

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 738 858**

51 Int. Cl.:

C07K 5/02

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.11.2014 PCT/EP2014/073957**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015 WO15067708**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.11.2014 E 14803064 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2019 EP 3066111**

54 Título: **Formas cristalinas de s-acetil glutatión, sus preparaciones y usos en formulaciones farmacéuticas y nutracéuticas**

30 Prioridad:

08.11.2013 IT MI20131856

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

27.01.2020

73 Titular/es:

**GNOSIS S.P.A. (100.0%)
Piazza Filippo Meda, 3
20121 Milano, IT**

72 Inventor/es:

**BIANCHI, DAVIDE;
VALETTI, MARCO y
BAZZA, PAOLA**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 738 858 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

Formas cristalinas de s-acetil glutatión, sus preparaciones y usos en formulaciones farmacéuticas y nutracéuticas

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una novedosa forma cristalina A de S-acetil glutatión (SAG) que es útil en la preparación de composiciones farmacéuticas o nutracéuticas.

Antecedentes de la invención

10 El glutatión (GSH) es un compuesto que, en su forma reducida, constituye un excelente antioxidante y por lo tanto una defensa contra el daño causado por los radicales libres a organismos superiores. El S-acetil-glutatión (SAG) (véase la figura 1) es un derivado sintético del mismo que protege al GSH contra la oxidación y simultáneamente lo libera fácilmente por hidrólisis.

15 El GSH o γ -L-glutamyl-L-cisteinilglicina es un tripéptido que consiste en ácido glutámico, cisteína y glicina, caracterizado por un enlace peptídico atípico, a saber, el enlace que une el nitrógeno de la cisteína al carboxilo en el ácido y glutámico. Es el principal compuesto de tiol con el peso molecular más bajo presente en células tanto animales como vegetales (aproximadamente el 95 % del total). Su función es mantener en estado reducido los grupos -SH de muchas enzimas y proteínas cuya oxidación (con la formación de puentes de disulfuro de disulfuro intra e intermolecular de SS) conduce, en la mayoría de los casos, a la inactivación o pérdida de la función biológica de la enzima o proteína.

El GSH se considera uno de los antioxidantes intracelulares más importantes producidos de forma natural por el cuerpo humano. Sin embargo, el estrés oxidativo crónico reduce los niveles celulares de GSH y a menudo es apropiado reponer sus niveles con la ayuda de suplementos dietéticos.

20 Se cree comúnmente que la ingesta de GSH obtenida de la dieta o con el uso de suplementos dietéticos se usa fácilmente por los tejidos, pero en realidad no se absorbe "como tal", sino que se hidroliza en sus tres aminoácidos constituyentes por una gamma-glutamyl transpeptidasa presente en el intestino. Después de absorberse e introducirse en el torrente sanguíneo, dichos aminoácidos se distribuyen a los diversos tejidos en los que implementan el conjunto de aminoácidos con los que las células del cuerpo sintetizan GSH endógeno. Por lo tanto, es necesario utilizar una dosis oral alta para garantizar una absorción significativa. Cuando Witschi y col. evaluaron el aumento en los niveles sanguíneos de glutatión, cisteína y glutamato después de la administración oral de GSH a siete voluntarios sanos, no se observaron aumentos significativos a dosis de hasta 3 g por dosis (Witschi A y col., J. Clin. Pharmacol. 43 (6), 667 - 1992).

30 La administración sublingual, que garantiza una mejor biodisponibilidad, puede usarse como una alternativa a la administración oral de GSH.

Por último, en el campo farmacéutico, la profilaxis basada en GSH se utiliza en algunos casos por administración parenteral, intramuscular o intravenosa lenta, por ejemplo, como profilaxis para la neuropatía resultante de la quimioterapia con cisplatina o análogos.

35 El uso de SAG como precursor es una buena alternativa para reponer los niveles reducidos de GSH en el cuerpo. De hecho, la acetilación del átomo de azufre evita la descomposición de GSH y facilita su absorción a través de la pared intestinal, permitiendo así que la molécula pase extensamente en las células.

El SAG asimilado de esta manera por los tejidos se hidroliza por tioesterasa citoplásmica y, por hidrólisis del grupo acetilo, produce GSH reducido que está disponible para todas las funciones biológicas en las que se requiere.

40 La adición de SAG a cultivos de fibroblastos originados de individuos que padecen una deficiencia genética de glutatión sintetasa ha demostrado ser capaz de reponer el nivel intracelular de GSH eficazmente (Okun JG y col., J. Inherit. Metab. Dis. 27(6), 783 - 2004). El SAG también es más estable en el plasma y ha demostrado ser más eficaz que el GSH reponiendo los niveles celulares de GSH empobrecido por infecciones víricas (Vogel JU y col., Med. Microbiol. Immunol. 194, 55 - 2005) (Fratemale A y col., Antiviral Res. 77, 120 - 2008). Por último, el SAG muestra una interesante actividad no dependiente de GSH que induce la apoptosis en algunas líneas celulares de tumores humanos *in vitro*. (Locigno R y col., Int. J. Oncol. 20, 69 - 2002).

La identificación y la caracterización de las formas polimórficas y de las condiciones experimentales para su obtención, son parámetros muy importantes para un compuesto diseñado para su uso nutracéutico y/o farmacéutico.

50 La síntesis de SAG ya se ha reivindicado en una patente japonesa (véase Chemical Abstract 97-7222755s) y en el documento WO92/00320. Sin embargo, los autores solo desvelan un procedimiento general para obtenerlo, sin investigar la existencia de formas polimórficas de ninguna manera.

Como se ha afirmado anteriormente, una serie de dificultades están implicadas en la absorción de GSH, que se resuelven en parte con el uso del derivado SAG. Sin embargo, la absorción de dicho compuesto puede verse afectada adversamente por la existencia de formas polimórficas del mismo que tienen diferentes características fisicoquímicas

que influyen en su velocidad de disolución, solubilidad y por lo tanto biodisponibilidad, sin mencionar el comportamiento diferente de los polvos durante la preparación de las diversas formulaciones.

Ninguna condición experimental o indicación preliminar de cristalización y secado que sugiera la existencia de formas polimórficas de SAG se ha desvelado en ninguna patente o solicitud de patente.

5 Descripción de figuras

FIGURA 1: estructuras de glutatión (GSH) y S-acetil glutatión (SAG)

FIGURA 2: Espectro de RMN 1H de la forma A de SAG

FIGURA 2A: expansión del espectro de RMN 1H de la forma A de SAG en el intervalo de 1,8-5 ppm

FIGURA 3: Espectro de RMN 1H de la forma B de SAG (no es parte de la invención)

10 **Figura 3A:** expansión del espectro de RMN 1H de la forma B de SAG en el intervalo de 1,8-5 ppm (no es parte de la invención)

FIGURA 4: difractograma de XRD de la forma A de SAG

FIGURA 5: difractograma de DRX de la forma B de SAG (no es parte de la invención)

FIGURA 6: espectro FTIR de la forma A de SAG

15 **FIGURA 7:** espectro FTIR de la forma B de SAG (no es parte de la invención)

FIGURA 8: análisis termogravimétrico (TGA) de la forma A de SAG

FIGURA 9: Análisis termogravimétrico (TGA) de la forma B de SAG (no es parte de la invención)

FIGURA 10: termograma DSC de la forma A de SAG

FIGURA 11: termograma DSC de la forma B de SAG (no es parte de la invención)

20 **FIGURA 12:** termograma de enfriamiento DSC de la forma B de SAG (no es parte de la invención)

Descripción de la invención

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que SAG existe no solamente en la forma amorfa, sino también en al menos dos formas polimórficas caracterizadas por diferentes propiedades fisicoquímicas, que son útiles como ingredientes de composiciones farmacéuticas o nutraceuticas.

25 La evidencia experimental de la existencia de dichas dos formas polimórficas, descritas en la presente invención como forma A y forma B, en la que la forma B no es parte de la invención, se proporciona por los análisis descritos a continuación, realizados tanto en solución como en estado sólido.

30 Las muestras de las dos formas cristalinas sometidas a análisis de RMN 1H (Figuras 2, 2A, 3 y 3A) produjeron un espectro altamente consistente con la fórmula química del compuesto indicado, lo que indica que no hay diferencia espectral entre ellos en solución.

Por el contrario, los análisis realizados directamente sobre la sustancia en estado sólido demuestran claramente la presencia de formas polimórficas.

35 **XRD:** los análisis realizados con el difractómetro de rayos X indicaron diferencias significativas en las propiedades cristalográficas de las dos muestras (Figuras 4 y 5). El número y la intensidad de no menos de 20 picos de difracción indican claramente que poseen dos tipos de células diferentes y, por lo tanto, que hay dos formas cristalinas distintas del mismo compuesto químico.

Las tablas 1 y 2 muestran los picos de difracción mejor resueltos, que se refieren a las formas polimórficas A y B respectivamente. Los valores mostrados en negrita corresponden a los picos que caracterizan las dos formas.

Tabla 1

2 theta [°]	valor d	I/I ₀
5,2	17,1113	63
10,3	8,6143	55
15,4	5,7636	76
18,6	4,7765	100
19,7	4,4981	81
20,4	4,3496	71
21,1	4,2148	87
25,1	3,5420	70
25,7	3,4607	76
27,0	3,3043	57
27,6	3,2337	76
27,9	3,1928	98
32,7	2,7346	77

40

(continuación)

2 theta [°]	valor d	I/I ₀
35,3	2,5376	66
36,3	2,4753	84

Tabla 2

2 theta [°]	valor d	I/I ₀
4,2	21,2221	20
12,7	6,9861	22
13,0	6,8251	21
14,9	5,9405	16
17,3	5,1214	29
17,7	5,0122	33
21,0	4,2227	100
21,3	4,1717	98
21,9	4,0513	45
22,5	3,9413	43
24,7	3,5956	40
25,1	3,5476	59
30,2	2,9568	58
32,6	2,7477	44

5 **IR:** aquí otra vez, los espectros registrados por FTIR en las sustancias en estado sólido (Figuras 6 y 7) exhibieron diferentes bandas espectrales, indicando claramente la presencia de dos formas cristalinas diferentes. La Forma A presenta (entre otros) una característica banda de estiramiento NH a 3344 cm⁻¹ y características bandas de estiramiento de carbonilo a 1726, 1687 y 1663 cm⁻¹. La Forma B presenta (entre otros) bandas características de estiramiento NH a 3370 y 3355 cm⁻¹ y bandas características de estiramiento de carbonilo a 1701, 1677 y 1648 cm⁻¹.

Aunque los espectros de RMN 1H excluyeron la presencia de disolventes, Las muestras también fueron sometidas a análisis térmicos, es decir, TGA y DSC.

10 **TGA:** los análisis termogravimétricos, llevados a cabo en dos muestras, excluyen categóricamente la presencia de "solvatos" e indican una pérdida de peso marcada, debido a la descomposición, a una temperatura muy superior a 150 °C (Figuras 8 y 9).

15 **DSC:** Los termogramas confirman la descomposición a aproximadamente 200 °C en ambos polimorfos y, a pesar del pico endotérmico, a 208,2 °C para la forma A y 191,4 °C para la forma B, presenta un comienzo bastante claro que podría indicar erróneamente una fusión, se refiere a la descomposición con pérdida de peso (Figuras 10 y 11).

Sin embargo, los dos termogramas difieren en cuanto a la presencia, en el polimorfo B, de un evento endotérmico débil a aproximadamente 135 °C. Dicho evento, que es perfectamente reversible, puede verse en el termograma de enfriamiento del compuesto, como un evento exotérmico análogo a una temperatura ligeramente más baja (Figura 12).

20 Basándose en estos datos, puede por lo tanto concluirse que el SAG existe en al menos dos formas polimórficas diferentes, A y B, caracterizadas por diferentes propiedades fisicoquímicas.

25 Un objeto de la presente invención es por lo tanto una forma cristalina de SAG llamada forma A, caracterizada por un espectro de difracción de rayos X en polvo, obtenido con radiación de cobre α₁ (λ = 1,54060 Å) y α₂ (λ = 1,54439 Å), como se muestra en la Figura 4, y teniendo picos característicos, expresados en grados 2-theta [°], a 5,2, 10,3, 15,4, 18,6, 19,7, 35,3, 36,3 ± 0,2.

En el difractograma de XRD, un grupo adicional de picos de difracción de caracterización, expresados en grados 2-theta [°], está representado por aquellos a 20,4, 21,1, 25,1, 25,7, 27,0, 27,6, 27,9, 32,7 ± 0,2.

La forma cristalina A se caracteriza por un espectro IR, obtenido con una matriz de bromuro de potasio, como se muestra en la Figura 6, que tiene bandas de absorción características en 3344, 1726, 1687 y 1663 cm⁻¹ (entre otros).

30 La forma cristalina A también se caracteriza por un patrón de DSC, obtenido con una velocidad de calentamiento de 10,00 °C/min, que tiene un pico endotérmico entre 190 °C y 210 °C, conectado a la descomposición del compuesto, seguido de otros eventos endotérmicos desordenados, como se muestra en la Figura 10.

La forma cristalina de SAG llamada forma B, que no forma parte de la invención, se caracteriza por un espectro de difracción de rayos X en polvo, se obtiene con radiación de cobre α₁ (λ = 1,54060 Å) y α₂ (λ = 1,54439 Å), como se

muestra en la Figura 5 y teniendo picos característicos, expresados en grados 2-theta [°], en 4,2, 12,7, 13,0, 17,3, 17,7, 30,2 ± 0,2. En el difractograma de XRD, un grupo adicional de picos de difracción de caracterización, expresados en grados 2-theta [°], está representado por aquellos en 14,9, 21,0, 21,3, 21,9, 22,5, 24,7, 25,1, 32,6 ± 0,2.

5 La forma cristalina B se caracteriza por un espectro IR, obtenido con una matriz de bromuro de potasio, como se muestra en la Figura 7, con bandas de absorción características en 3370, 3355, 1701, 1677 y 1648 cm⁻¹ (entre otros).

La forma cristalina B también se caracteriza por un patrón de DSC, obtenido con una velocidad de calentamiento de 10,00 °C/min, teniendo un pico de descomposición endotérmica entre 180 °C y 200 °C, conectado a la descomposición del compuesto, seguido de otros eventos endotérmicos desordenados, y un pico endotérmico característico a aproximadamente 135 °C, como se muestra en la Figura 11.

10 Un objeto adicional de la presente invención es un procedimiento para la producción de formas cristalinas A de SAG con altos rendimientos y pureza química.

Las formas cristalinas A y B se pueden obtener mediante la cristalización de SAG con mezclas de disolventes tales como agua-acetona, agua-etanol y agua-metanol, preferentemente agua-acetona.

15 El hallazgo más sorprendente, que en particular no es fácilmente deducible incluso por el experto, es que todas las mezclas de dichos solventes son capaces de proporcionar tanto el polimorfo A como el polimorfo B y que el factor discriminante son las condiciones en las que se desencadena la cristalización.

20 De hecho, la adición del disolvente de precipitación (no disolvente) antes de que la cristalización se desencadene por el agua da lugar a la forma polimórfica B, mientras que si la cristalización se provoca por el agua sola y el no disolvente solo se añade para aumentar los rendimientos (completar la precipitación), se obtiene la forma polimórfica A. Este comportamiento se confirma por la precipitación de ambos polimorfos A y B si se permite el desencadenamiento de la cristalización en agua y se añade el disolvente (no disolvente) antes de que se complete la precipitación del producto.

La forma cristalina A de SAG puede prepararse mediante un procedimiento que comprende las siguientes etapas:

- 25 a) disolución de SAG en agua a una temperatura que varía entre 75 °C y 80 °C;
 b) enfriamiento inmediato de la solución obtenida en la etapa a) a una temperatura inferior a 55 °C, preferentemente a una temperatura que varía entre 45 °C y 55 °C, seguido de un enfriamiento adicional hasta la cristalización incipiente;
 c) enfriamiento a 20-25 °C de la masa obtenida en la etapa b) en presencia de una mínima agitación (60-120 rpm), seguido de una continua agitación de la masa a 20-25 °C durante entre 2 y 12 horas;
 30 d) adición lenta a la suspensión obtenida en c) de un disolvente seleccionado del grupo que contiene acetona, etanol y metanol, preferentemente acetona, seguido del enfriamiento de la suspensión resultante a una temperatura que varía entre 3 °C y 7 °C;
 e) aislamiento del sólido que se separa en la etapa d), para dar la forma cristalina A de SAG.

La forma cristalina A de SAG puede prepararse mediante un procedimiento que comprende las siguientes etapas, no siendo parte dicho procedimiento de la invención:

- 35 a) disolución de SAG en agua a una temperatura que varía entre 75 °C y 80 °C;
 b) enfriamiento inmediato de la solución obtenida en la etapa a) a una temperatura de 55 °C, seguido de la adición de un disolvente seleccionado del grupo que contiene acetona, etanol y metanol, preferentemente acetona;
 c) enfriamiento espontáneo a 20-25 °C de la masa obtenida en la etapa b) en presencia de una mínima agitación (60-120 rpm), seguido de una continua agitación de la masa a 20-25 °C durante entre 2 y 12 horas;
 40 d) enfriamiento de la suspensión obtenida en la etapa c) a una temperatura que varía entre 3 °C y 7 °C;
 e) aislamiento del sólido que se separa en la etapa d), para dar la forma cristalina B de SAG.

Por el contrario, la forma amorfa, que no forma parte de la invención, puede obtenerse mediante secado por pulverización de una solución acuosa del producto.

45 Las dos formas polimórficas A y B y la forma amorfa presentan diferentes propiedades fisicoquímicas, en particular en lo que respecta a la calidad del producto, su estabilidad, su velocidad de disolución en agua y la densidad y fluidez de los polvos.

50 **Calidad, Valor de ensayo y estabilidad de las diversas formas** - Las formas cristalinas A y B difieren debido a la presencia de diferentes cantidades de GSH oxidado (GSSG), debido a que la cristalización del polimorfo A da lugar a un aumento en GSSG (aproximadamente un 1 % más). Este GSSG no solo deriva de la oxidación del GSH residual presente en el ambiente de reacción, sino también de aquel que deriva de la hidrólisis de SAG durante la cristalización, aunque en cantidades mínimas. El porcentaje de GSSG es mucho más alto en la forma amorfa debido a las condiciones de secado, lo que aumenta la hidrólisis y la correspondiente oxidación. Esto no afecta la calidad del producto, porque GSSG, como SAG, es capaz de reponer GSH después de la absorción.

Cuando las muestras de polimorfos A y B se sometieron a estrés térmico y mecánico, no se encontró la posibilidad de

conversión de un polimorfo a otro en las condiciones utilizadas.

La estabilidad de las diversas formas sólidas se probó como se describe en la Farmacopea Europea (EP), llevando a cabo pruebas de estabilidad acelerada a 50 °C durante 6 meses. Los resultados se muestran en la Tabla 3 como normalización interna (% de áreas de ingredientes) y como valor de ensayo SAG.

5

Tabla 3

Meses	Tipo de sólido	Impurezas desconocidas (total)	Impurezas desconocidas (individual)	GSH	GSSG	SAG	SAG - valor de ensayo
0	Amorfo	1,4 %	0,4 %	1,0 %	2,5 %	95,1 %	96,5 %
1,5	Amorfo	1,9 %	0,9 %	1,6 %	2,5 %	94,6 %	94,9 %
3	Amorfo	2,3 %	1,2 %	2,4 %	2,8 %	91,3 %	92,4 %
4,5	Amorfo	2,7 %	1,3 %	2,8 %	2,9 %	90,4 %	91,5 %
6	Amorfo	3,5 %	1,5 %	2,5 %	3,9 %	88,6 %	89,9 %

Meses	Tipo de sólido	Impurezas desconocidas (total)	Impurezas desconocidas (individual)	GSH	GSSG	SAG	SAG - valor de ensayo
0	Forma A	1,0 %	0,4 %	0,1 %	2,2 %	96,3 %	98,6 %
1,5	Forma A	1,7 %	0,5 %	0,1 %	2,2 %	95,5 %	98,3 %
3	Forma A	1,9 %	0,5 %	0,2 %	2,3 %	95,1 %	97,8 %
4,5	Forma A	2,0 %	0,7 %	0,2 %	2,4 %	94,7 %	97,6 %
6	Forma A	2,0 %	0,9 %	0,3 %	2,4 %	94,4 %	97,4 %

Meses	Tipo de sólido	Impurezas desconocidas (total)	Impurezas desconocidas (individual)	GSH	GSSG	SAG	SAG - valor de ensayo
0	Forma B	0,8 %	0,2 %	0,2 %	1,1 %	97,7 %	99,3 %
1,5	Forma B	0,9 %	0,5 %	0,3 %	1,2 %	97,1 %	99,1 %
3	Forma B	1,1 %	0,7 %	0,7 %	0,8 %	96,7 %	98,7 %
4,5	Forma B	1,3 %	0,7 %	0,9 %	1,1 %	96,0 %	98,3 %
6	Forma B	2,0 %	0,8 %	1,0 %	0,9 %	95,7 %	98,1 %

Como se verá a partir de los datos de la Tabla 3, la forma amorfa es mucho menos estable que las formas cristalinas, y de estas últimas, la forma polimórfica B se caracteriza por una mayor pureza y valor de ensayo.

Tasa de disolución - De las dos formas cristalinas, la forma B tiene la tasa de disolución más rápida y, por lo tanto, es la más adecuada para formulaciones orales, cuya tasa de disolución influye en la tasa de absorción. Solo la forma amorfa se disuelve más rápidamente, pero la calidad y estabilidad del producto no son adecuadas para su uso.

Densidad de polvo - Con respecto a este aspecto, el estudio de las dos formas cristalinas demuestra que la forma polimórfica B tiene una densidad más alta (0,4 g/ml) que la forma A (0,2-0,25 g/ml). Este parámetro influye en la fluidez y compresibilidad del polvo y, por lo tanto, su uso para la preparación de formulaciones sólidas, especialmente comprimidos. Los polvos de forma polimórfica A presentan, por lo tanto, una mejor fluidez.

15 Las formas cristalinas A y B de SAG pueden formularse en composiciones farmacéuticas o nutracéuticas adecuadas para administración oral o parenteral, usando técnicas y excipientes convencionales.

Un objeto adicional de la presente invención es, por lo tanto, composiciones farmacéuticas o nutracéuticas que contienen formas cristalinas A de SAG.

Otro objeto es el uso de formas cristalinas A de SAG para la preparación de medicamentos o suplementos dietéticos.

20 Un objeto adicional es el uso de formas cristalinas A de SAG para la preparación de viales que contienen SAG en polvo para administración parenteral inyectable.

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención.

Ejemplos

25 Los espectros XRD se obtuvieron con un difractor RIGAKU-MINIFLEX. Las radiaciones utilizadas fueron radiación de cobre α_1 y α_2 ($\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$ y $\lambda = 1,54439 \text{ \AA}$, respectivamente).

Los espectros FTIR se obtuvieron con un instrumento Perkin-Elmer FTIR Spectrum-one. Las muestras fueron analizadas como comprimidos de KBr sin vacío, con una dilución de 1:100.

Los patrones de TGA se obtuvieron con un instrumento Universal V2.6D TA. El intervalo de temperatura explorado fue de 0 °C → 300 °C, con una velocidad de barrido de 10 °C/min.

Los termogramas de DSC se obtuvieron con un instrumento Perkin Elmer DSC6. El intervalo de temperatura explorado fue de 30 °C → 350 °C, con una velocidad de barrido de 10 °C/min. En el caso de la Figura 12, el termograma de DSC se obtuvo calentando de 30 °C a 145 °C a una velocidad de 10 °C/min, manteniéndose después la muestra durante 5 min a 145 °C y finalmente se enfrió de 145 °C a 30 °C a una velocidad de 10 °C/min.

- 5 Los espectros de RMN 1H se obtuvieron con un instrumento Varian Gemini 200 que funciona a 200 MHz, usando D₂O como disolvente.

Ejemplo

Preparación de SAG en forma cristalina A

- 10 Se colocan 5 g de SAG bruto en agitación y se calientan a 75 °C en 40 ml de agua desmineralizada. La masa de reacción se calienta a 75 °C-80 °C. Después de la disolución, la solución se enfría inmediatamente a una temperatura inferior a 55 °C, preferentemente entre 45 y 55 °C. El enfriamiento continúa hasta que comienza la cristalización. Se minimiza la agitación y la solución se enfría a 20-25 °C, temperatura a la cual se deja en agitación durante 2-12 h hasta que se completa la precipitación. Posteriormente, de nuevo con agitación mínima, se añaden 40 ml de acetona en aproximadamente 30-50 min. La adición es lenta para prevenir la formación de incluso unos pocos cristales de polimorfo B. La suspensión resultante se lleva luego a 5 °C ± 2 °C y se mantiene en agitación lenta
- 15 (60-120 rpm) durante aproximadamente 1 h. Al final de ese tiempo, la masa de reacción se filtra para obtener un sólido blanco, que se lava con acetona anhidra (2 x 10 ml). Se obtienen de esta manera 8,4 g de sólido húmedo, que se deja secar a 50 °C, 0,5 kPa de vacío residual durante 14-18 h. Se obtienen 4,3 g (86 %) de un sólido cristalino blanco correspondiente a la forma cristalina A después del secado.

- 20 El perfil analítico del producto obtenido de esta manera es:

Valor de ensayo: 98,6 % (como tal)

Impurezas: Total: 1,0 %; Impurezas individuales conocidas: GSH (0,1 %), GSSG (2,2 %);

Agua 1,4 %

Acetona residual: <500 ppm

- 25 Ácido acético residual: 0,4 %

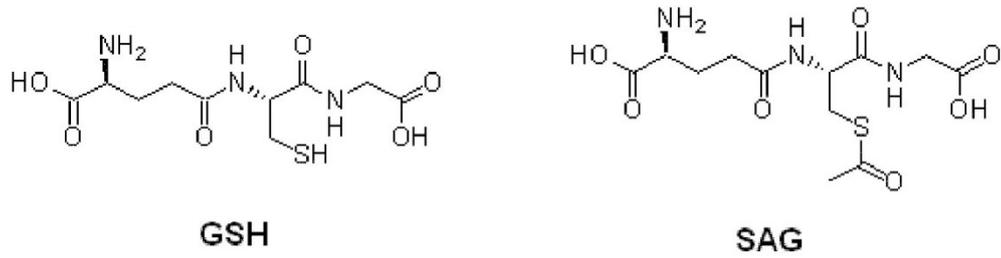
Densidad aparente: 0,15-0,25 g/ml

- 30 El producto obtenido de esta manera presenta los espectros de RMN 1H mostrados en la Figura 2 y la Figura 2A, el difractograma de DRX mostrado en la Figura 4, el espectro de FTIR que se muestra en la Figura 6, el patrón de TGA mostrado en la Figura 8 y el termograma de DSC mostrado en la Figura 10. Los picos de difracción mejor resueltos, y sus intensidades relativas, se muestran en la Tabla 1.

REIVINDICACIONES

1. Una forma cristalina, designada forma A, de S-acetil-glutati3n (SAG), **caracterizada por** un espectro de difracci3n de rayos X en polvo, obtenido usando radiaciones de cobre α_1 y α_2 a 1,54060 Å y 1,54439 Å respectivamente, teniendo picos característicos, expresados en grados 2-theta [°], a 5,2, 10,3, 15,4, 18,6, 19,7, 35,3, 36,3 \pm 0,2.
- 5 2. La forma cristalina de SAG de acuerdo con la reivindicaci3n 1, **caracterizada adem3s por** un espectro de difracci3n de rayos X en polvo que tambi3n tiene picos característicos, expresados en grados 2-theta [°], a 20,4, 21,1, 25,1, 25,7, 27,0, 27,6, 27,9, 32,7 \pm 0,2.
- 10 3. La forma cristalina A de SAG de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizada por** un espectro de IR, obtenido en una matriz de bromuro de potasio, con bandas de absorci3n características a 3344, 1726, 1687 y 1663 cm^{-1} , entre otros.
4. La forma cristalina A de SAG de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada por** un diagrama DSC que tiene un pico de descomposici3n endot3rmica entre 190 °C y 210 °C, obtenido con una velocidad de calentamiento de 10,00 °C/min.
- 15 5. La forma cristalina A de SAG de acuerdo con la reivindicaci3n 4, **caracterizada por** un diagrama DSC que tiene un pico de descomposici3n endot3rmica a 208,2 °C.
6. Un procedimiento para obtener la forma cristalina A de SAG de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5, que comprende las siguientes etapas:
 - a) disoluci3n de SAG en agua a una temperatura que varía de 75 °C a 80 °C;
 - 20 b) enfriamiento inmediato de la soluci3n obtenida en la etapa a) a una temperatura menor de 55 °C, preferentemente a una temperatura que varía de 45 °C a 55 °C, seguido de un enfriamiento adicional hasta que se produce la cristalizaci3n incipiente;
 - c) enfriamiento a 20-25 °C de la masa obtenida en la etapa b) en presencia de agitaci3n a la velocidad de 60-120 rpm, seguido de una agitaci3n adicional de la masa a 20-25 °C durante un tiempo que varía de 2 a 12 horas;
 - 25 d) adici3n lenta a la suspensi3n obtenida en c) de un disolvente seleccionado del grupo que consiste en acetona, etanol o metanol, preferentemente acetona, seguido del enfriamiento de la suspensi3n resultante a una temperatura que varía de 3 °C a 7 °C;
 - e) recuperaci3n del s3lido precipitado en la etapa d), para dar la forma cristalina A de SAG.
7. Composici3n nutrac3utica o farmac3utica que contiene la forma cristalina A de SAG de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5.
- 30 8. Uso de la forma cristalina A de SAG de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5 para la preparaci3n de una composici3n nutrac3utica o farmac3utica.

Figura 1



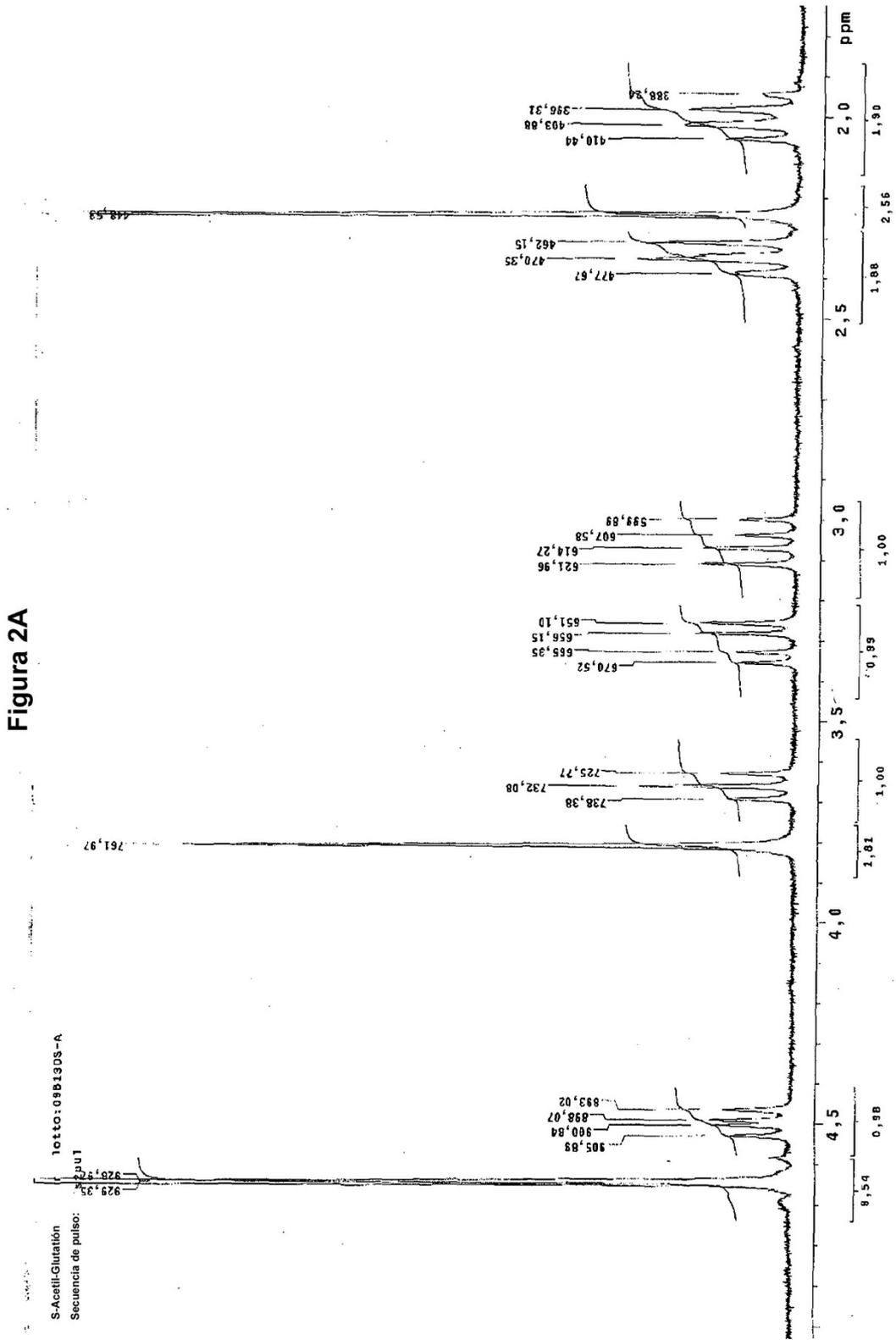


Figura 3

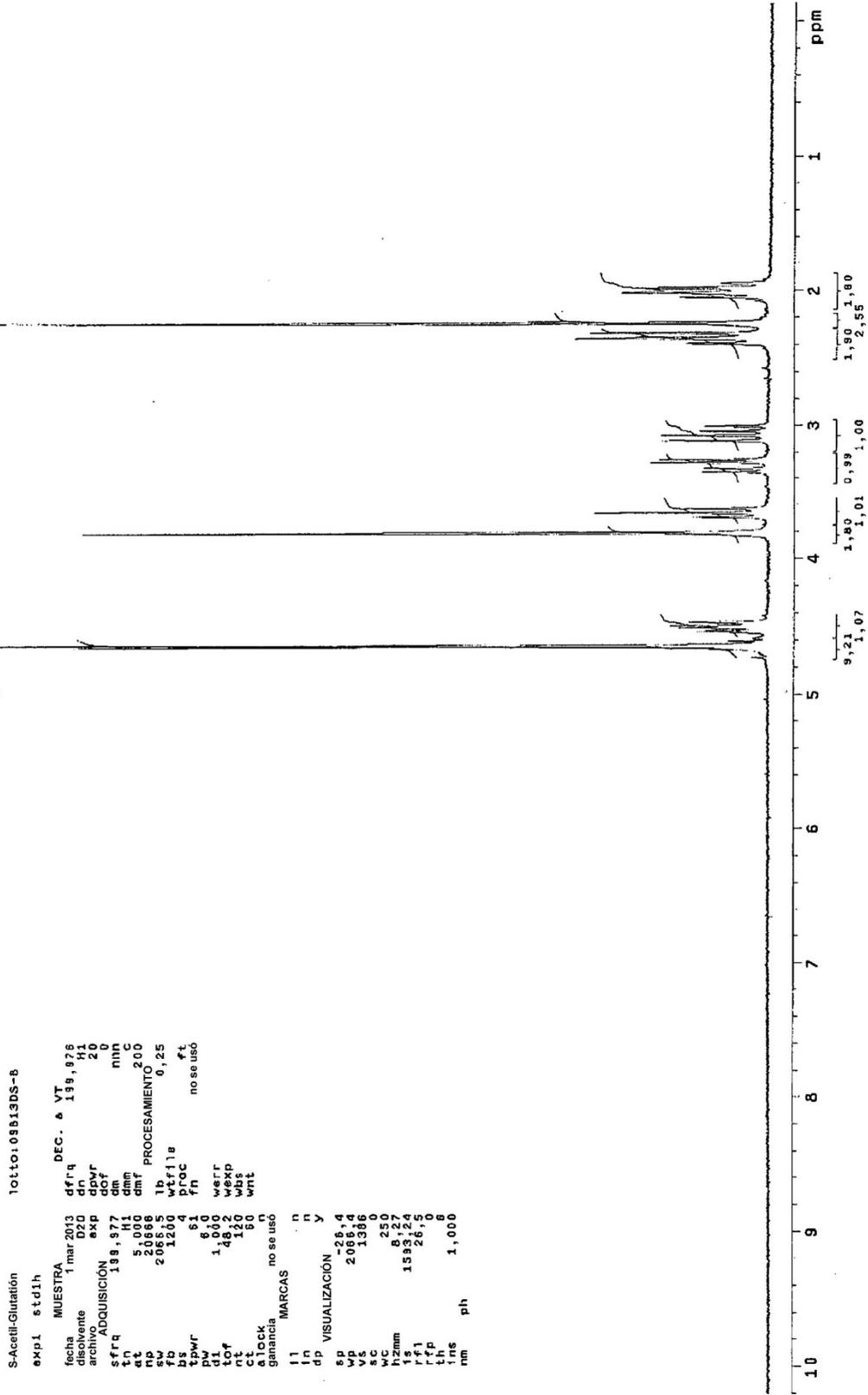


Figura 4

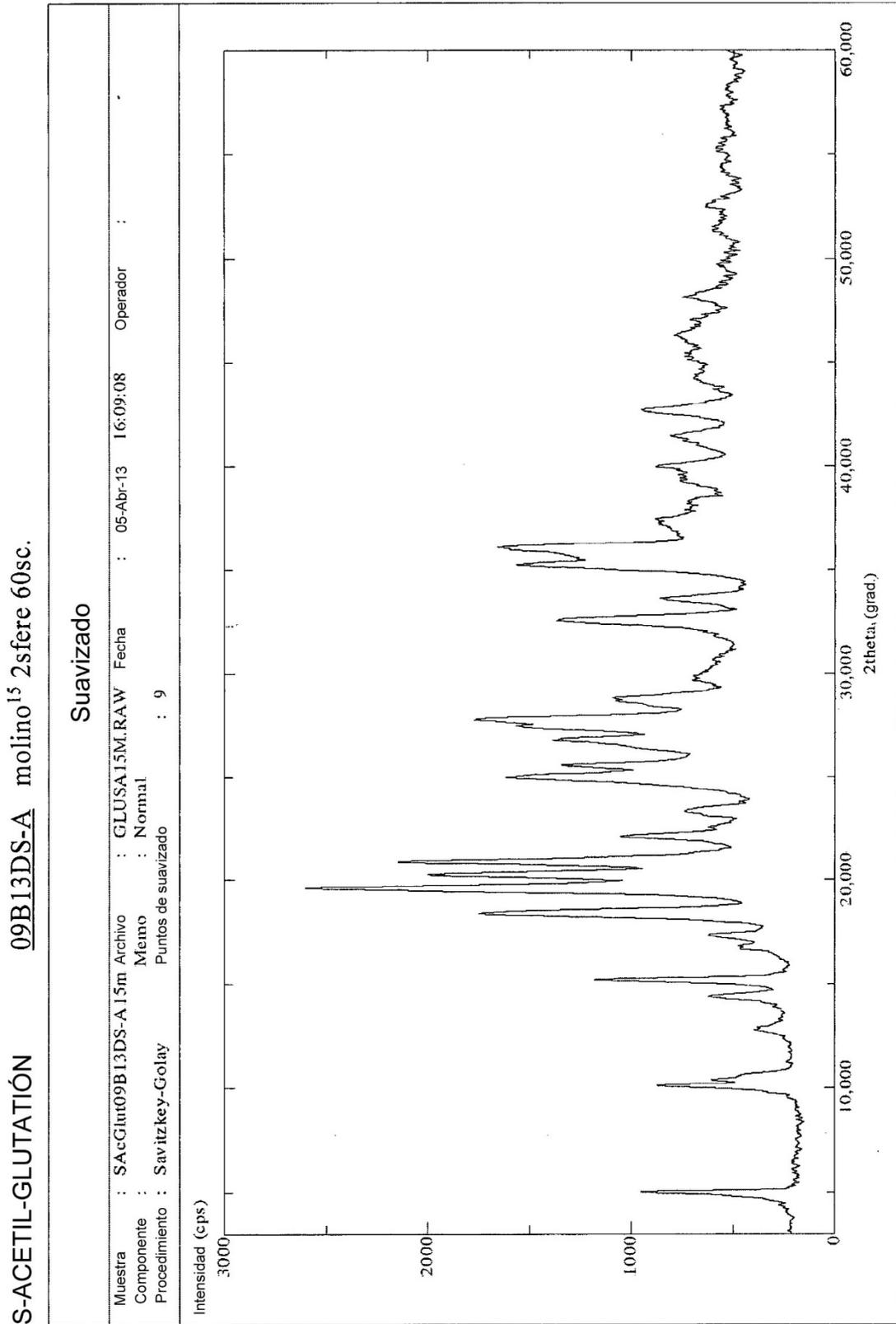


Figura 5

S-ACETIL-GLUTATIÓN 09B13DS-B molino¹⁵ 2sfère 60sc.

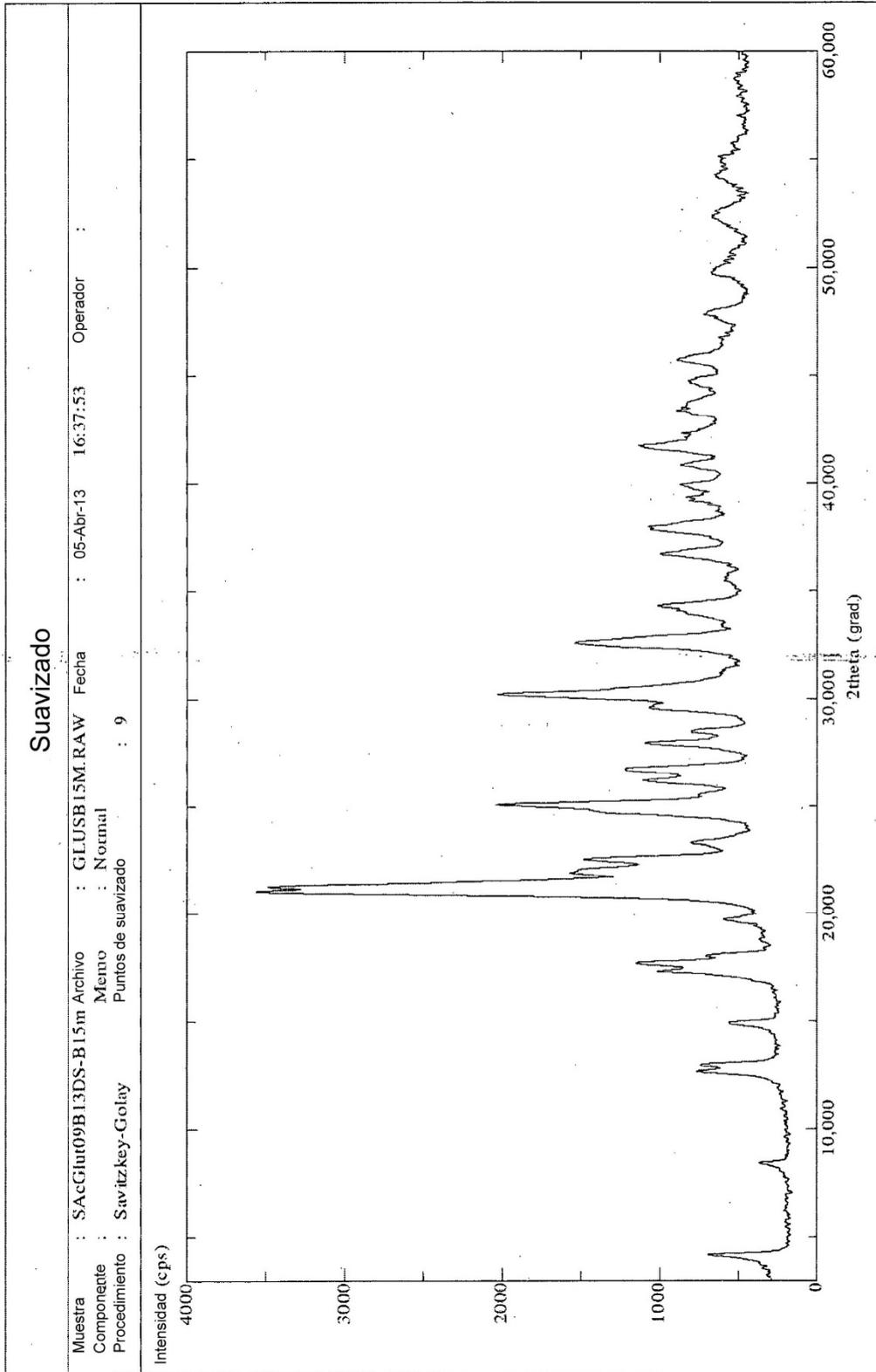
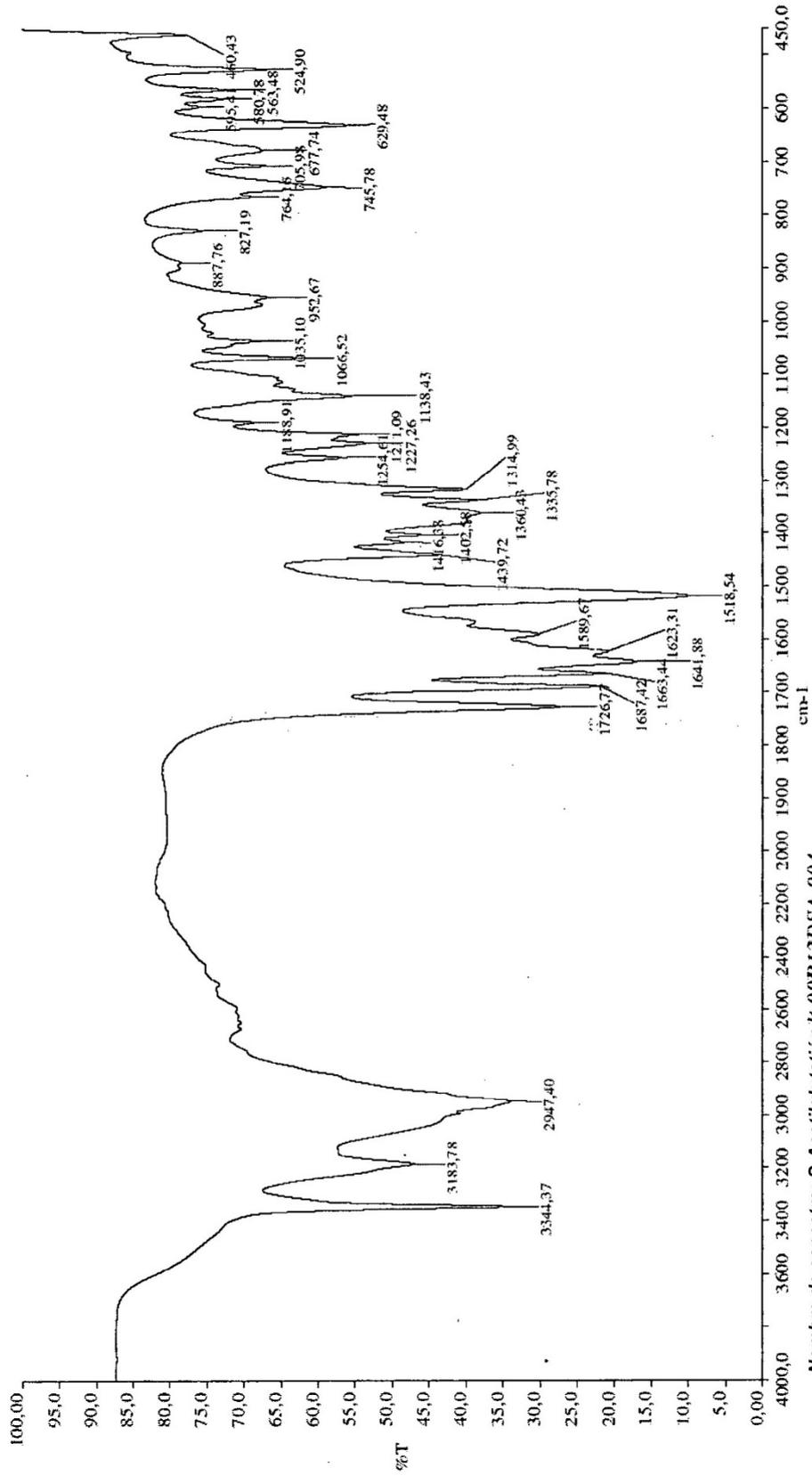


Figura 6

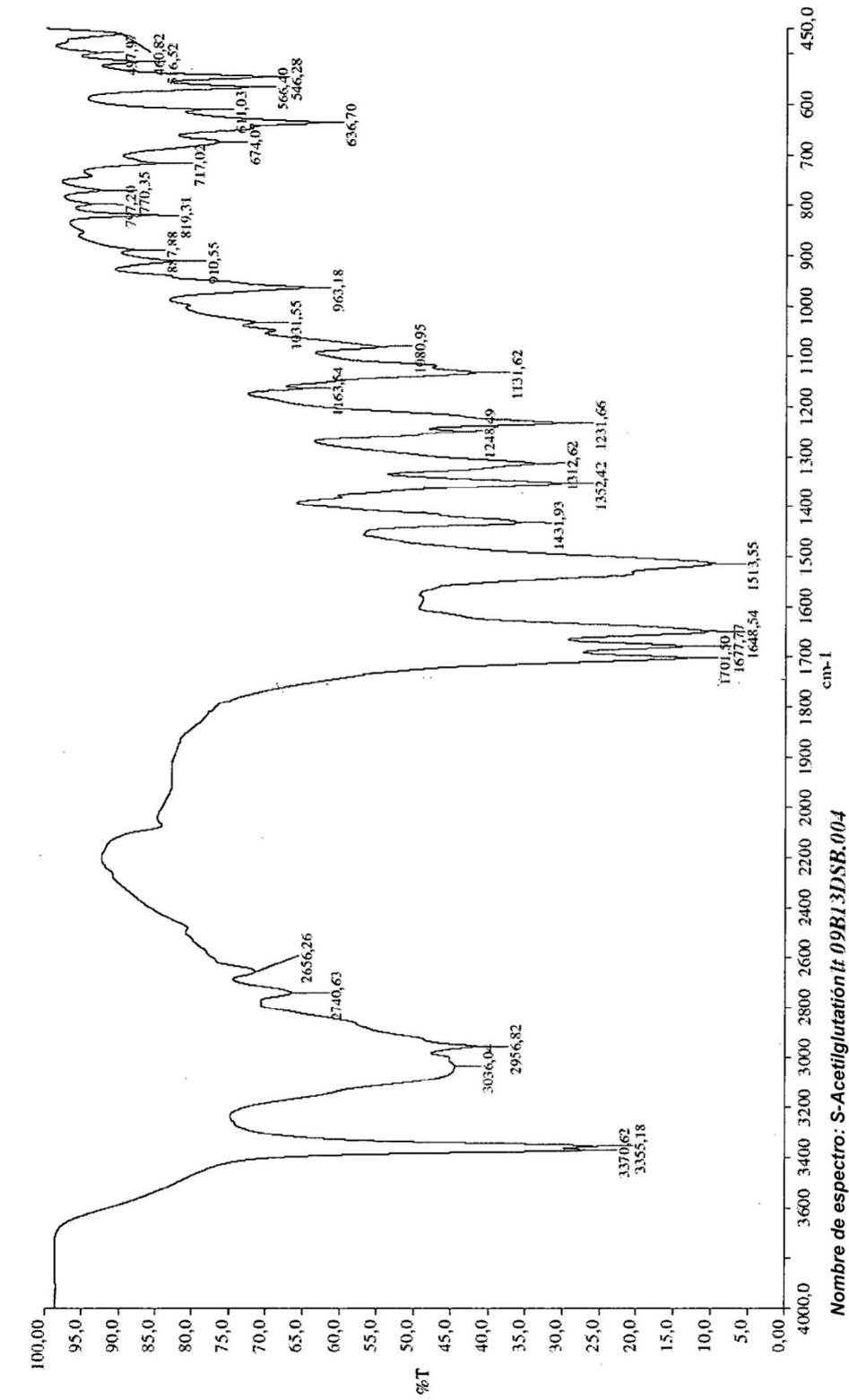


Descripción: S-Acetilglutatin It 09BI3DSA

Comentarios: Compressa KBr dil 1:100 senza vuoto

A

Figura 7



Descripción: S-Acetilglutatin it 09B13D5B

Comentarios: Compressa KBr dil 1:100 senza vuoto

Figura 8

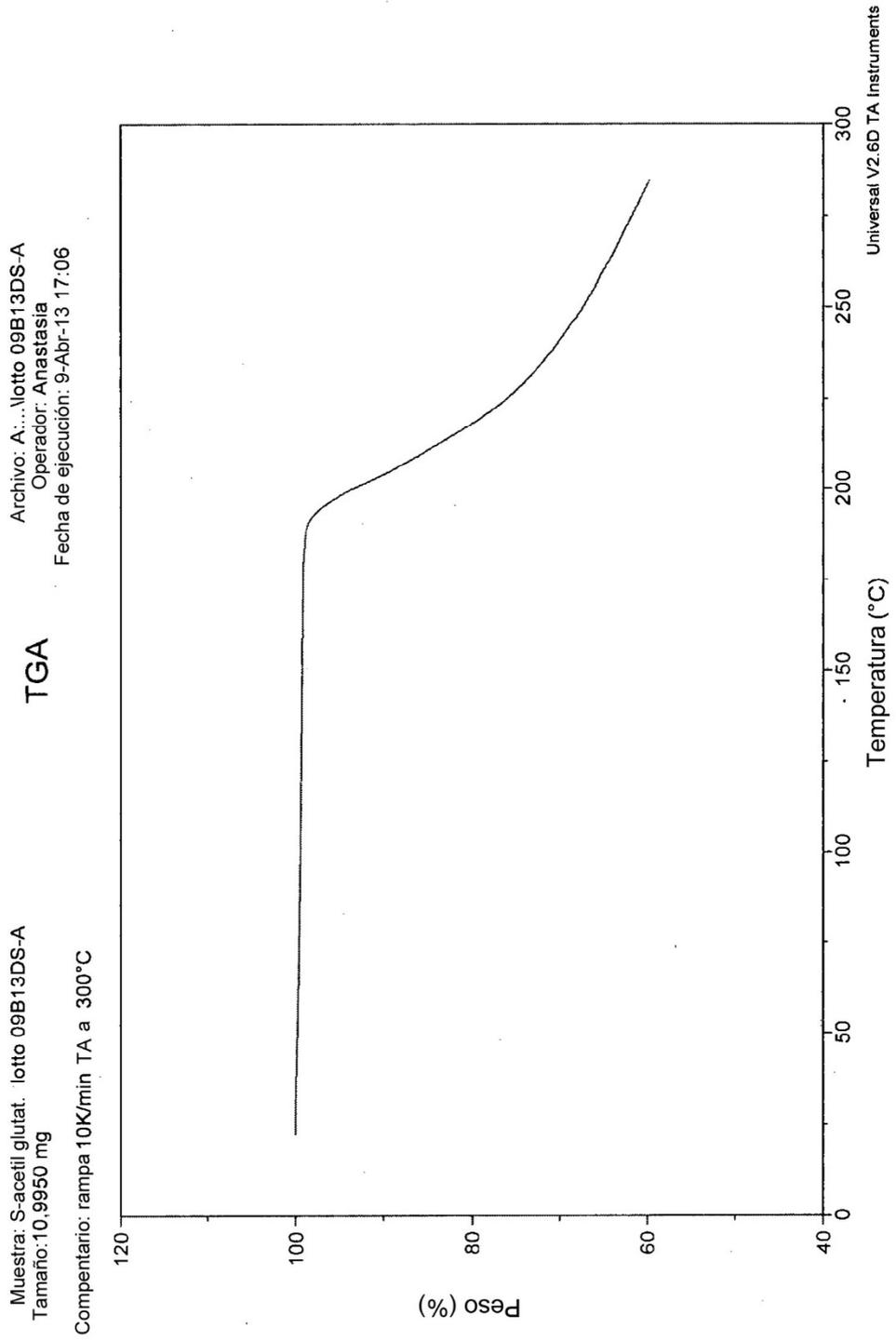


Figura 9

Muestra: S-acetil glutat. lotto 09B13DS-B
Tamaño 11,7730 mg
Compendario: rampa 10K/min TA a 300°C

Archivo: A:\...lotta 09B13DS-B
Operador: Anastasia
Fecha de ejecución: 10-Abr-13 11:08

TGA

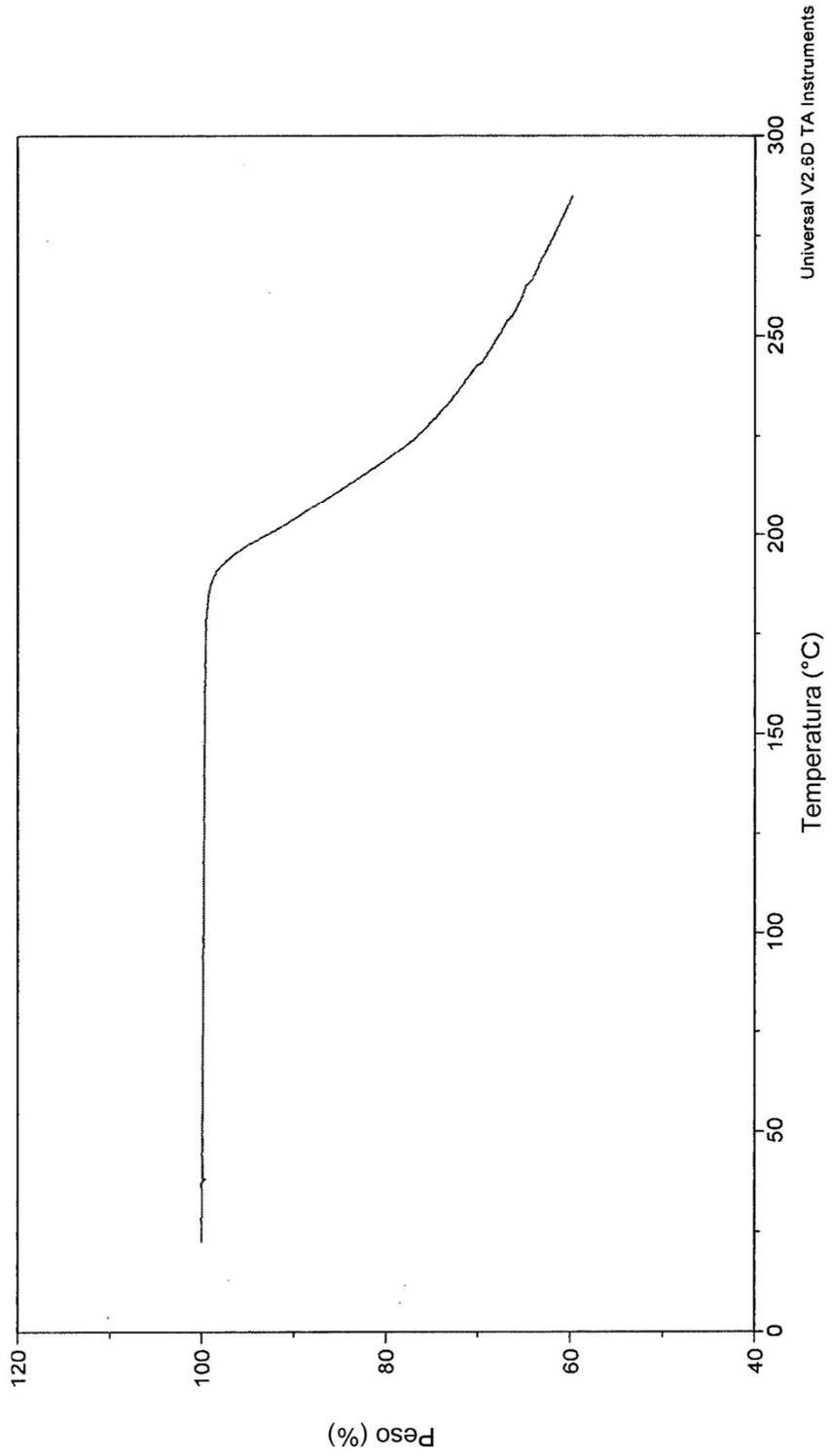


Figura 10

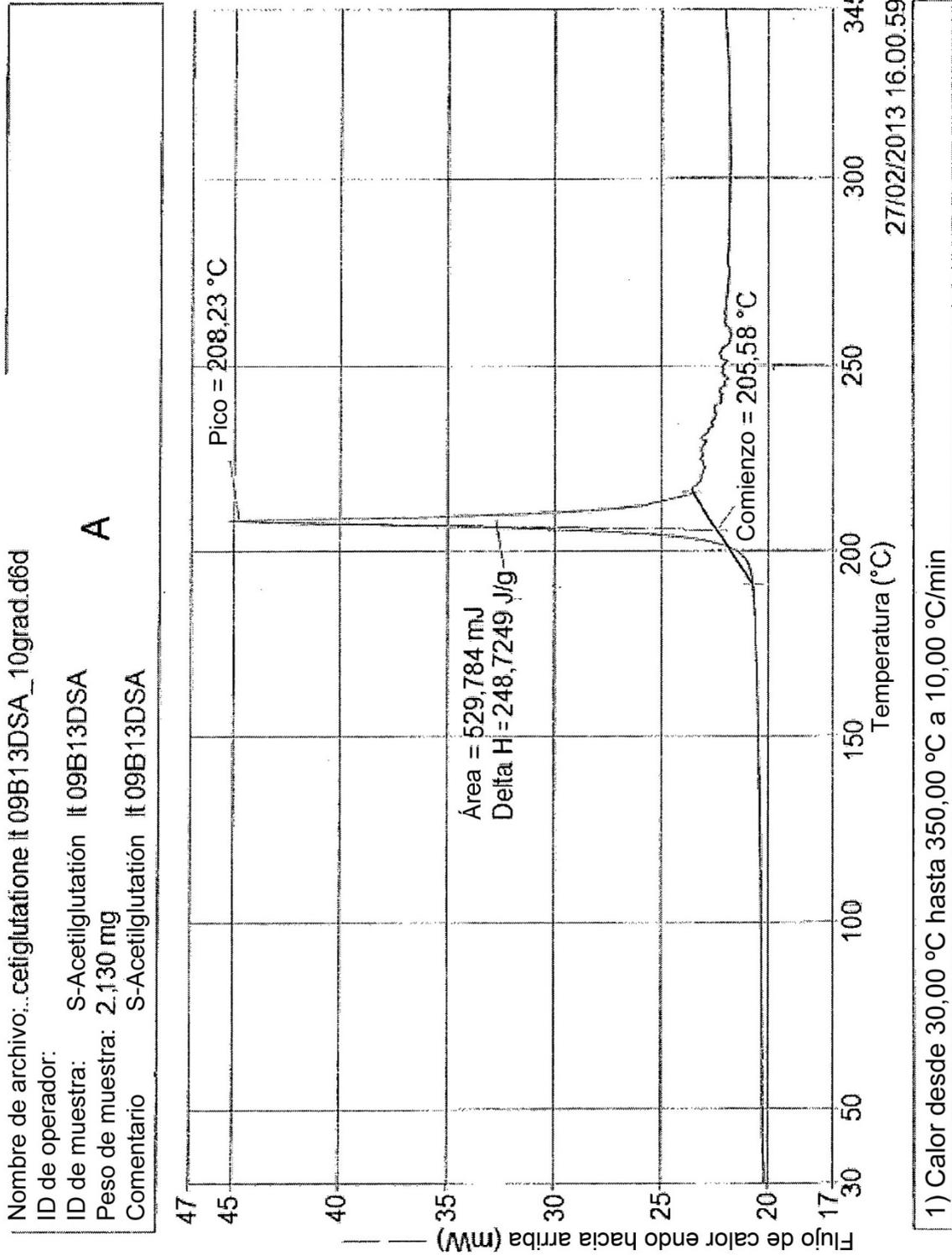


Figura 11

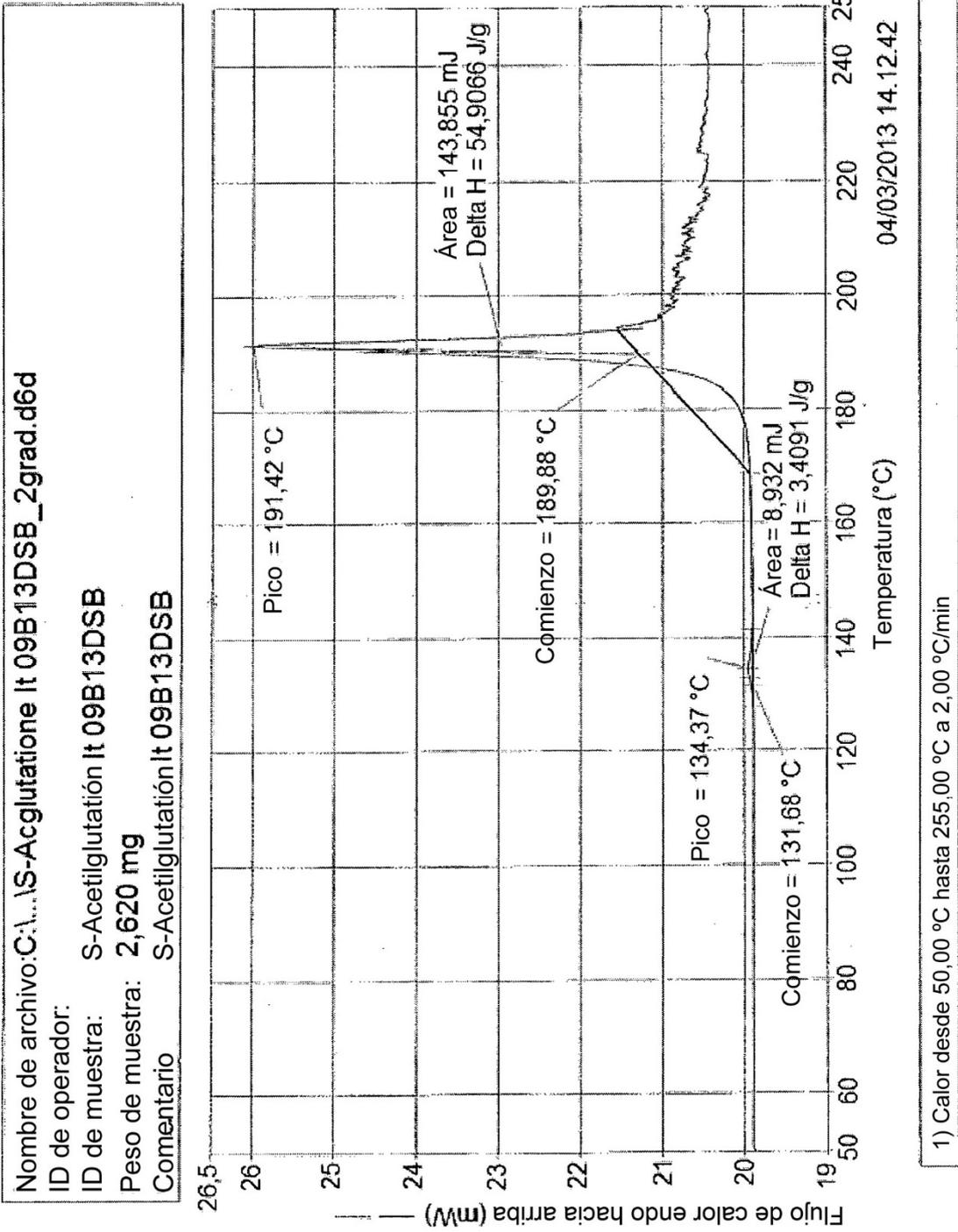


Figura 12

