También existe la necesidad de métodos dirigidos al uso terapéutico de tales sales para aumentar los niveles de SAMe en sangre y otros tejidos y fluidos y para tratar afecciones que resultan de niveles bajos de SAMe en sangre y tejidos. También existe una necesidad en la técnica de rutas sintéticas para producir tales sales IPA estables de SAMe y sales de las 25 mismas. La presente invención satisface estas necesidades y proporciona ventajas adicionales relacionadas.

## 25 **Sumario de la invención**

30 La presente invención está dirigida a sales estables de ácido indol-3-propiónico (IPA) de S-adenosil-L-metionina (SAMe), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, a composiciones farmacéuticas que comprenden las sales, a métodos terapéuticos para el uso de las mismas y a métodos sintéticos para la preparación de estas sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas. Estas sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, tienen utilidad en el aumento de los niveles de metilación de ADN y ARN y los niveles de sangre y otros tejidos o fluidos de SAMe en un mamífero, preferentemente, un ser humano, además de tratar o prevenir una amplia diversidad de afecciones asociadas a la hipometilación del ADN, la hipometilación del 35 ARN, la hipometilación de proteínas, niveles reducidos de SAMe en sangre y tejido.

En consecuencia, en un aspecto, esta invención está dirigida a una sal de ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

40 En otro aspecto, esta invención está dirigida a una sal de ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde la sal farmacéuticamente aceptable de S-adenosil-L-metionina se prepara a partir de ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido fosforoso, ácido disulfónico o ácido 1,4 butanodisulfónico.

45 En otro aspecto, esta invención está dirigida a una sal de ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde la sal farmacéuticamente aceptable de S-adenosil-L-metionina se selecciona de bisulfato de tosílate de S-adenosil-L-metionina, *p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina, bisulfato de S-adenosil-L-metionina, tri-*p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina, di-*p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina, disulfato de S-adenosil-L-metionina, cloruro de S-adenosil-L-metionina, carbonato de S-50 adenosil-L-metionina, bicarbonato de S-adenosil-L-metionina, bromuro de S-adenosil-L-metionina, yoduro de S-adenosil-L-metionina y 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina.

55 En otro aspecto, esta invención está dirigida a una sal de ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde la sal farmacéuticamente aceptable de S-adenosil-L-metionina es *p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina o 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina.

En otro aspecto, la presente invención está dirigida a sal de indol-3-propionato de *p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina o sal de indol-3-propionato de 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina.

60 En otro aspecto, esta invención está dirigida a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad eficaz de una sal de ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

65 En otro aspecto, esta invención está dirigida a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable, una cantidad eficaz de una sal de ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y opcionalmente un potenciador de la absorción.

En otro aspecto, esta invención está dirigida a métodos para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero aliviados por un aumento en los niveles de metilación de ADN y ARN en el mamífero y/o por un aumento en los niveles de S-adenosil-L-metionina en sangre y otros tejidos del mamífero, en donde el método comprende administrar al mamífero que lo necesite una cantidad eficaz de una sal del ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable, opcionalmente un potenciador de la absorción y una cantidad eficaz de una sal de ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde la enfermedad o trastorno en el mamífero se selecciona de un trastorno mental o psiquiátrico, una enfermedad o trastorno del sistema nervioso o neurológico, afecciones asociadas a lesiones en el sistema nervioso central, una enfermedad o trastorno hepático, un cáncer, una enfermedad o trastorno de las articulaciones, una enfermedad o trastorno inflamatorio, una enfermedad o trastorno autoinmunitario, una enfermedad o trastorno degenerativo, una enfermedad o trastorno de los tejidos blandos, una enfermedad o trastorno doloroso, trastornos genéticos asociados a hipometilación, una enfermedad o trastorno gastrointestinal, una enfermedad o trastorno cardiovascular y un trastorno inducido total o parcialmente por daño oxidativo o de radicales libres, síndrome metabólico, diabetes tipo 1 y 2 y sus complicaciones.

En otro aspecto, esta invención está dirigida a un proceso de preparación de una sal de ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde el método comprende 1) añadir ácido indol-3-propiónico o una sal del mismo al agua, 2) añadir S-adenosil-L-metionina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, a la solución de ácido indol-3-propiónico a un pH de 1,0 a 6,9, 3) agitar la mezcla de reacción y 4) aislar la sal de indol-3-propiónico de la mezcla de reacción mediante técnicas convencionales.

Las realizaciones específicas de estos aspectos de la invención se describen con más detalle a continuación.

#### **Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 es el espectro de absorción de UV del producto del Ejemplo Sintético 1.  
 La Figura 2 es el espectro de absorción de UV del producto del Ejemplo Sintético 1 obtenido ocho meses después del análisis UV inicial del producto como se muestra en la Figura 1.  
 La Figura 3 es el espectro de absorción de UV del producto del Ejemplo Sintético 2.  
 La Figura 4 es el espectro de absorción de UV del producto del Ejemplo Sintético 2 obtenido ocho meses después del análisis UV inicial del producto como se muestra en la Figura 3.  
 La Figura 5 es el espectro de absorción de UV de una muestra blanco obtenida al mismo tiempo que se obtuvieron los espectros de absorción de UV de las Figuras 1 y 3.  
 La Figura 6 es el espectro de absorción de UV de una muestra blanco obtenida al mismo tiempo que se obtuvieron los espectros de absorción de UV de las Figuras 2 y 4. .

#### **Descripción detallada de la invención**

##### **Definiciones**

A menos que se defina lo contrario en la memoria descriptiva, los siguientes términos y frases tendrán el siguiente significado:

El término "SAMe" se refiere a S-adenosil-L-metionina, como una mezcla racémica de sus diastereoisómeros, como una mezcla no racémica de sus diastereoisómeros o como un diastereoisómero sustancialmente ópticamente puro. Una mezcla no racémica incluye mezclas en las que la relación del diastereoisómero (S,S) S-adenosil-L-metionina al diastereoisómero (R,S) S-adenosil-L-metionina es de aproximadamente el 1 % al 99 % o donde la proporción es aproximadamente del 99 % al 1 %.

La SAMe está disponible en el mercado usando tecnologías de fermentación que dan como resultado formulaciones de SAMe que varían entre el 60 y el 80 % de pureza (es decir, el producto final contiene el 60-80 % del diastereoisómero activo ((S,S)-SAMe) y el 20-40 % del diastereoisómero inactivo ((R,S)-SAMe) (Gross, A., Geresh, S. y Whitesides, Gm (1983) *Appl. Biochem. Biotech.* 8, 415). Se ha informado que las metodologías sintéticas enzimáticas producen el isómero inactivo en concentraciones superiores al 60 % (Matos, J R, Rauschel F M, Wong, C H, "S-Adenosylmethionine: Studies on Chemical and Enzymatic Synthesis", *Biotechnology and Applied Biochemistry* 9, 39-52 (1987). La Solicitud de Patente Publicada de EE.UU. N.º 2002/0188116 desvela una metodología para sintetizar SAMe pero no desvela ninguna metodología para estabilizar la molécula una vez que se sintetiza. La Solicitud de Patente Publicada de EE.UU. N.º 2002/0173012 también desvela un proceso para la preparación de un diastereómero (S,S) SAMe biológicamente activo relativamente purificado (97 %) pero no desvela la estabilización de la molécula de SAMe por la formación de una sal de IPA de la misma.

La frase "sales farmacéuticamente aceptables" de SAMe incluye, pero no se limita a, sales farmacéuticamente aceptables preparadas a partir de ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido fosforoso, ácido sulfónico y ácido 1,4 butanodisulfónico; y puede incluir las siguientes sales: bisulfato de tosilato de SAMe, SAMe-1,4-

butanodisulfonato, sulfato de SAMe y tosilato de SAMe.

De manera adicional, puede prepararse una sal farmacéuticamente aceptable de SAMe a partir de ácidos sulfónicos seleccionados del grupo que consiste en ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1-*n*-dodecanosulfónico, ácido 1-*n*-octadecanosulfónico, ácido 2-cloroetanosulfónico, ácido 2-bromoetanosulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido 3-hidroxipropanosulfónico, ácido d-1,1-d-1-10-alcanforsulfónico, ácido d-1,d-1-3-bromoalcanfor-10-sulfónico, ácido cisteico, ácido bencenosulfónico, ácido *p*-clorobencenosulfónico, ácido 2-mesitilbencenosulfónico, ácido 4-bifenilsulfónico, ácido 1-naftalenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 5-sulfosalicílico, ácido *p*-aceilbencenosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácidos *o*-bencenodisulfónico y condroitinsulfúrico y sales dobles de dichos ácidos con ácido sulfúrico.

Una sal farmacéuticamente aceptable de SAMe puede seleccionarse además del grupo que consiste en bisulfato de SAMe, tri-*p*-toluenosulfonato de SAMe, di-*p*-toluenosulfonato de SAMe, disulfato de SAMe, cloruro de SAMe, carbonato de SAMe, bicarbonato de SAMe, bromuro de SAMe y yoduro de SAMe.

Las sales de IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención comprenden al menos 0,01 a 1,0 mol de IPA por mol de SAMe o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, una sal IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención comprende al menos 0,01 a 1,0 mol de IPA por mol de sal de 1,4-butanodisulfonato de SAMe. En otra realización, una sal IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención comprende al menos 0,01 a 1,0 mol de IPA por mol de sal de *p*-toluenosulfonato de SAMe. En otra realización, una sal IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención comprende al menos de 0,01 a 2,0 moles de IPA por mol de SAMe (base libre).

El término "IPA" se refiere a ácido indol-3-propiónico.

El término "tratar" o "tratamiento" significa que los síntomas asociados a una o más afecciones asociadas a la hipometilación del ADN, la hipometilación del ARN y la hipometilación de proteínas se alivian o reducen en gravedad o frecuencia y el término "prevenir" significa que se evitan las apariciones posteriores de tales síntomas o que se prolonga la frecuencia entre tales apariciones.

El término "afecciones" incluye enfermedades, lesiones, trastornos, indicaciones y/o aflicciones asociadas a la hipometilación del ADN, la hipometilación de ARN y la hipometilación de proteínas.

Como se ha indicado anteriormente, existen problemas potenciales con la inestabilidad del IPA y la pureza del IPA no siempre está asegurada y contendrá algunos contaminantes. Además, el propio IPA es poco soluble en agua. Por el contrario, la sal IPA de SAMe o una sal de la misma es altamente soluble en agua. La degradación del IPA se evita de esta manera mediante la invención descrita en el presente documento al hacer una sal IPA de SAMe o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Las sales de IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención son más estables a temperatura ambiente durante un período de tiempo más largo que las sales de SAMe previamente conocidas. Adicionalmente, las sales de IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención no provocan molestias gastrointestinales asociadas a menudo con las sales SAMe previamente conocidas. En este sentido, y en vista de la conocida inestabilidad molecular de SAMe a temperatura ambiente a lo largo del tiempo, las sales de IPA de SAMe o una sal de las mismas de la invención son capaces de soportar las condiciones de temperatura ambiente durante largos períodos de tiempo. Dicha característica duplica las condiciones de vida útil en las que las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención se almacenaría.

Adicionalmente, las sales de IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención tienen ventajas adicionales en comparación con las sales previamente conocidas de SAMe, tales como facilidad de fabricación y comodidad de administración.

Las sales de IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención, por lo tanto, proporcionan una configuración más estable tanto para SAMe como para IPA, esencialmente resolviendo así los principales problemas de estabilidad de cada una de estas importantes moléculas biológicamente activas en una etapa. En particular, las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención proporcionan un impedimento estérico a la molécula de SAMe inestable dando como resultado una molécula mucho más estable a lo largo del tiempo. Adicionalmente, las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención hacen que la molécula de IPA incorporada en la misma sea soluble en agua a un coste muy económico.

#### Utilidad, administración y composiciones farmacéuticas

Las sales de IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención tienen una utilidad significativa en una amplia gama de trastornos o afecciones asociados a la hipometilación del ADN, la hipometilación del ARN, niveles reducidos de SAMe en sangre y tejido.

Por lo tanto, en una realización, las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención se administran a un mamífero, preferentemente, un ser humano, que lo necesite para aumentar los niveles de SAMe. En otra realización, las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención se administran a un mamífero, preferentemente, un ser humano, que lo necesite para prevenir o tratar una afección o trastorno asociados a o causados por la hipometilación del ADN, la hipometilación del ARN, niveles reducidos de SAMe en sangre y tejido o la hipometilación de ciertas regiones promotoras de genes cuya expresión se desea controlar o modular. Un ejemplo de esto sería usar las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención para controlar la hipometilación de los elementos LINE-1 o ALU del genoma

5 para tratar o prevenir enfermedades asociadas a la hipometilación global del ADN que se produce en enfermedades del envejecimiento tales como cáncer, osteoartritis, deterioro cognitivo leve, enfermedad de Alzheimer y otras.

10

Una realización adicional proporciona un método para tratar un trastorno seleccionado del grupo que consiste en envejecimiento, osteoartritis, artritis reumatoide, fibromialgia, síntomas de la menopausia tales como sofocos, un trastorno psiquiátrico, una afección inflamatoria, un trastorno del sistema nervioso central (SNC), un trastorno de dolor, un trastorno hepático, un trastorno neurológico, un trastorno gastrointestinal, un trastorno cardiovascular, un trastorno inducido en total o en parte por daño oxidativo o de radicales libres, y un cáncer, que comprende administrar al paciente que lo necesite sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención. En algunas realizaciones, el trastorno es un trastorno hepático seleccionado del grupo que consiste en enfermedad hepática

15

20 alcohólica, enfermedad del hígado graso y hepatitis. En algunas realizaciones, el trastorno es un trastorno gastrointestinal tales como enfermedad inflamatoria del intestino (*Inflammatory Bowel Disease, IBD*), enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa (CU).

25 En algunas realizaciones, el trastorno que se va a tratar con sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención es un trastorno psiquiátrico seleccionado del grupo que consiste en trastornos depresivos, trastornos de la conducta alimentaria, trastorno bipolar, trastornos de abuso, trastornos de dependencia, Trastornos del Eje II, psicosis y trastornos de ansiedad. En algunas realizaciones, el trastorno psiquiátrico es un trastorno de ansiedad seleccionado del grupo que consiste en trastorno de ansiedad generalizada, trastorno de estrés postraumático, trastorno de pánico y trastorno obsesivo compulsivo. En algunas realizaciones, el trastorno psiquiátrico

30

35 es un trastorno depresivo. En algunas realizaciones, el trastorno depresivo es el trastorno depresivo mayor, depresión menor, depresión recurrente breve, distimia o depresión NOS.

En algunas realizaciones, el trastorno psiquiátrico que se va a tratar con sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención es un trastorno alimentario seleccionado del grupo que consiste en bulimia nerviosa, anorexia nerviosa, trastorno por atracones, obesidad o trastorno alimentario NOS. En algunas realizaciones, el trastorno psiquiátrico es trastorno bipolar, un trastorno de abuso o un trastorno de dependencia. En algunas realizaciones, el trastorno psiquiátrico incluye abuso o dependencia de, alcohol, cocaína, codeína, oxicodona, hidrocodona u otros opiáceos.

40 En algunas realizaciones, el trastorno psiquiátrico que se va a tratar con sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención es un trastorno del Eje II seleccionado de trastorno límite de la personalidad. En algunas realizaciones, el trastorno es un trastorno del SNC tales como el síndrome de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer. En algunas realizaciones, el trastorno es un trastorno inflamatorio seleccionado del grupo que comprende lupus eritematoso sistémico, síndrome de Reye, fiebre reumática, rinitis alérgica, miastenia grave, arteritis temporal, vasculitis, psoriasis, dermatitis atópica, rosácea, eczema, alopecia universal, esclerodermia, pénfigo, dermatitis de contacto, espondilitis anquilosante, dermatomiositis, polimiositis, celiaquía, síndrome de Guillain-Barre, demencia por infarto múltiple, daño por reperfusión después de un accidente vascular cerebral, enfermedad de Addison, tiroiditis de Hashimoto, asma, síntomas de inflamación de las vías respiratorias superiores, bronquitis crónica, ateroesclerosis, anemia perniciosa, hepatitis autoinmunitaria, prostatitis, enfermedad inflamatoria pélvica, síndrome de Goodpasture, granulomatosis de Wegener, nefritis crónica, síndrome de Sjogren o conjuntivitis alérgica.

45

50 En algunas realizaciones, la etiología del trastorno que se va a tratar con sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención puede incluir daño oxidativo o de radicales libres, y se selecciona del grupo que comprende síndrome de fatiga crónica, arteritis temporal, vasculitis, demencia por infarto múltiple, enfisema crónico o nefritis crónica. En algunas realizaciones, el trastorno es un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cánceres que se producen en uno o más del hígado, colon, recto, ovarios, uretra, testículos, vejiga, mama, estómago, esófago, páncreas, cabeza y cuello y adenocarcinomas, cáncer de sangre, cáncer de piel y cualquier cáncer metastásico. Además, las sales de IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención son útiles para prevenir o tratar células cancerosas resistentes a quimioterapia así como a radiación.

55

60 Esta invención proporciona además un método para inhibir el crecimiento anormal de células, incluyendo células transformadas, administrando una cantidad eficaz de una sal IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención. El crecimiento celular anormal se refiere al crecimiento celular independiente de los mecanismos reguladores normales (por ejemplo, pérdida de inhibición por contacto). Esto incluye la inhibición del crecimiento tumoral tanto directamente provocando la detención del crecimiento, diferenciación terminal y/o apoptosis de células cancerosas, como indirectamente, inhibiendo la neovascularización de los tumores.

65

Esta invención también proporciona un método para inhibir el crecimiento tumoral mediante la administración de una cantidad eficaz de una sal IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención, a un sujeto, por ejemplo, un mamífero (preferentemente, un ser humano) que necesite dicho tratamiento. En particular, esta invención proporciona un método para inhibir el crecimiento de tumores mediante la administración de una cantidad eficaz de una sal IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención.

5 Los ejemplos de tumores que pueden inhibirse incluyen, pero no se limitan a, cáncer de pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma e incluyendo cáncer de pulmón de células no microcíticas), cánceres de páncreas (por ejemplo, carcinoma de páncreas tales como, por ejemplo, carcinoma pancreático exocrino), cánceres de colon (por ejemplo, carcinomas colorrectales, tales como, por ejemplo, adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), cáncer de próstata incluyendo la enfermedad avanzada, tumores hematopoyéticos de linaje linfoide (por ejemplo, leucemia linfocítica aguda, Linfoma de células B, linfoma de Burkitt), leucemias mieloides (por ejemplo, leucemia mielógena aguda (AML)), cáncer folicular de tiroides, síndrome mielodisplásico (SMD), tumores de origen mesenquimatoso (por ejemplo, fibrosarcomas y rabdomiosarcomas), melanomas, teratocarcinomas, neuroblastomas, gliomas, tumor benigno de la piel (por ejemplo, queratoacantomas), carcinoma de mama (por ejemplo, cáncer de mama avanzado), carcinoma renal, carcinoma de ovario, carcinoma de vejiga y carcinoma epidérmico.

10 Las sales de IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención pueden usarse para otros fines terapéuticos, por ejemplo: a) la sensibilización de los tumores a la radioterapia mediante la administración de las nuevas sales de acuerdo con la invención antes, durante o después de la irradiación del tumor para tratar el cáncer; b) tratar artropatías y afecciones osteopatológicas tales como artritis reumatoide, osteoartritis, artritis juvenil, gota, poliartritis, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante y lupus eritematoso sistémico; c) inhibir la proliferación de células del músculo liso, incluyendo los trastornos proliferativos vasculares, aterosclerosis y reestenosis; d) tratar afecciones inflamatorias y dérmicas tales como colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, rinitis alérgica, enfermedad de injerto contra hospedador, conjuntivitis, asma, SDRA, enfermedad de Behcet, rechazo de trasplante, urticaria, dermatitis alérgica, alopecia grande, esclerodermia, exantema, eczema, dermatomiositis, acné, diabetes, síndrome metabólico, lupus sistémico eritematoso, enfermedad de Kawasaki, esclerosis múltiple, enfisema, fibrosis quística y bronquitis crónica; e) tratar endometriosis, fibroides uterinos, hemorragia uterina disfuncional e hiperplasia endometrial; f) tratar la vascularización ocular, incluyendo la vasculopatía que afecta a los vasos retinianos y coroideos; g) tratar una disfunción cardíaca; h) inhibir condiciones inmunosupresoras tales como el tratamiento de infecciones por VIH; i) tratar la disfunción renal; j) suprimir los trastornos endocrinos; k) inhibir la disfunción de la gluconeogénesis; l) tratar una neuropatología, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson o una neuropatología que da lugar a un trastorno cognitivo, por ejemplo, Enfermedad de Alzheimer o enfermedades neuronales relacionadas con la poliglutamina; m) inhibir una patología neuromuscular, por ejemplo, esclerosis lateral amiotrófica; n) tratar la atrofia muscular espinal; o) tratar otras condiciones patológicas susceptibles de tratamiento potenciando la expresión de un gen; p) potenciar la terapia génica.

15 La administración de las sales IPA de SAMe o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma de la invención a un mamífero, preferentemente, un ser humano, que lo necesite puede ser tópica (incluyendo oftálmica y las membranas mucosas, incluyendo administración vaginal y rectal), pulmonar, por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluyendo por nebulizador; intratraqueal, intranasal, epidérmica y transdérmica), oral o parenteral. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; o intracranial, por ejemplo, administración intratecal o intraventricular.

20 45 En una realización preferida, las sales IPA de SAMe o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma de la invención se administra a un mamífero, preferentemente, un ser humano, como una composición farmacéutica, profiláctica o cosmética que contiene al menos una forma diastereomérica sustancialmente ópticamente pura de una sal IPA de SAMe o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma de la invención o una mezcla no racémica de una sal IPA de (S,S)-S-adenosil-L-metionina y (R,S)-S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, en combinación con al menos un vehículo o diluyente farmacéutica, profiláctica o cosméticamente aceptable y un potenciador de la absorción.

25 55 La administración puede lograrse mediante aplicación sistémica o tópica, dependiendo el modo preferido del tipo y ubicación de las afecciones a tratar. La frecuencia de administración puede variar y típicamente se logra mediante la administración diaria. Las dosis orales típicas para las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención para el tratamiento de las afecciones enumeradas anteriormente en el intervalo de 100 mg a 1600 mg o más por día por paciente administrado en dosis divididas. Ya se han establecido las dosificaciones intravenosas de SAMe o las sales farmacéuticas de la misma y actualmente se están estableciendo dosificaciones orales para el ácido indol-3-propiónico.

30 60 Para aplicaciones profilácticas o terapéuticas, la dosis administrada a un mamífero, preferentemente, un ser humano, en el contexto de la presente invención, debería ser suficiente para efectuar una respuesta beneficiosa en el mamífero a lo largo del tiempo (es decir, una cantidad eficaz). Esta cantidad, que será evidente para el experto en la materia, depende de la especie, la edad y el peso del individuo; el tipo de enfermedad a tratar; en algunos casos, el sexo del individuo; y otros factores que se tienen en cuenta de forma rutinaria al tratar a personas en riesgo de, o que tienen,

una enfermedad.

La administración tópica de las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención puede incluir el uso de parches transdérmicos, pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, 5 pulverizaciones, líquidos y polvos.

En algunas realizaciones, además de la administración de sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, de la invención, uno o más agentes farmacéuticos adicionales seleccionados de vitamina B12 (B12), folato (ácido fólico o una sal biológicamente aceptable del mismo), o ambos pueden administrarse simultáneamente 10 al mamífero, preferentemente, un ser humano, que lo necesite.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden una sal IPA de SAMe o una sal farmacéuticamente aceptable de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable pueden prepararse mediante métodos conocidos por un 15 experto en la técnica y usarse en la administración de las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención. Los vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales son bien conocidos en la técnica.

Por ejemplo, puede prepararse una composición farmacéutica de la invención combinando una sal IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención en mezcla íntima con un vehículo 20 farmacéuticamente aceptable, cuyo vehículo puede adoptar una amplia diversidad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para su administración. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en forma de dosificación unitaria adecuada, preferentemente, para administración por vía oral, por vía rectal, por vía percutánea o por inyección parenteral. Por ejemplo, en la preparación de las sales IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente 25 aceptable de las mismas, de la invención en forma de dosificación oral, puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales (tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o vehículos sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos).

30 Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso obviamente se emplean vehículos farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el vehículo generalmente comprenderá agua estéril, al menos en gran parte, aunque puede incluirse otros ingredientes, para ayudar a la solubilidad, por ejemplo. Las soluciones inyectables, por ejemplo, pueden 35 prepararse en las que el vehículo comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y solución de glucosa. También pueden prepararse suspensiones inyectables, en cuyo caso pueden emplearse vehículos líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares.

En composiciones farmacéuticas de la invención adecuadas para administración percutánea, el vehículo comprende 40 opcionalmente un agente mejorador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, cuyos aditivos no provocan un efecto perjudicial significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones pueden administrarse de diversas formas, por ejemplo, como parche transdérmico, como aplicación en el sitio o pomada.

45 Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas anteriormente mencionadas en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosis. La forma de dosificación unitaria como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones del presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de principio activo, calculado para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo farmacéutico 50 requerido. Algunos ejemplos de tales formas de dosificación unitaria son comprimidos (incluyendo comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, envases de polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas soperas y similares, y múltiples separados de las mismas.

55 Aquellos expertos en la materia podrían determinar fácilmente la cantidad eficaz de una sal IPA de SAMe o una de las sales farmacéuticamente aceptables de la misma de la invención. En general, se contempla que una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal IPA de SAMe o las sales farmacéuticamente aceptables de la misma de la invención sería de 0,005 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal, y en particular de 0,5 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis requerida en dos, tres, cuatro o más subdosis a intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas subdosis pueden formularse como formas de dosificación unitarias, por ejemplo, 60 conteniendo de 0,5 a 500 mg, y en particular de 10 mg a 500 mg de principio activo por forma de dosificación unitaria.

Las composiciones farmacéuticas para la administración oral de una sal IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención también pueden incluir espesantes, aromatizantes, diluyentes, emulsionantes, adyuvantes de dispersión, aglutinantes o potenciadores de la absorción.

65 Los potenciadores de la absorción pueden ser de aproximadamente el 0,0025 % a aproximadamente el 100 % del

peso del principio activo en las composiciones farmacéuticas de esta invención. Sin embargo, la mejor concentración de potenciadores de la absorción en relación con el peso de la sal IPA de SAMe o sal farmacéuticamente aceptable de la misma de la invención es la concentración o cantidad de potenciadores de la absorción que dan como resultado el aumento máximo en la absorción de la sal IPA de SAMe o sal farmacéuticamente aceptable de la misma de la invención. Esa cantidad o concentración se determina fácilmente mediante análisis farmacocinéticos como se describe en la técnica farmacéutica conocida.

Los potenciadores de la absorción típicos se eligen del grupo que consiste en quitosano, derivados de quitosano, tales como pero no limitados a, cloruro de quitosano, trimetil quitosano, homopolímero de trimetilquitosano, polí(ácido acrílico), citocalasina D; caprato, espermina, taurocolato (incluyendo el sodio y otras formas de sal) y otros ácidos biliares y/o sus sales (tales como ácido cólico, colato de sodio o colato de potasio), así como agentes identificados más recientemente que incluyen péptidos derivados de la toxina zonula occludens o enterotoxina de *Clostridium perfringens*, ácidos grasos saturados y/o insaturados o sus correspondientes sales de carboxilato (por ejemplo, ácidos grasos C6-C24, o sus sales de carboxilato, especialmente ácidos grasos C8-C22, o sales de carboxilato de los mismos, ácidos grasos C10-C20 o sales de carboxilato de los mismos, ácidos grasos C6-, C7-, C8-, C9-, C10-, C11-, C12-, C13-, C14-, C15-, C16-, C17-, C18-, C19-, C20-, C21-, C22 o sales de carboxilato de los mismos), ácidos sulfónicos saturados e insaturados y sales de sulfonato de los mismos (por ejemplo, ácidos sulfónicos C6-C24 o sales de sulfonatos, especialmente ácidos sulfónicos C8-C22 o sales de sulfonatos, ácidos sulfónicos C10-C20 o sales de sulfonatos, ácidos sulfónicos C8-, C9-, C10-, C11-, C12-, C13-, C14-, C15-, C16-, C17-, C18-, C19-, C20-, C21-, C22 o sales de sulfonatos); tensioactivos zwitteriónicos (por ejemplo, 3-(N,N-dimetilpalmítilamonio) propanosulfonato, sulfonato de decildimetil amonio propano, sulfonato de propoano de miristildimetil amonio, cocamidopropil hidroxisultaína (ChemBetaine.RTM. CAS), oleil betaína (ChemBetaine.RTM. Oleyl), o cloruro de palmitoil carnitina); aminas grasas (por ejemplo, aminas grasas C6-C24, especialmente aminas grasas C8-C22, aminas grasas C10-C20, aminas grasas C6-, C7-, C8-, C9-, C10-, C11-, C12-, C13-, C14-, C15-, C16-, C17-, C18-, C19-, C20-, C21-, C22), así como otros ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido tartárico) y ciclodextrinas (por ejemplo, alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina o gamma-ciclodextrina) y labrasol.

Los ácidos grasos ejemplares que pueden usarse como potenciadores de la absorción incluyen hexanoico, heptanoico, cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmitíco, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido miristoleico, ácido palmitoleico, ácido sapiénico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido  $\alpha$ -linolénico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido erucídico, ácido docosahexaenoico.

Las sales de carboxilato ejemplares que pueden usarse como potenciadores de la absorción incluyen caprato, caprilato, laurato, miristato, palmitato, estearato, araquidato, miristoleato, palmitoleato, sapienato, oleato, linoleato,  $\alpha$ -linolenato, araquidonato, eicosapentaenoato, erucato, docosahexaenoato, de sodio o potasio. Las sales de carboxilato específicas incluyen caprato de sodio, caprilato de sodio y laurato de sodio. Las aminas grasas específicas que pueden usarse incluyen lauril amina (N-dodecilamina), decilamina, nonilamina, octilamina, heptilamina o hexilamina.

Los ácidos sulfónicos ejemplares que pueden usarse como potenciadores de la absorción incluyen ácido octanosulfónico, ácido decanosulfónico (por ejemplo, 1-decanosulfonato de sodio), ácido dodecano sulfónico, ácido tetradecano sulfónico, ácido hexadecano sulfónico, ácido octadecano sulfónico, ácido eicosano sulfónico, ácido docosanosulfónico o ácido tetracosanosulfónico. Los ácidos sulfónicos específicos que se pueden mencionar incluyen sulfosuccinato de dioctil sodio.

En algunas realizaciones, los potenciadores de la absorción usados en las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser un tensioactivo zwitteriónico tales como una acil carnitina. En algunas realizaciones, dicha acil carnitina es una palmitoil carnitina, laurooil carnitina, estearoil carnitina, miristoil carnitina, decanoil carnitina, o una sal de las mismas. En algunas realizaciones, dicho tensioactivo zwitteriónico es una sulfobetaína. En algunas realizaciones, dicha sulfobetaína es sulfobetaína-10, sulfobetaína-12, sulfobetaína-14, sulfobetaína-16 o sulfobetaína-18.

La invención también se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden una dosis fisiológicamente aceptable de una sal IPA de SAMe o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma de la invención y al menos un potenciador de la absorción. En realizaciones preferidas, dicho potenciador de la absorción se co-formula con la dosis fisiológicamente aceptable de una sal IPA de SAMe o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma de la invención.

#### Preparación de sales IPA de SAMe, o sales farmacéuticamente aceptables de las mismas

En general, las sales IPA de SAMe, o las sales farmacéuticamente aceptables de las mismas, de la invención se preparan 1) añadiendo ácido indol-3-propiónico (o una sal del mismo) al agua; 2) añadiendo S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, a la solución de ácido indol-3-propiónico a un pH de 1,0 a 6,9; 3) agitando la mezcla de reacción; 4) aislando el producto de la mezcla de reacción; y, opcionalmente, 5) liofilizar el producto para producir un polvo estable.

La liofilización final se lleva a cabo mediante los métodos habituales, para dar una sal IPA del 100 % de pureza. Puede

usarse cualquier método de secado para obtener un polvo, por ejemplo, secado por pulverización, pero el método preferido es la liofilización.

5 La estabilidad de la sal de IPA puede evaluarse mediante el método descrito en Bottiglieri, T. (1990), *Biomed Chromatogr*, 4(6):239-41.

10 Los siguientes ejemplos ilustran procesos sintéticos mediante los cuales las sales IPA de SAMe, o sales farmacéuticamente aceptables, de las mismas de la invención pueden fabricarse. Las sales conocidas de ácido indol-3-propiónico pueden usarse en la siguiente síntesis ya que el IPA en sí mismo es poco soluble en agua. Estos ejemplos 15 se proporcionan para ilustrar la presente invención, aunque no a modo de limitación. En consecuencia, el alcance de esta invención no debe determinarse por las realizaciones ilustradas, sino más bien por las reivindicaciones adjuntas.

#### EJEMPLO SINTÉTICO 1

15 Indol-3-propionato de *p*-toluenosulfonato S-adenosil-L-metionina

A. A una solución agitada de *p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina (100 mg, 0,128 mmol, Sigma Aldrich lote n.º 021M5158V) en agua de calidad HPLC (2,5 ml) se añadió carbonato de bario (125 mg, 0,63 mmol) y se agitó 20 durante 5 minutos y se dejó reposar durante otros 5 minutos. La base libre de S-adenosil-L-metionina generada se filtró de la sal precipitada de *p*-toluenosulfonato directamente en un vial que contiene ácido indol-3-propiónico (IPA) (67 mg, 0,354 mmol, Sigma Aldrich lote n.º 1431484V) y se agita vigorosamente durante 1 h. La suspensión resultante se liofilizó para producir un sólido blanco. El sólido resultante se lavó con acetato de etilo (3x3 ml) y se filtró. El sólido filtrado se secó para producir 109 mg de sal de indol-3-propionato de *p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina; 25  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  = 8,14 (s), 7,6 (d), 7,34 (d), 7,2 (d) 6,98-7,09 (m) 5,97 (s) 4,80-4,83 (s) 4,2-4,6 (m), 3,2-3,91 (m), 2,7-3,0 (m), 2,45 (t), 2,1-2,3 (s).

B. Los lavados de acetato de etilo anteriores se combinaron y se concentraron a presión reducida para producir 55 mg de ácido indol-3-propiónico como un sólido blanco;  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  7,6 (d, 1H), 7,34 (d, 1H), 6,98-7,09 (m, 3H), 2,9-3,0 (m, 2H), 2,65-2,35 (m, 3H).

#### EJEMPLO SINTÉTICO 2

##### Indol-3-propionato de 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina

35 Una solución de 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina (4,10 g, 6,67 mmol, Sigma Aldrich lote n.º 021M5158V) en agua de calidad HPLC (20 ml) se enfrió a 0 °C y se midió el pH de la solución (pH 1,6) y se ajustó a pH 7 mediante la adición lenta de hidróxido de sodio al 10 % a 0-5 °C. Se añadió una solución de ácido indol-3-propiónico (5,50 g, 26,7 mmol, Sigma Aldrich lote n.º 1431484V) en metanol y la mezcla de reacción se diluyó con metanol para convertirla en una solución uniforme con un pH de aproximadamente 5,3. La solución se agitó durante 40 treinta minutos y se concentró a presión reducida para retirar el metanol. La solución acuosa residual se liofilizó para retirar el agua. El polvo seco obtenido de esta manera se suspendió en metanol y se agitó durante 10 minutos para retirar el exceso de ácido indol-3-propiónico. La sal se retiró por filtración y se lavó con metanol para obtener 4,0 gramos de sal de indol-3-propionato de 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina;  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  8,14 (d), 7,54 (d), 7,34 (d), 6,98-7,09 (m), 5,97 (d), 4,80-4,83 (t), 4,42-4,48 (m), 3,2-3,91 (m), 2,80-2,89 (m), 2,20-2,23 (m), 1,70-1,75 (m). El análisis del producto por cromatografía en capa fina no mostró presencia de ácido indol-3-propiónico libre; el análisis por RMN mostró una incorporación del 19,4 % de ácido indol-3-propiónico.

##### Análisis UV del producto del Ejemplo sintético 1 y del Ejemplo sintético 2

50 Se obtuvieron espectros de absorción de luz ultravioleta-visible para el producto del Ejemplo sintético 1 y el producto del Ejemplo sintético 2 (véase la Figura 1 y la Figura 2, respectivamente). También se obtuvo un espectro de absorción de luz ultravioleta-visible al mismo tiempo para una muestra blanco (véase la Figura 5) con fines de control.

55 El producto del Ejemplo Sintético 1 y el producto del Ejemplo Sintético 2 se almacenaron después durante ocho meses a temperatura ambiente, después de lo cual se obtuvieron los espectros de absorción de luz ultravioleta-visible para los productos almacenados (véase la Figura 2 y la Figura 4). También se obtuvo un espectro de absorción de luz ultravioleta-visible al mismo tiempo para una muestra blanco (véase la Figura 6) con fines de control.

60 No se detectaron productos de degradación de SAMe por HPLC o por los espectros de absorción UV, mostrando así que la molécula de SAMe permaneció estable durante 8 meses a temperatura ambiente. Esto está en marcado contraste con la naturaleza inestable de, por ejemplo, las sales previamente conocidas de SAMe, tales como las sales de tosilato o 1,4-butanodisulfonato, cuya estabilidad puede determinarse de la misma manera que se describe en el presente documento. Adicionalmente, no se observaron picos de absorción máxima a 420 nm en ninguno de los 65 espectros de absorción UV obtenidos, indicando la ausencia de los productos tóxicos de degradación del IPA incorporado.

## EJEMPLO BIOLÓGICO 1

Ensayo de permeabilidad *in vitro*

5 El siguiente ensayo de permeabilidad *in vitro* se realizó para determinar la efectividad de ciertos potenciadores de la absorción para aumentar la permeabilidad de una sal IPA de SAMe, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, de la invención. Véase Stewart, BH, et al. (1995) "Comparison of intestinal permeabilities determined in multiple *in vitro* and *in situ* models: Relationship to absorption in humans", *Pharm. Res.* 12:693.

10 Compuesto de prueba

El compuesto de prueba fue la sal IPA de 1,4-butanodisulfonato de SAMe (el producto del Ejemplo Sintético 2) (SAMeIPA). La concentración del compuesto de prueba usado en el ensayo fue 2 mM.

15 Potenciadores de la absorción

Los potenciadores de la absorción probados con el compuesto de prueba en este ensayo fueron homopolímero de trimetilquitosano (HPTMC), trimetil quitosano (TMC) y quitosano HCl (quitosano).

20 Formulaciones de prueba

Se probaron las siguientes formulaciones:

- 25 1. SAMeIPA (sin potenciador de absorción añadido)  
 2. SAMeIPA y quitosano al 0,025 %  
 3. SAMeIPA y quitosano al 0,25 %  
 4. SAMeIPA y TMC al 2,5 %  
 5. SAMeIPA y HPTMC al 2,5 %

30 Controles

Se usó ranitidina para el control de baja permeabilidad y warfarina para el control de alta permeabilidad.

35 Métodos analíticos

35 La señal se optimizó para cada formulación de prueba mediante el modo de ionización ESI positivo o negativo. Se usó un barrido MS2 o un barrido SIM para optimizar la tensión del fragmentador y se usó un análisis de iones de producto para identificar el mejor fragmento para el análisis, y se optimizó la energía de colisión usando un barrido de iones de producto o MRM. Se asignó una clasificación de la ionización que indicaba la facilidad de ionización del compuesto.

40 45 Las muestras se analizaron mediante LC/MS/MS usando un espectrómetro de masas Agilent 6410 con un Agilent 1200 HPLC y un automuestreador enfriado CTC PAL, todo controlado por el software MassHunter (Agilent). Después de la separación en una columna de HPLC de fase inversa C18 (Agilent, Waters, o equivalente) usando un sistema de gradiente de acetonaítrilo-agua, se analizaron los máximos mediante espectrometría de masas (EM) usando ionización ESI en modo MRM.

La permeabilidad de SAMe e IPA se midió de forma independiente.

50 Condiciones experimentales

50 Las células Caco-2 cultivadas en matraces de cultivo de tejidos se tripsinizaron, se suspendieron en medio y las suspensiones se aplicaron a pocillos de un BioCoat Cell Environment recubierto de colágeno en formato de 96 pocillos. Se permitió el crecimiento y la diferenciación de las células durante tres semanas, con alimentación a intervalos de 2 días.

55 60 Para la permeabilidad apical a basolateral (A->B), la formulación de prueba se añadió al lado apical (A) y se determina la cantidad de permeación en el lado basolateral (B); para la permeabilidad basolateral a apical (B->A), a formulación de prueba se añadió al lado B y se determinó la cantidad de permeación en el lado A. El tampón del lado A contenía tinte amarillo Lucifer a 100  $\mu$ M, en tampón de transporte (glucosa a 1,98 g/l en HEPES 10 mM, Ix solución salina equilibrada de Hank) pH 6,5, y el tampón del lado B era tampón de transporte, pH 7,4. Las células CaCo-2 se incubaron con estos tampones durante 2 horas y el tampón del lado del receptor se retiró para su análisis por LC/MS/MS.

Para verificar que las monocapas de células Caco-2 se formaron correctamente, se analizaron alícuotas de los tampones celulares mediante fluorescencia para determinar el transporte del tinte impermeable amarillo Lucifer.

65 Los datos se expresaron como permeabilidad aparente ( $P_{ap}$ ).

Resultados

Los resultados del ensayo se muestran a continuación en la Tabla 1:

5

TABLA 1

Formulación de prueba	Analito	media A-> B $P_{ap}$	Comentarios
Ranitidina	Ranitidina	0,3	control de permeabilidad bajo
Warfarina	Warfarina	40,1	control de permeabilidad alta
SAMeIPA	SAMe	0,20	
SAMeIPA y quitosano al 0,025 %	SAMe	0,98	aumento de 4,9 veces
SAMeIPA y quitosano al 0,25 %	SAMe	1,9	aumento de 9,5 veces
SAMeIPA y TMC al 2,5 %	SAMe	0,93	aumento de 4,7 veces
SAMeIPA y HPTMC al 2,5 %	SAMe	7,5	aumento de 37,5 veces
SAMeIPA	IPA	0,20	
SAMeIPA y quitosano al 0,025 %	IPA	0,98	aumento de 4,9 veces
SAMeIPA y quitosano al 0,25 %	IPA	1,9	aumento de 9,5 veces
SAMeIPA y TMC al 2,5 %	IPA	0,93	aumento de 4,7 veces
SAMeIPA y HPTMC al 2,5 %	IPA	7,5	aumento de 37,5 veces

Análisis

10 La línea celular Caco-2 deriva de un carcinoma colorrectal humano y se usa ampliamente para modelos de cultivo celular *in vitro* para el estudio de la absorción de fármacos gastrointestinales. En estos modelos, se cultivan líneas celulares puras en una membrana semipermeable. Las formulaciones de fármacos se colocan en el lado apical o basolateral de la monocapa celular y el transporte se determina mediante la medición de las concentraciones de fármaco en el otro lado de la membrana.

15 Como un ejemplo, el efecto de los potenciadores de la absorción (y específicamente los agentes de apertura de uniones estrechas tales como el quitosano, cloruro de quitosano, trimetilquitosano y homopolímero de trimetilquitosano) en la permeabilidad de Caco-2 de la sal de indol-3-propionato de 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina se compara con la absorción de la sal de indol-3-propionato de 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina sin ningún potenciador de la absorción añadido. La warfarina es un marcador de alta permeabilidad y se usó como control positivo para una molécula fácilmente absorbida.

20 Los resultados anteriores en la Tabla 1 muestran que la absorción de S-adenosil-L-metionina es baja para la sal de indol-3-propionato de 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina sin ningún potenciador de la absorción añadido, como lo demuestra un bajo coeficiente de permeabilidad aparente.

25 El valor de permeabilidad medido de la sal de indol-3-propionato de 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina fue mucho más bajo que el medido con el marcador de alta permeabilidad, warfarina. Los diferentes potenciadores de la absorción muestran diferentes perfiles de mejora de la permeabilidad como lo demuestran los diferentes aumentos de la permeabilidad a la S-adenosil-L-metionina, con el mayor aumento en la permeabilidad mostrado utilizando homopolímero de trimetilquitosano como potenciador de la absorción (aumento de 37,5 veces).

30 El ácido indol-3-propiónico también se absorbe mal y, por lo tanto, también se estudiaron en este ensayo los efectos de los diferentes potenciadores de la absorción. Sin embargo, en contraste con los aumentos significativos en la permeabilidad de la S-adenosil-L-metionina, el ácido indol-3-propiónico mostró un ligero aumento en la permeabilidad con los diversos potenciadores de la absorción.

35 Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto detalle para facilitar la comprensión, será evidente que pueden practicarse ciertos cambios y modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. En consecuencia, las realizaciones descritas deben considerarse ilustrativas y no restrictivas y la invención no está limitada a los detalles dados en el presente documento, sino que puede modificarse dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

1. Una sal de ácido indol-3-propiónico de S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 5 2. La sal de ácido indol-3-propiónico de la reivindicación 1 en donde la sal farmacéuticamente aceptable de S-adenosil-L-metionina se prepara a partir de ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido fosforoso, ácido disulfónico o ácido 1,4 butanodisulfónico.
- 10 3. La sal de ácido indol-3-propiónico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde la sal farmacéuticamente aceptable de S-adenosil-L-metionina se selecciona de bisulfato de tosilato de S-adenosil-L-metionina, *p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina, bisulfato de S-adenosil-L-metionina, tri-*p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina, di-*p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina, disulfato de S-adenosil-L-metionina, cloruro de S-adenosil-L-metionina, carbonato de S-adenosil-L-metionina, bicarbonato de S-adenosil-L-metionina, bromuro de S-adenosil-L-metionina, yoduro de S-adenosil-L-metionina y 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina.
- 15 4. La sal del ácido indol-3-propiónico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde la sal farmacéuticamente aceptable de S-adenosil-L-metionina es *p*-toluenosulfonato de S-adenosil-L-metionina o 1,4-butanodisulfonato de S-adenosil-L-metionina.
- 20 5. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad eficaz de una sal de ácido indol-3-propiónico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 25 6. La composición farmacéutica de la reivindicación 5 que comprende además uno o más potenciadores de la absorción.
- 30 7. Una sal de ácido indol-3-propiónico de las reivindicaciones 5 o 6 para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno en un mamífero aliviado por un aumento en los niveles de metilación de ADN y ARN en el mamífero y/o por un aumento en los niveles de S-adenosil-L-metionina en sangre y otros tejidos del mamífero, en donde el método comprende administrar al mamífero que lo necesite una cantidad eficaz de una sal de ácido indol-3-propiónico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6 y en donde la enfermedad o trastorno en el mamífero se selecciona de un trastorno mental o psiquiátrico, una enfermedad o trastorno del sistema nervioso o neurológico, afecciones asociadas a lesiones en el sistema nervioso central, una enfermedad o trastorno hepático, un cáncer, una enfermedad o trastorno de las articulaciones, una enfermedad o trastorno inflamatorio, una enfermedad o trastorno autoinmunitario, una enfermedad o trastorno degenerativo, una enfermedad o trastorno de los tejidos blandos, una enfermedad o trastorno doloroso, trastornos genéticos asociados a hipometilación, una enfermedad o trastorno gastrointestinal, una enfermedad o trastorno cardiovascular y un trastorno inducido total o parcialmente por daño oxidativo o de radicales libres, síndrome metabólico, diabetes tipo 1 y 2 y sus complicaciones.
- 35 8. Un proceso para preparar una sal del ácido indol-3-propiónico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde el método comprende:
  - 1) añadir ácido indol-3-propiónico o una sal del mismo al agua,
  - 2) añadir S-adenosil-L-metionina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, a la solución de ácido indol-3-propiónico a un pH de 1,0 a 6,9,
  - 3) agitar la mezcla de reacción y
  - 4) aislar el producto de la mezcla de reacción.
- 40
- 45

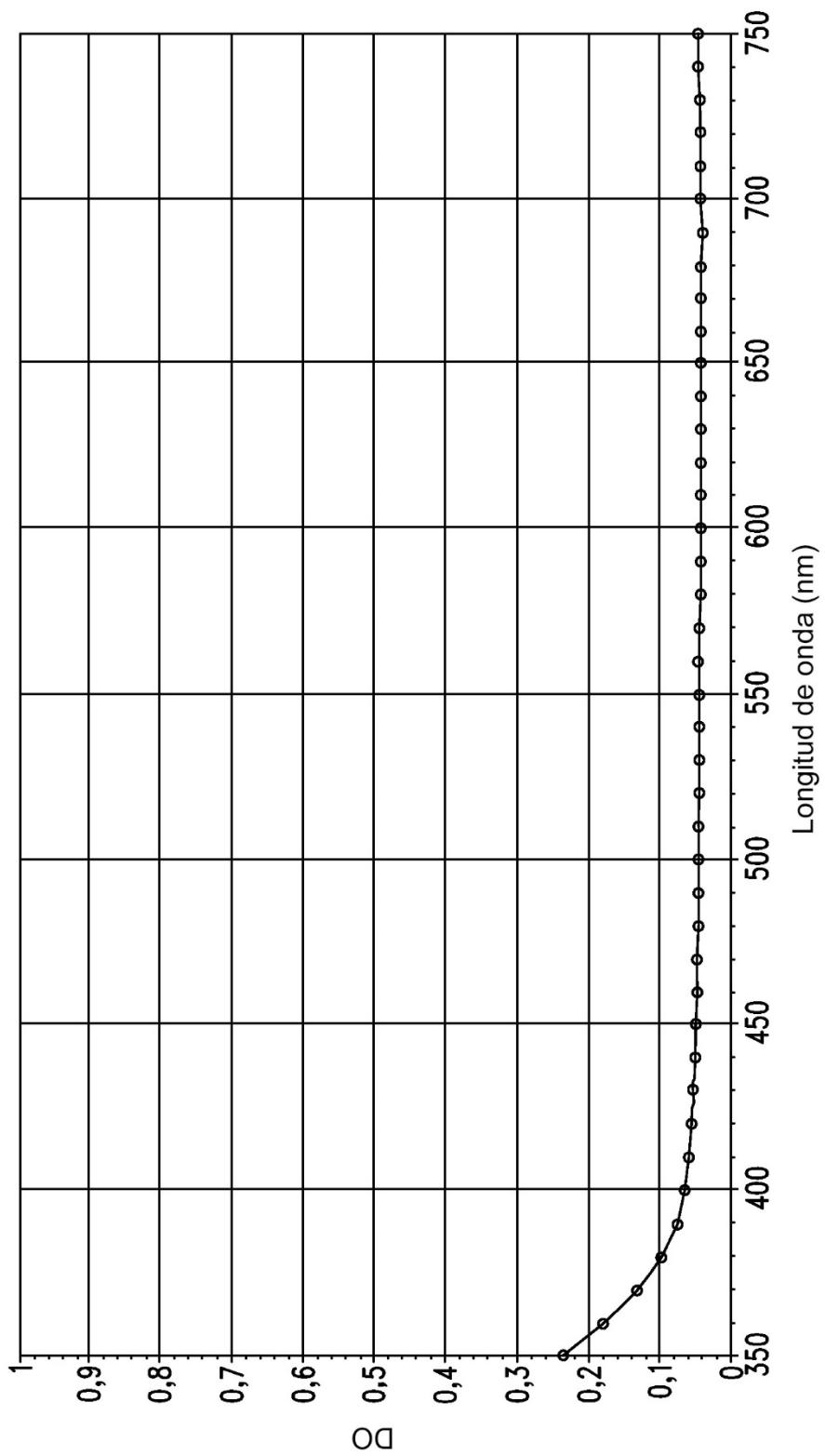


FIG. 1

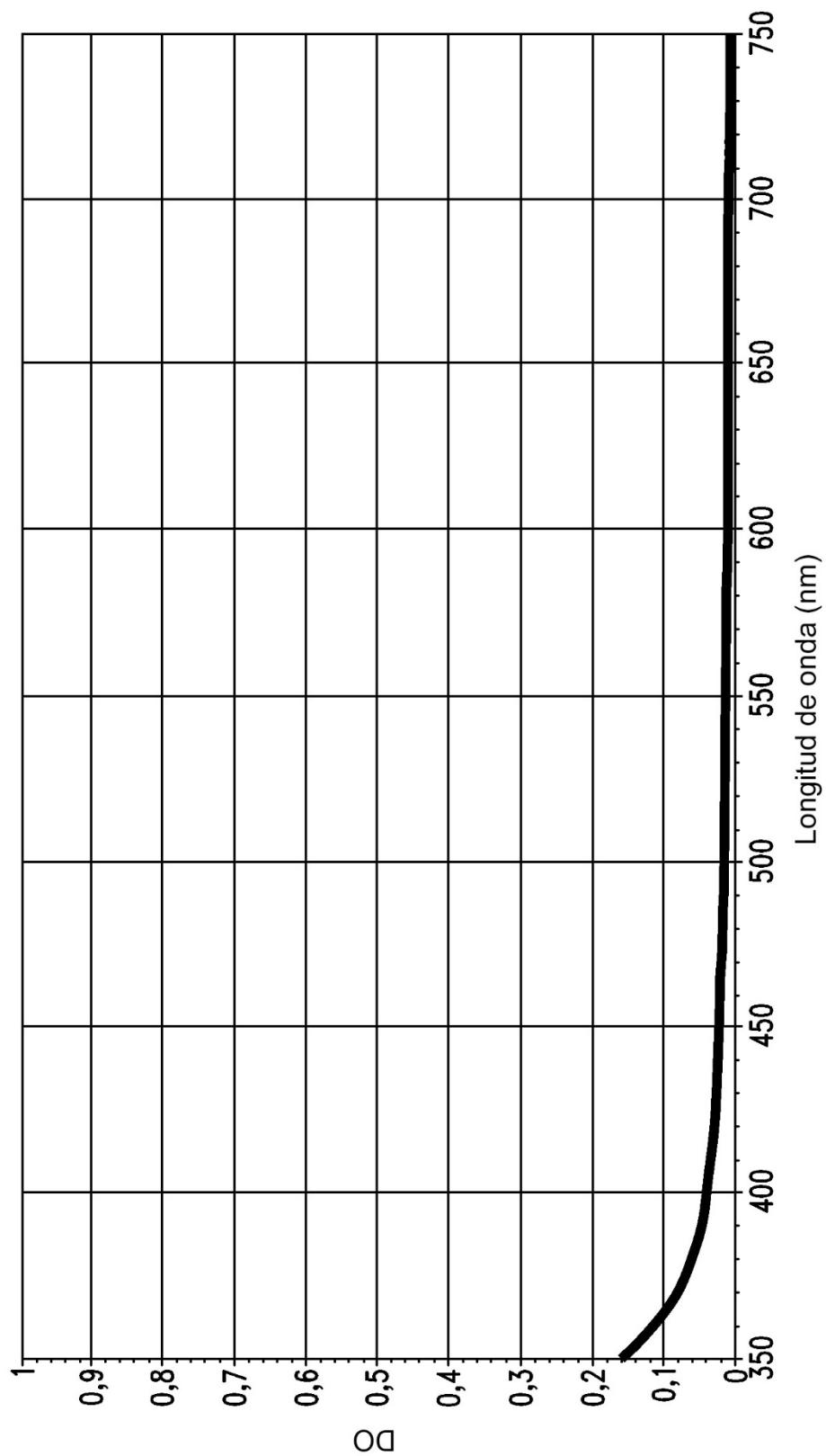


FIG. 2

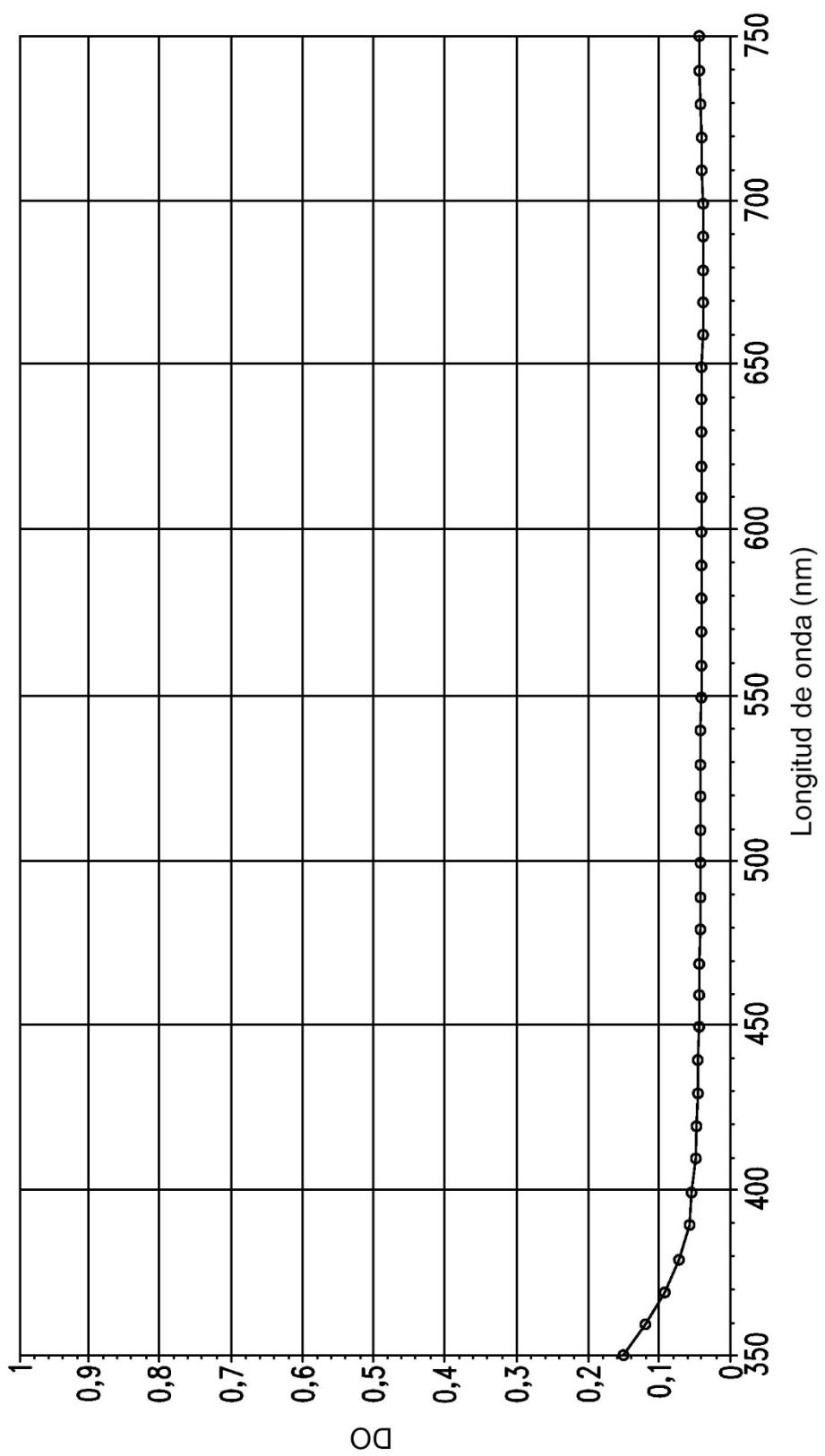


FIG. 3

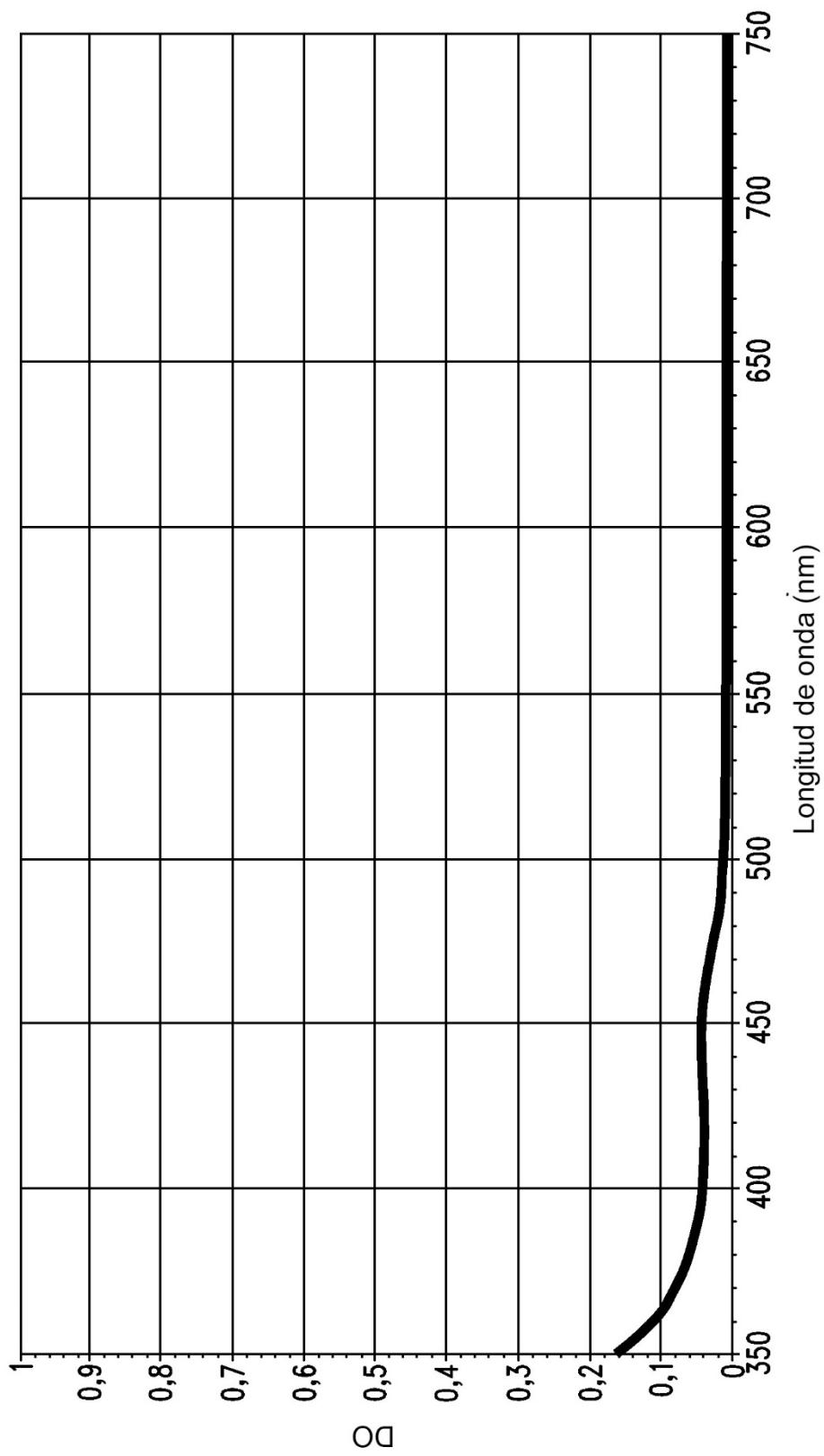


FIG. 4

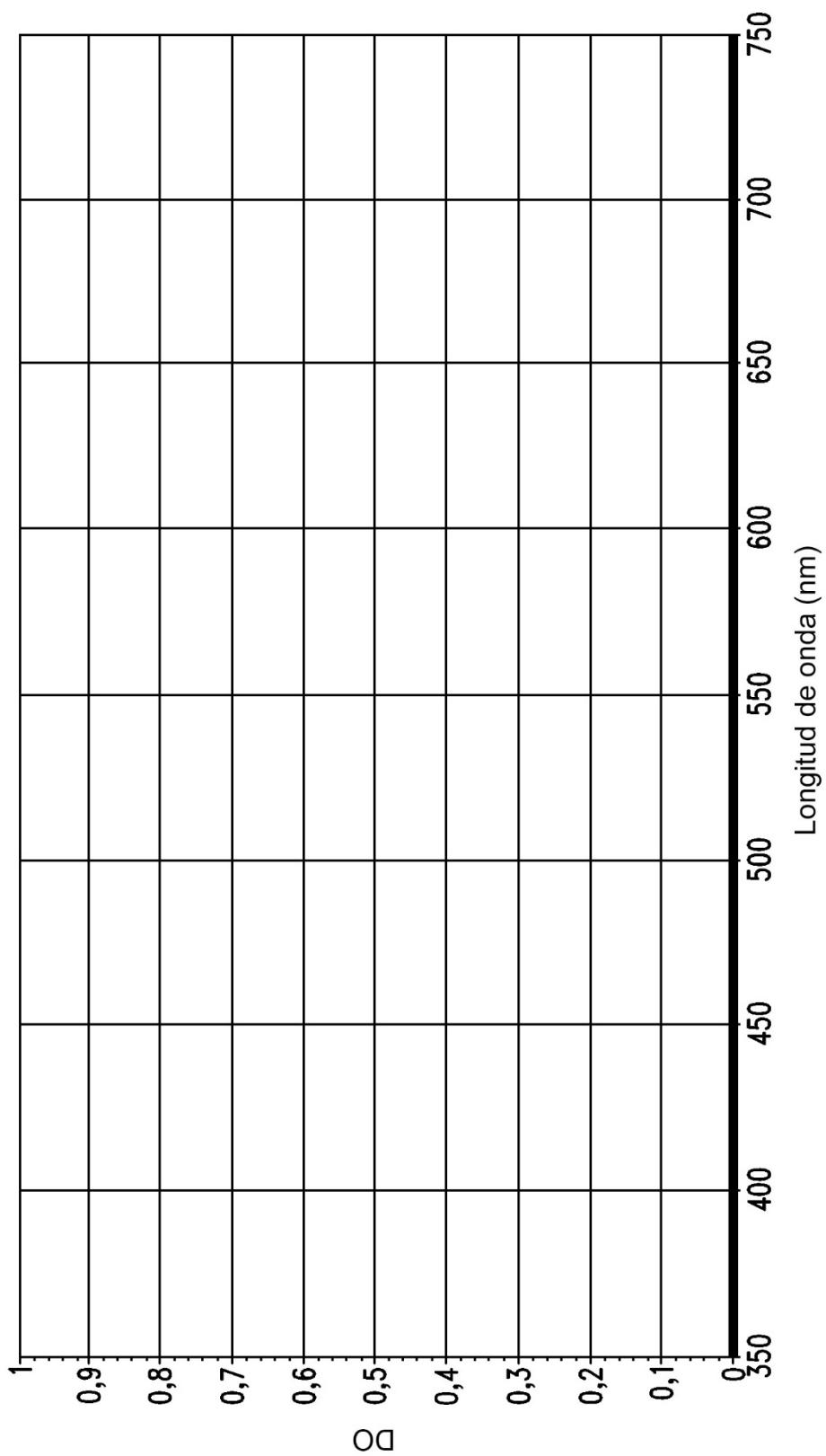


FIG. 5

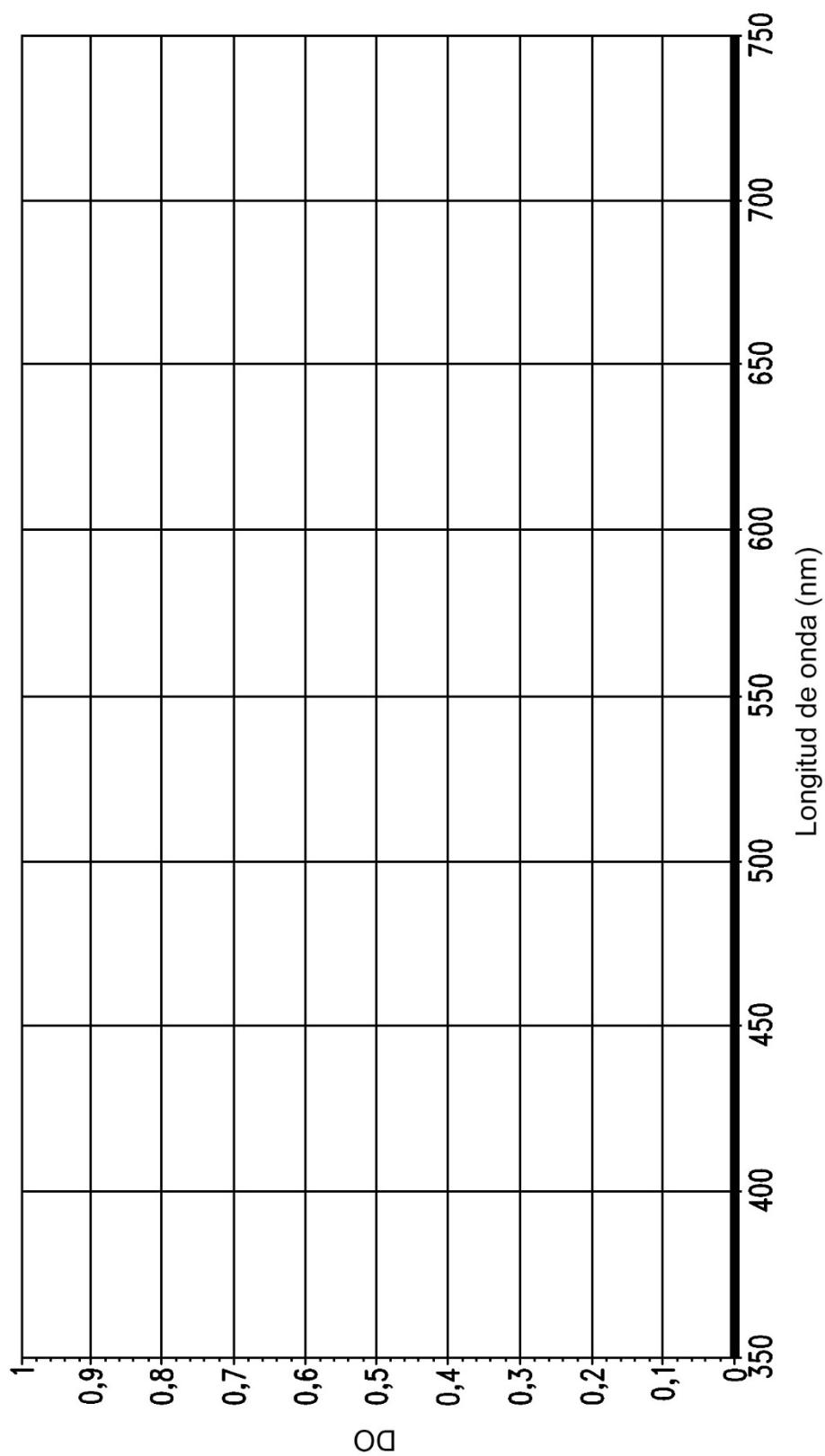


FIG. 6