

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 749 424**

51 Int. Cl.:

A61K 31/415 (2006.01)

A61P 17/16 (2006.01)

A61P 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.06.2006 PCT/US2006/024415**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.01.2007 WO07002356**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.06.2006 E 06773822 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2019 EP 1912641**

54 Título: **Métodos y composiciones que contienen folatos naturales para la protección contra el daño por radiación**

30 Prioridad:

21.06.2005 US 692401 P

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

20.03.2020

73 Titular/es:

**SOUTH ALABAMA MEDICAL SCIENCE
FOUNDATION (50.0%)**

CSAB 104

Mobile, AL 36688, US y

**CHILDREN'S HOSPITAL & RESEARCH CENTER
AT OAKLAND (50.0%)**

72 Inventor/es:

BAILEY, STEVEN, W.;

AYLING, JUNE, E.;

OFFER, TAL y

LENTON, KEVIN, J.

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

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

ES 2 749 424 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

Métodos y composiciones que contienen folatos naturales para la protección contra el daño por radiación

5 **CAMPO DE LA INVENCION**

[0001] La presente invención se refiere, en general, a composiciones para su uso en la protección de un sujeto contra el daño por radiación y, más particularmente, a composiciones que utilizan los folatos naturales para proteger a un sujeto contra el daño causado por la radiación y la radiación ultravioleta ionizante.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] Los seres humanos y otros animales están sujetos a exposición constante a la radiación de una variedad de fuentes. Muchos tipos de radiación, tales como ultravioleta, rayos X, y rayos gamma pueden causar daño a nivel molecular y celular. La luz visible y sobre todo la ultravioleta A y B de luz en la luz solar promueven las reacciones de fotosensibilización después de la absorción por sustancias endógenas y exógenas que luego pueden escindir y/o oxidar proteínas, lípidos y ADN. La radiación ionizante, por otro lado, puede promover la formación de electrones solvatados muy reactivos y posteriormente radicales de hidroxilo.

15

[0003] Los organismos vivos pueden combatir los efectos nocivos de la radiación, ya sea mediante la reparación del daño o mediante la eliminación de las especies reactivas antes de que puedan producir algún daño. Sin embargo, las consecuencias de la exposición a la radiación pueden ser muy graves.

20

[0004] Por ejemplo, las dosis ocupacionales de la radiación ionizante pueden ser recibidas por las personas cuyo trabajo consiste en la exposición (o la exposición potencial) a la radiación, por ejemplo, en la energía nuclear y las industrias de armas nucleares. Incluso en ausencia de eventos catastróficos, los trabajadores de la industria de la energía nuclear están sujetos a mayores niveles de radiación que el público en general.

25

[0005] El personal militar, tales como aquellos estacionados en buques impulsados por los reactores nucleares y soldados requeridos para operar en áreas contaminadas por la lluvia radiactiva, correr el riesgo de una exposición similar a la radiación ionizante. la exposición ocupacional también puede ocurrir en el rescate y el personal de emergencia llamados para hacer frente a eventos catastróficos que implican un reactor nuclear o material radiactivo.

30

[0006] La exposición a la radiación ionizante puede también resultar de detonaciones de armas nucleares (ya sea experimental, como resultado de una guerra, y/o como resultado de actividades terroristas); a los vertidos de actínidos de las instalaciones de almacenamiento de residuos nucleares y de procesamiento de combustible nuclear y los centros de reprocesamiento; de la detonación de las llamadas "bombas sucias"; de materiales radiactivos naturales, como el gas radón o uranio; de la radioterapia; de los rayos X de diagnóstico; de los rayos cósmicos y de otras exposiciones a la radiación ionizante debido a la alta altitud de vuelo y/o los viajes espaciales; etc.

35

[0007] Una dosis crónica es dosis incremental o continua radiación a un nivel bajo (es decir, 100-5000 milirem) recibida en el tiempo. Ejemplos de dosis crónicas incluyen una dosis de cuerpo entero de aproximadamente 5.000 milirem por año, que es la dosis típicamente recibida por un adulto que trabaja en una planta de energía nuclear. Por el contrario, se recomienda que los miembros del público en general no deben recibir más de 100 milirem por año. Dosis crónicas pueden causar efectos citotóxicos a largo plazo y genéticos, por ejemplo, manifestando como un mayor riesgo de un cáncer inducido por radiación más tarde en la vida. Los estudios epidemiológicos han encontrado que el riesgo de por vida estimado de morir de cáncer se incrementa en aproximadamente un 0,04% por REM de la dosis de radiación a todo el cuerpo.

40

[0008] Mientras trajes de protección contra radiación u otros equipos de protección pueden ser eficaces para reducir la exposición a la radiación, tales equipos son caros, difíciles de manejar, y generalmente no disponibles al público. Por otra parte, el uso de trajes de protección contra la radiación no es práctico y/o ineficaz contra dosis incrementales o continuas de radiación. Por lo tanto, sería deseable poder proporcionar una protección sistémica de las exposiciones anticipadas o inadvertidas a la radiación ionizante, tal como puede ocurrir con las exposiciones ocupacionales o ambientales.

50

55

[0009] Por todas las razones anteriores, continúa existiendo la necesidad de métodos y composiciones para la protección contra el daño por radiación, y la presente invención se dirige a abordar esta necesidad.

[0010] WO0203942 (Planet BioteCHInc.) describe composiciones de vitamina del complejo B que protegen contra el daño celular causado por la luz ultravioleta. WO0203942 contiene informes anecdóticos sobre el efecto de tabletas de vitamina B12, o vitamina B12 en combinación con ácido fólico, en la susceptibilidad a las quemaduras solares.

60

[0011] WO9727764 (Univ. Alabama del Sur) describe preparaciones alimenticias y vitaminas que contienen los isómeros naturales de folatos reducidos.

65

[0012] US5997915 (Steven W. Bailey) describe composiciones para consumo humano y animal que contiene folatos reducidos.

[0013] Sonka et al, Experimental Radiobiology, 10, 101-1-3, 1966, y Okazaki et al, Chem. Pharm. Bull, 19 (6), 1173-1177, 1971, describen cada uno experimentos diseñados para investigar el efecto terapéutico del ácido tetrahidrofólico en ratones que habían sido irradiados con rayos X.

[0014] Schünzel, Acta Histochemica, Supl. By XXX, S, 341-345, 1984, Schünzel et al, Radiobiol.-Radiother, Vol 16 (2), 173-180, 1975, y Schünzel et al, Radiobiol.-Radiother, Vol 10 (5), 685-7, 1969, describiendo cada uno experimentos en los que los animales de ensayo que habían sido sometidos a la radiación de rayos X fueron tratados mediante inyección intraperitoneal de cualquiera de L-cisteína o una mezcla de L-cisteína y ácido tetrahidrofólico.

[0015] Keshava et al, Mutation Research, 352 (1996), 123-134, describe estudios sobre el efecto inhibitor del ácido fólico en micronúcleos inducido por la radiación y las aberraciones cromosómicas en células V79.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

[0016] La presente invención, en un aspecto de la misma, se refiere a un folato reducido para su uso en un método de protección de un sujeto humano de los efectos dañinos de radiación ionizante, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos uno de dicho folato reducido; en el que el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico y derivados poliglutamilos de los mismos.

[0017] La presente invención se refiere también a una composición radioprotector para su uso en proporcionar ción radioprotec- contra la radiación ionizante a un sujeto humano, comprendiendo la composición: un primer agente radioprotector, dicho primer agente radioprotector ser un folato reducido; y un segundo agente radioprotector, en el que el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste en ácido tetrahidrofólico 5-metil-, y derivados poliglutamilos de allí- de; en el que el segundo agente radioprotector se selecciona de una sal de yoduro y un agente radioprotector esteroideo. administrar al sujeto una composición que comprende una cantidad eficaz de al menos un dicho re-:

[0018] La presente invención también se refiere a un folato reducido para su uso en un método para proteger un sujeto humano de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta, comprendiendo dicho método ducido folato, en el que dicha composición está sustancialmente libre de vitamina B12 en que no contiene vitamina B12 o contiene una cantidad de vitamina B12 que es igual a o menor que la cantidad diaria recomendada de vitamina B12 para un sujeto humano y dicha cantidad diaria recomendada es 6 pg/día, en el que el folato reducido se cionado SE- de entre el grupo que consiste en ácido fólico 5-metil-tetrahidro-, y derivados poliglutamilos de los mismos, y de monoalquilo, de dialquilo, ésteres de una cadena lateral del glutamato del monobencil y/o dibencil folato reducido.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0019]

La Figura 1 es un gráfico que muestra la inhibición de la fotodegradación de ácido fólico por 5-metiltetrahidrofolato ("5-MTHF"). Se tomaron muestras durante la exposición a la luz en diversos momentos y se analizaron por HPLC en una Luna fenil-hexilo 5: m (25 x 0,46 cm) columna (Phenomenex) eluyó a un caudal de 1,5 ml/min con fosfato de amonio (20 mM en amonio), pH 2,8/acetoniitrilo (17: 1) con detección por absorbancia UV usando Waters 996, un espectrómetro de matriz de fotodiodos. Los cuadrados indican la concentración de 5-MTHF, y los círculos indican la concentración de ácido fólico.

Las Figuras 2A-2C son gráficos que muestran la fotodegradación de 5-MTHF por Rosa de Bengala. En la Figura 2A, 5-MTHF, a 25: M, pH 7,4, fue iluminada por la luz de una lámpara de tungsteno de 40 W pasado a través de un filtro de gelatina Wratten # 16 en presencia de 5: M Rosa de Bengala y 900 U de la dismutasa de superóxido ("SOD") en 100% O₂ (círculos), aire (cuadrados), o 1,8% de O₂ en argón (triángulos). En la Figura 2B, 5-MTHF, a 25: M, pH 7,4, fue iluminada por la luz de una lámpara de tungsteno de 40 W pasado a través de un filtro de gelatina Wratten n° 16 en presencia de 100% O₂ y en presencia de 10: M Rosa de Bengala y SOD con: no azida (triángulos), azida de 0,5 mM (cuadrados), o azida de 5 mM (círculos). En la Figura 2C, 5-MTHF, a 25: M, pH 7,4, fue iluminada por la luz de una lámpara de tungsteno de 40 W pasado a través de un filtro de gelatina Wratten n° 16 en presencia de 100% O₂ y en presencia de 10: M Rosa de Bengala y SOD con: no ascorbato (diamantes), ascorbato 0,2 mM (triángulos), ascorbato 1 mM (cuadrados), o ascorbato 2 mM (círculos).

La Figura 3 es una imagen de los experimentos de electroforesis en gel muestran que el 5-MTHF inhibe el daño de ADN mediada por UVA catalizada por pterina-6 ácido carboxílico ("PCA"). En el panel superior, superenrollado de ADN plásmido, PBR322 (0,1: g) se expuso durante 80 min a UVA en presencia de 50: M de PCA sola o en presencia de PCA junto con la adición continua de 5-MTHF como descrito en el Ejemplo 4. En el panel inferior, ADN de plásmido superenrollado, PBR322 (0,1: g) se expuso durante 80 min a UVA en presencia de 50: M de ácido fólico solo, ácido fólico añadió junto con 50: M 5-MTHF, o 5-MTHF solo. En cada caso, la mezcla de reacción (10: 1) y luego se sometió a electroforesis en gel de agarosa. Se indican las posiciones de una forma superenrollada (S), una forma circular mellada (relajada) (R), y una forma lineal (L).

La Figura 4 expone un posible mecanismo de la actividad foto-antioxidante 5-MTHF. 5-MTHF se agota a un ritmo más rápido en los bajos niveles de oxígeno singlete cuando la concentración de oxígeno es baja debido a reaccionar directamente con Rosa de Bengala fotoactivada ("R_B"). A altos niveles de O₂, que conducen al aumento de la formación de oxígeno singlete, el agotamiento de 5-MTHF se desacelera.

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0020] La presente invención, en un aspecto de la misma, se refiere a un folato reducido para su uso en un método de proteger un sujeto humano de los efectos dañinos de radiación ionizante, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de dicho al menos un folato reducido; en el que el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico y derivados poliglutamilos de los mismos.

10

[0021] "Sujeto", como se usa en el presente documento, pretende referirse a cualquier organismo que se beneficiaría de la protección de uno o más efectos perjudiciales de la radiación ionizante. Ejemplos de sujetos adecuados incluyen animales, tales como mamíferos, animales domésticos, animales salvajes, animales bovinos, equinos, porcinos, animales caninos, animales felinos, animales murinos, cabras, vacas, ganado, ovejas, cerdos, caballos, perros, gatos, conejos, ratones, ratas, tigres, osos, leones, aves, marsupiales, y similares. "Sujeto", como se usa en el presente documento, también se entiende que incluye los seres humanos, tales como los seres humanos masculinos, los seres humanos femeninos, los seres humanos adultos, seres humanos, adolescentes y niños. A modo de ilustración, los sujetos adecuados están destinados a incluir aquellos seres humanos u otros sujetos que están incurriendo en la exposición a niveles dañinos o niveles potencialmente dañinos de la radiación ionizante; así como aquellos humanos u otros sujetos que están en riesgo de incurrir exposición a niveles dañinos o potencialmente dañinos de los niveles dañinos de radiación ionizante. En este contexto, "nivel nocivo de la radiación ionizante" se entiende que se refiere a cualquier nivel de radiación que es mayor que meros niveles de fondo ionizante. "Nivel nocivo de la radiación ionizante" se entiende que incluye las dosis de radiación agudos de más de aproximadamente 1.000 millirem, tal como más de aproximadamente 2000 millirem, más de aproximadamente 3000 millirem, más de aproximadamente 4000 millirem, más de aproximadamente 5000 millirem, más de aproximadamente 10.000 millirem, más de aproximadamente 20.000 millirem, más de aproximadamente 50.000 millirem, más de aproximadamente 100.000 millirem, más de aproximadamente 200.000 millirem, y/o más de aproximadamente 500.000 millirem. "Nivel nocivos de la radiación ionizante" se entiende que incluyen también las formas continuas, intermitentes, o de otro tipo de las dosis de radiación crónicas por un total de más de aproximadamente 100 milirem por año, tal como más de aproximadamente 200 milirem por año, más de aproximadamente 300 milirem por año, más de alrededor de 400 milirem por año, más de alrededor de 500 milirem por año, más de 600 milirem por año, más de 700 milirem por año, más de alrededor de 800 milirem por año, más de 900 milirem por año, más de 1000 milirem por año, más de aproximadamente 2000 milirem por año, más de alrededor de 3000 milirem por año, más de aproximadamente 4.000 milirem por año, más de aproximadamente 5000 milirem por año, y/o más de aproximadamente 10.000 milirem por año. sujetos humanos adecuados incluyen aquellos que son empleados en o visitar una instalación de energía nuclear (p. ej., plantas de energía nuclear, instalaciones de procesamiento o de reelaboración de combustible nuclear, instalaciones de almacenamiento de combustible nuclear, etc.); aquellos que viven, trabajan, van a la escuela, o de otra manera pasan una cantidad significativa de tiempo cerca de una instalación de energía nuclear (p. ej., las centrales nucleares, instalaciones de procesamiento o reprocesamiento de combustible nuclear, instalaciones de almacenamiento de combustible nuclear, etc.); los que están estacionados en o visitar los submarinos de propulsión nuclear y otros tipos de embarcaciones de propulsión nuclear; aquellos que tienen su destino en o visitan submarinos nucleares y otros tipos de embarcaciones de propulsión nuclear; civiles que viven o que operan en zonas contaminadas por la precipitación de armas nucleares; el personal militar que operan en zonas contaminadas por la precipitación de armas nucleares; el personal de emergencia que se ocupa de los accidentes nucleares; civiles, personal militar, y el personal de emergencia que vive o trabaja en áreas contaminadas por la liberación de materiales radiactivos por terroristas; aquellos que viven, trabajan, van a la escuela, o de otra manera pasan una cantidad significativa de tiempo en estructuras que tienen altos niveles de gas radón; astronautas y otros viajeros del espacio; aquellos que con frecuencia vuelan a gran altura, por ejemplo, pilotos, asistentes de vuelo, etc.); aquellos que sufren de defectos en enzimas de reparación de ácido nucleico; etc. Adicional o alternativamente, el sujeto puede ser uno que es deficiente en ácido fólico, o el sujeto puede ser una persona que no es carencia de folato. Como se usa en la presente memoria, un sujeto debe ser visto como folato deficiente si el nivel de plasma homeostático del sujeto de folato reducido está por debajo de la norma para esa materia. En el caso de sujetos humanos, un sujeto humano debe ser visto, para los fines de la presente invención, como folato deficiente si el nivel de plasma homeostático del sujeto humano de folato reducido está por debajo de 20 nanomolar. Por el contrario, para los fines de la presente invención, un sujeto humano debe ser visto como no deficiente en folatos si el nivel en plasma estático del sujeto humano de folato reducido está en o por encima de 20 nanomolar.

[0022] "Radiación ionizante", como se usa en el presente documento, se entiende que incluye, por ejemplo, rayos X, rayos gamma, rayos cósmicos, partículas beta, partículas alfa, núcleos pesados de alta energía, protones de alta energía, electrones rápidos, positrones y partículas solares. La exposición a la radiación ionizante puede ser el resultado de una variedad de actividades, tales como exposiciones debido a la gran altitud de vuelo, viaje espacial, radioterapia, accidentes, y similares.

[0023] "Protección", como se usa en el contexto de la radiación ionizante, se entiende que se refiere a cualquier

65

reducción mensurable u observable de otro modo en uno o más de los efectos nocivos de la radiación ionizante. Tal reducción en un efecto perjudicial se puede determinar directamente, por ejemplo, mediante el control de ADN u otros cambios celulares, o indirectamente, por la evaluación cualitativa o cuantitativa de los síntomas de un sujeto que resulta de la exposición a radiación ionizante. Como se indicó anteriormente, la protección no tiene que ser y, en muchos casos, no será una reducción completa (100%) en los efectos nocivos de la radiación ionizante. A efecto ilustrativos, cualquier reducción en uno cualquiera (o dos o tres o más) de los efectos nocivos de la radiación ionizante se considera como "proteger" al sujeto de los efectos nocivos de la radiación ionizante. Tal reducción se puede observar en términos de la gravedad del efecto perjudicial, la duración del efecto perjudicial, o ambos; y, como se mencionó anteriormente, puede ser cualitativa o cuantitativa.

[0024] Ejemplos de efectos nocivos de la radiación de la que un sujeto puede ser protegido de acuerdo con la presente invención ionizante incluyen: enfermedad por radiación, la pérdida de cabello (alopecia), debilidad, fatiga, náuseas, vómitos, diarrea, quemaduras en la piel, sangrado del tracto gastrointestinal, sangrado de la membrana mucosa, desprendimiento gastrointestinal, desprendimiento de la mucosa oral, defectos genéticos, hematopoyético y/o destrucción de las células inmunocompetentes, esterilidad, cáncer de la médula ósea y otros tipos de cáncer, envejecimiento prematuro, muerte, enfermedad venooclusiva del hígado, hiperplasia vascular crónica de los vasos cerebrales, cataratas y pneumonites.

[0025] El folato reducido se puede administrar antes y/o durante la exposición del sujeto a la radiación ionizante, dependiendo (en parte) de la naturaleza de la exposición a la radiación ionizante. Por ejemplo, cuando la exposición es crónica (o donde el riesgo de exposición es elevado durante un largo período de tiempo) los folatos reducidos pueden ser administrados sobre una base regular, por ejemplo, una vez por día, múltiples veces por día (p. ej., dos veces por día, tres veces por día, cuatro veces al día, seis veces al día, etc.), o continuamente (p. ej., como en el caso en el que se administra el folato reducido en una formulación de liberación prolongada). Los folatos reducidos se pueden administrar a fin de mantener las concentraciones en plasma superiores a los niveles homeostáticos para el período de tiempo durante el cual se desea protección. Para los propósitos de la presente invención, el nivel homeostático es la concentración de folato reducido en el plasma de la sangre, tal como se mide en ayunas y después de aproximadamente 24 horas de cualquier suplemento de folato antes. Los niveles plasmáticos no será necesario determinar para cada individuo, sino, más bien, que se pueden proyectar sobre la base de los datos farmacocinéticos de un grupo de sujetos.

[0026] Se cree que los efectos protectores de los folatos reducidos se convierten en óptimos en un momento después de su concentración en el plasma alcanza un máximo. El tiempo para esta concentración máxima que se produzca (T_{max}) puede depender de la formulación en la que se administra el folato reducido y la dosis. Por ejemplo, una formulación de solución logra un T_{max} típicamente entre 0,5 y 2,0 horas (p. ej., entre 0,5 y 1,0 horas), mientras que otras formulaciones pueden tener más tiempo T_{max} . Ilustrativamente, donde se prevé que se produzca en un tiempo futuro conocido una exposición a la radiación, es deseable administrar (o comenzar la administración de) folato reducido en alrededor de T_{max} (0,5 y 2 horas para una formulación de solución) antes de la hora prevista de la exposición a la radiación) o la administración posterior (es decir, más de T_{max} antes de la hora prevista de la exposición a la radiación) o administración más tarde (es decir, menos de T_{max} antes de la hora prevista de la exposición a la radiación) todavía provoca en algún nivel de protección, aunque este nivel de protección puede no ser óptimo. Como se ha indicado anteriormente y como se discute más adelante, es ventajoso comenzar la administración al menos antes de la hora prevista de la exposición a la radiación T_{max} y continuar la administración regular de folato reducido (p. ej., una o más veces al día) durante el período de tiempo durante el cual el sujeto se expone a la radiación ionizante. Dosis consecutivas múltiples o una formulación de liberación por tiempo pueden usarse para alargar el tiempo durante el cual los niveles plasmáticos de folato reducido están en exceso de los niveles homeostáticos. La administración intravenosa puede utilizarse para lograr un aumento más rápido en las concentraciones plasmáticas de folato reducido. En el caso de sujetos humanos, folato reducido puede ser administrado a fin de alcanzar y/o mantener el nivel de plasma del sujeto de folato reducido a un valor mayor que 20 nanomolar, tal como mayor de aproximadamente 30 nanomolar, mayor que 40 nanomolar, mayor de aproximadamente 50 nanomolar, mayor que 60 nanomolar, más de aproximadamente 70 nanomolar, más de aproximadamente 80 nanomolar, más de aproximadamente 90 nanomolar, más de aproximadamente 100 nanomolar, más de aproximadamente 150 nanomolar, más de aproximadamente 200 nanomolar, más de aproximadamente 250 nanomolar, más de aproximadamente 300 nanomolar, más de aproximadamente 350 nanomolar, más de aproximadamente 400 nanomolar, más de aproximadamente 450 nanomolar, más de aproximadamente 500 nanomolar, más de aproximadamente 600 nanomolar, más de aproximadamente 700 nanomolar, mayor de aproximadamente 800 nanomolar, más de aproximadamente 900 nanomolar, más de aproximadamente 1 micromolar, más de aproximadamente 2 micromolar, más de aproximadamente 5 micromolar, más de aproximadamente 10 micromolar, más de aproximadamente 20 micromolar, más de aproximadamente 30 micromolar, más de aproximadamente 40 micromolar, más de aproximadamente 50 micromolar, etc.

[0027] En otra realización de la presente invención, folato reducido se administra rutinariamente (p. ej., diariamente) para el sujeto de modo que el nivel plasmático homeostático del sujeto de folato reducido se eleva a un valor por encima de aquél al que el sujeto sería considerado a deficiente en folatos. Por ejemplo, en el caso de sujetos humanos, folato reducido se puede administrar de forma rutinaria (p. ej., diariamente) al sujeto humano con el fin de aumentar el nivel de plasma homeostático del sujeto humano de folato reducido a un valor mayor que 20 nanomolar, tal como

mayor de aproximadamente 30 nanomolar, mayor que 40 nanomolar, más de aproximadamente 50 nanomolar, mayor que 60 nanomolar, más de aproximadamente 70 nanomolar, más de aproximadamente 80 nanomolar, más de aproximadamente 90 nanomolar, más de aproximadamente 100 nanomolar, mayor que alrededor de 120 nanomolar, más de aproximadamente 140 nanomolar, más de aproximadamente 160 nanomolar, más de aproximadamente 180 nanomolar, más de aproximadamente 200 nanomolar, etc. al aumentar el nivel de plasma homeostático del sujeto de folato reducido a un nivel que es más alto que se ha considerado en la técnica como suficiente, el método de la presente invención se puede utilizar para proteger al sujeto de exposiciones no anticipadas a la radiación ionizante.

[0028] Como se discutió anteriormente, el folato reducido se puede administrar antes y/o durante la exposición del sujeto a la radiación ionizante, dependiendo (en parte) de la naturaleza de la exposición a la radiación ionizante. Se apreciará que un sujeto que ha sido expuesto a la radiación de materiales radiactivos ionizantes puede contaminarse con materiales radiactivos (p. ej., por inhalación de gases radiactivos, por la ingestión de material radiactivo, por la contaminación de la piel o ropa, por absorción de yodo radiactivo, etc.), y, por lo tanto, el sujeto puede seguir expuesto a la radiación ionizante (o puede estar en riesgo de exposición continuada a la radiación ionizante) por un período de tiempo después de que el sujeto deje o se retire de la fuente principal de radiación ionizante (p. ej., el sitio de un accidente nuclear, el sitio de un ataque nuclear, el sitio de una detonación radiológica/nuclear de un terrorista, etc.). La administración de folato reducido después de que el sujeto haya abandonado o dejado la fuente principal de radiación ionizante pero mientras el sujeto continúa expuesto a la radiación ionizante como resultado de haber sido contaminado con materiales radiactivos (o mientras el sujeto está en riesgo de tal exposición continuada) debe ser considerada como una administración "durante" la exposición del sujeto a la radiación ionizante.

[0029] Como se discutió anteriormente, la presente invención implica la administración de al menos un folato reducido a la materia en la que el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico y derivados poliglutamilos de los mismos. Estos pueden ser administrados como isómeros naturales: 5-metil-(6S)ácido tetrahidrofólico, y derivados poliglutamilos de los mismos. Los isómeros naturales antes mencionados pueden administrarse en combinación con un isómero no natural correspondiente 5-metil-(6R)-ácido tetrahidrofólico y derivados de poliglutamilo del mismo), o pueden ser administrados solos (es decir, sustancialmente libres del isómero no natural correspondiente). Ilustrativamente, folatos reducidos adecuados incluyen 5-metil-ácido tetrahidrofólico racémico y derivados de poliglutamilos de los mismos.

[0030] El término "folato reducido" también está destinado a incluir derivados de poliglutamilos; así como de monoalquilo, dialquilo, monobencilo, y/o ésteres de dibencilo de cadena lateral del glutamato del folato reducido. Se cree que monoalquilo, ésteres de dialquilo, monobencil, y/o dibencil de cadena lateral del glutamato de folato reducido son especialmente útiles en formulaciones tópicas.

[0031] Los folatos reducidos pueden estar en la forma de un ácido libre o en la forma de una sal, y "folato reducido", como se usa en el presente documento, también se entiende que abarca tanto el ácido libre y formas de sal. Ejemplos de formas de sal adecuadas incluyen sales de clorhidrato, sodio, potasio, y magnesio. Como otro ejemplo, el folato reducido puede ser en forma de una sal de calcio. La estructura en forma de sal y el cristal del folato reducido afecta tanto la estabilidad y la solubilidad del ácido fólico reducido, y esto puede ser optimizado dependiendo de las necesidades de una formulación particular. Formas de sal adecuadas incluyen también aquellos en los que el contraión es una base de amina orgánica. El pH de la composición final también puede ser optimizado de acuerdo con las propiedades de estabilidad del folato reducido concreto usado y de los otros componentes presentes en la formulación (si los hay), como es bien entendido en las técnicas de compuestos de procesamiento y de folato de nutrientes.

[0032] El folato reducido se puede administrar solo o en una composición que contiene, además del folato reducido, uno o más de otros componentes. Ejemplos de formas de dosificación apropiadas incluyen formas de dosificación enteral (p. ej., oral, intragástrica o transpilórica), parenteral (intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, rectal, vaginal, y subcutánea), tópica, y ocular.

[0033] De forma ilustrativa, el folato reducido puede ser administrado por vía oral en la forma de un suplemento. Por ejemplo, píldoras, comprimidos, comprimidos masticables, cápsulas, polvos, siropes, suspensiones, soluciones y masticables blandas son formas adecuadas para la administración de folatos reducidos para la protección contra la radiación ionizante. Formulaciones con tiempo de retardo, de liberación lenta, y protegidas entéricamente también pueden ser utilizadas. Formas de dosificación apropiadas para los suplementos administrados por vía oral incluyen comprimidos, polvos dispersables, gránulos, cápsulas, suspensiones, jarabes, y elixires. Diluyentes inertes y portadores para tabletas incluyen, por ejemplo, carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa y talco. Los comprimidos también pueden contener agentes de granulación y desintegrantes, tales como almidón y ácido algínico; agentes, tales como almidón, gelatina y acacia vinculante; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, y talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertos mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción. Diluyentes inertes y portadores que pueden usarse en cápsulas incluyen, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio y caolín. Suspensiones, siropes, jarabes y elixires pueden contener excipientes convencionales, por ejemplo, metilcelulosa, tragacanto, alginato de sodio; agentes humectantes, tales como lecitina y estearato de polioxietileno; y conservantes, tales como etil-p-hidroxibenzoato. Otros ingredientes inertes también pueden estar presentes en las formas de dosificación para la administración oral.

[0034] Como se ha discutido anteriormente, las formas de dosificación para la administración oral pueden incluir materiales inertes, tales como cargas, agentes aglutinantes, estabilizadores, edulcorantes, incluyendo edulcorantes nutritivos (p. ej., sacarosa, sorbitol, y otros polioles) y edulcorantes no nutritivos (p. ej., sacarosa, aspartamo, y acesulfamo K), colorantes, sabores, tampones, sales, recubrimientos y similares, que son conocidos por los expertos en la técnica de suplemento y la formulación farmacéutica. Adicional o alternativamente, las formas de dosificación orales pueden incluir también uno o más (es decir, además del folato reducido) materiales biológicamente activos. Ejemplos de tales materiales biológicamente activos adicionales que pueden estar presentes en la composición incluyen: otras vitaminas y/o nutrientes (p. ej., el ácido fólico, la vitamina B1, la vitamina B2, la vitamina B3, la vitamina B5, la vitamina B6, la vitamina B12, la vitamina C; vitamina A y sus precursores, tales como beta-caroteno, la vitamina D, la vitamina E incluyendo formas isoméricas de vitamina E y derivados, la vitamina K; biotina; ácido pantoténico; metionina; colina; taurina; carnitina; acetil-carnitina; azúcares; lípidos; aminoácidos, tales como glutamina, arginina, y metionina; y proteínas), agentes reductores y antioxidantes, agentes radioprotectores (p. ej., yoduros, tales como yoduro de potasio y otras sales de yoduro; agentes radioprotectores esteroideos, especialmente esteroides y derivados de esteroides saben que es útil para mejorar la respuesta protectora del sistema inmune, por ejemplo, DHEA, 5-androstenediol y otros androstenedioles y androstetriol y sus derivados), tioles (por ejemplo, precursores de elevación de glutatión y glutatión, glutamina, cisteína, N-acetil-cisteína, ácido alfa-lipoico, cistinil-glicina, cictamina, S-alil cisteína sulfóxido, aminoetiloisotiourea, guanidina de mercaptoetilo, 2-mercaptopropionilglicina), sales de selenio, levadura selenizada, selenometioína, Co-enzima Q10, amifostina, hidroxilamina N-t-butilo y otros derivados de N-hidroxilamina, melatonina, dismutasa de superóxido, sus derivados y complejos de mimético de metales, agentes quelantes, fitoquímicos, polifenoles, extractos de productos naturales, incluyendo hierbas, hierbas chinas, preparaciones ayurvédicas, extractos de té, ditioltiones, verduras crucíferas, flavonoides, curcumina, metilxantinas, extractos de Ginkgo biloba, y minerales (p. ej., boro, calcio, fósforo, cromo, cobre, manganeso, magnesio, níquel, sodio, molibdeno, potasio, hierro, selenio, silicio, vanadio y zinc). Como ilustración adicional, los materiales biológicamente activos adicionales que se pueden utilizar en las composiciones de la presente invención incluyen los nutrientes esenciales, tales como los que se han recopilado en una serie de fuentes publicadas, incluyendo Modern Nutrition in Health and Disease, 8ª ed., Shils et al, eds, Philadelphia: Lea and Febiger (1994).

[0035] A modo de ilustración, en una realización de la presente invención, el folato reducido se administra en una composición que incluye el folato reducido y uno o más agentes radioprotectores. Ejemplos de agentes radioprotectores incluyen una sal de yoduro, tal como yoduro de potasio presente en una cantidad eficaz para reducir la absorción de yodo radiactivo desde el medio ambiente. Aunque los niveles más bajos de la suplementación con yoduro pueden ofrecer algún grado de protección contra la absorción de yodo radiactivo por la tiroides, las dosis diarias de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg (p. ej., de aproximadamente 8 mg a aproximadamente 260 mg de KI por día, de aproximadamente 16 mg a aproximadamente 130 mg) se cree que son particularmente eficaces. Los detalles relativos a la utilización de KI para reducir la absorción de yodo radiactivo desde el medio ambiente se presentan, por ejemplo, en "Guidance: Potassium Iodide as a Thyroid Blocking Agent in Radiation Emergencies", Rockville, Maryland: Departamento de Salud y Servicios Humanos, Administración de Alimentos y Medicamentos, Centro para la Evaluación e Investigación de Fármacos (CDER) (diciembre de 2001). Como ilustración adicional, el agente radioprotector puede ser un agente radioprotector esteroideo, tal como un androstenediol. Como apreciará un experto en la técnica, la composición que incluye el folato reducido y agente radioprotector adicional (es decir, además del folato reducido radioprotector) puede incluir además otros componentes, tales como materiales inertes y/o materiales biológicamente activos, tales como en el caso en el que la composición incluye además, en adición a la folato reducido, una o más de otras vitaminas. Ilustrativamente, tales composiciones están sustancialmente libres de la vitamina B12. Tal como se utiliza en este contexto, "sustancialmente libre de vitamina B12" significa que se refiere a composiciones en las que el nivel de vitamina B12 presente en la composición es insuficiente para tener un efecto apreciable sobre la protección contra los efectos nocivos de la radiación ionizante que la composición ofrece. Ilustrativamente, en el contexto de las composiciones para la protección de un sujeto contra los efectos nocivos de la radiación ionizante, las composiciones que contienen ninguna vitamina B12; que contiene la vitamina B12 en una cantidad que es igual o menor que la cantidad diaria recomendada de vitamina B12 para el sujeto. Tal como se usa en este documento, "cantidad diaria recomendada" se entiende que se refiere a la cantidad diaria recomendada en los Estados Unidos, que, para la vitamina B12, es de 6: g/día.

[0036] El folato reducido también se puede administrar por vía oral como un alimento que está fortificado con uno o más folatos reducidos. Los alimentos pueden ser alimentos de un solo componente, por ejemplo, frutas y jugos de frutas (p. ej., zumo de naranja), productos lácteos (p. ej., leche), hortalizas (p. ej., espinacas), otros alimentos, de un solo componente. Los alimentos también pueden ser preparados de múltiples componentes hechos de dos o más alimentos de un solo componente. Típicamente, los alimentos contienen diferentes concentraciones de folatos reducidos endógenos. Dependiendo de la naturaleza de los tratamientos necesarios, la fortificación se realiza a menudo de forma óptima después de cualquier paso de procesamiento especialmente destructivo, como es bien conocido en la técnica de enriquecimiento de los alimentos. Puesto que la cantidad de folatos endógenos reducidos presentes en el alimento puede variar, puede ser ventajoso saber la cantidad final (número de moles) de folato reducido en los alimentos o la preparación de alimentos, como se ha cuantificado, por ejemplo, mediante el análisis de una muestra de un lote de producto. Muchos métodos analíticos (como la dependencia del crecimiento microbiano, ensayos basados en proteína de unión a folato, HPLC y GC) están disponibles para la medición del contenido de folato reducido de alimentos, preparaciones de alimentos y suplementos.

5 **[0037]** Independientemente de si el folato reducido se administra oralmente a un sujeto humano en la forma de un suplemento que, en la forma de un alimento fortificado, o en la forma de una preparación alimentaria, la cantidad total de folato reducido administrado por dosis puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 2 milimoles (basado en el componente de isómero natural, si el folato reducido está presente como una mezcla de isómeros), tal como de 0,45 micromoles a 2 milimoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a alrededor de 2 milimoles, de 0,9 micromoles a 2 milimoles, de aproximadamente 1,8 micromoles a aproximadamente 2 milimoles de 1,8 micromoles a 2 milimoles, de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 1 milimol, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 1 milimol, de aproximadamente 1,8 micromoles a aproximadamente 1 milimol, de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 0,5 milimoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 0,5 milimoles, de aproximadamente 1,8 micromoles a aproximadamente 0,5 milimoles, de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 100 micromoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 100 micromoles, y/o de aproximadamente 1,8 micromoles a aproximadamente 100 micromoles.

15 **[0038]** Como se discutió anteriormente, la administración oral puede llevarse a cabo en una sola dosis, dosis múltiples, o continuamente. La cantidad de folato reducido contenida en una sola dosis, por supuesto, dependerá en parte de la pauta de dosificación y la cantidad total de folato reducido para ser administrada al sujeto en un periodo de tiempo dado (p. ej., por día), intervalos de dosificación diarios adecuados para la protección contra la exposición crónica a la radiación ionizante incluyen: de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 15 micromoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 15 micromoles, de 0,9 micromoles a 15 micromoles, de aproximadamente 1 micromoles a aproximadamente 15 micromoles, de aproximadamente 2 micromoles a aproximadamente 12 micromoles, de aproximadamente 3 micromoles a aproximadamente 10 micromoles, de aproximadamente 5 micromoles a aproximadamente 8 micromoles, etc.

25 **[0039]** Formas de dosificación adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones, dispersiones, emulsiones, y similares. También se pueden fabricar en forma de composiciones sólidas estériles que pueden ser disueltas o suspendidas en un medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Pueden contener agentes de suspensión o conocidos en la técnica de dispersión. Ejemplos de administración parenteral son administración intramuscular, intravenosa, rectal, y subcutánea.

30 **[0040]** Como se mencionó anteriormente, los folatos reducidos se pueden administrar por vías distintas de las rutas oral y parenteral. Por ejemplo, los folatos reducidos pueden ser administrados al ojo en forma de gotas, cremas o soluciones de gel o suspensiones adaptadas para la aplicación ocular. Los folatos reducidos también se pueden administrar por vía tópica, por ejemplo en una crema, loción, spray, o matriz de gel tópica convencional. Las formulaciones tópicas pueden beneficiarse de la incorporación de sistemas de administración que mejoran la penetración en la piel (p. ej., liposomas, etc.), como se conoce en la técnica. Ilustrativamente, formas de dosificación tópica se pueden formular de manera que contenga desde alrededor de 0,05 micromoles a aproximadamente 1 milimol, tal como de 0,05 micromoles a 1 milimol, de aproximadamente 0,1 micromoles a aproximadamente 0,5 milimoles, de aproximadamente 0,5 micromoles a aproximadamente 0,1 milimoles (basado en el componente de isómero natural, si el folato reducido está presente como una mezcla de isómeros) por metro cuadrado de área de cobertura. Se prefiere que pueden aplicar formulaciones tópicas, por adelantado, a la piel del sujeto en áreas de exposición anticipada. Las aplicaciones adicionales pueden ser útiles para mantener la presencia de los folatos reducidos durante un largo período de tiempo, o aplicaciones adicionales pueden ser útiles en el caso de una exposición significativa al agua.

45 **[0041]** Más detalles sobre la formulación de las composiciones descritas anteriormente en este documento, tales como composiciones para administración tópica, enteral, y la administración parenteral, se pueden encontrar, por ejemplo, en Handbook of Pharmaceutical Excipients, tercera edición (2000), American Pharmaceutical Association; The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 3ª edición, Lachman et al. 1986; Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Volume Edition, Christopher T, edición, 1995; y Remington's Pharmaceutical Sciences, 2000.

50 **[0042]** Se apreciará que la cantidad real preferida de folato reducido a administrar según la presente invención variará de acuerdo con el folato reducido en particular, la composición particular formulada, y el modo de administración. Muchos factores que pueden modificar la acción del folato reducido (p. ej., peso corporal, sexo, dieta, tiempo de administración, la vía de administración, velocidad de excreción, la condición del sujeto, combinaciones de fármacos, sensibilidades de reacción y gravedad, y el tipo, intensidad y duración de la radiación ionizante al que está expuesto el sujeto) pueden tenerse en cuenta por los expertos en la técnica. La administración puede llevarse a cabo de forma continua o periódicamente dentro de la dosis tolerada máxima. Las velocidades de administración óptimas para un conjunto dado de condiciones pueden ser determinadas por los expertos en la técnica usando ensayos de administración de dosificación convencionales.

60 **[0043]** La presente invención, en otro aspecto de la misma, se refiere a un folato reducido para su uso en un método para proteger un sujeto humano de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta, comprendiendo dicho método al menos un dicho folato reducido, en el que dicha composición está sustancialmente libre de vitamina B12 en que no contiene vitamina B12 o contiene una cantidad de vitamina B12 que es igual a o menor que la cantidad diaria recomendada de vitamina B12 para un sujeto humano y dicha cantidad diaria recomendada es de 6 pg/día, en donde

el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico, y derivados de poliglutamilo del mismo, y monoalquilo, dialquilo, y ésteres de monobencilo y/o dibencilo de una cadena lateral de glutamato del folato reducido.

5 **[0044]** Como se discutió anteriormente, "sujeto", como se usa en el presente documento, significa que se refiere a cualquier organismo que se beneficiaría de la protección de uno o más efectos nocivos de la radiación ultravioleta. Ejemplos de sujetos adecuados incluyen animales, tales como mamíferos, animales domésticos, animales salvajes, animales bovinos, animales equinos, porcinos, animales caninos, animales felinos, animales murinos, cabras, vacas, ganado, ovejas, cerdos, caballos, perros, gatos, conejos, ratones, ratas, tigres, osos, leones, pájaros, marsupiales, y
10 similares. "Sujeto", como se usa en el presente documento, también se entiende que incluye los seres humanos, tales como los seres humanos masculinos, los seres humanos femeninos, los seres humanos adultos, seres humanos, adolescentes y niños. A modo de ilustración, los sujetos adecuados están destinados a incluir aquellos seres humanos u otros sujetos que están incurriendo en la exposición a niveles dañinos o niveles potencialmente dañinos de la radiación ultravioleta; así como los seres humanos u otros sujetos que están en riesgo de sufrir una exposición a niveles dañinos o niveles potencialmente dañinos de la radiación ultravioleta (p. ej., las personas que esperan estar trabajando o no estar al aire libre durante largos períodos de tiempo y las personas que serán expuestas a fuentes artificiales de radiación ultravioleta, tal como de una cama de bronceado). Adicional o alternativamente, el sujeto puede ser uno que es deficiente en ácido fólico, o el sujeto puede ser una persona que no carece de folato. Como se usa en la presente memoria, un sujeto debe ser visto como deficiente de folato si el nivel de plasma homeostático del sujeto de folato reducido está por debajo de la norma para esa materia. En el caso de sujetos humanos, un sujeto humano debe ser visto, para los fines de la presente invención, como folato deficiente si el nivel de plasma homeostático del sujeto humano de folato reducido está por debajo de 20 nanomolar. Por el contrario, para los fines de la presente invención, un sujeto humano debe ser visto como no deficiente en folato si el nivel de plasma homeostático del sujeto humano de folato reducido está en o por encima de 20 nanomolar.

25 **[0045]** "Radiación ultravioleta", como se usa aquí, se entiende que incluye, por ejemplo, la radiación UV-A, la radiación UV-B, la radiación UV-C, la radiación UV de vacío, y combinaciones de dos o más de los tipos anteriores de la radiación ultravioleta.

30 **[0046]** "Protector", como se usa en el contexto de la radiación ultravioleta, pretende referirse a cualquier reducción mensurable u observable de otro modo en uno o más de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta. Tal reducción en un efecto perjudicial se puede determinar directamente, por ejemplo, mediante el control de ADN u otros cambios celulares, o indirectamente, por cualitativamente o cuantitativamente la evaluación de los síntomas de un sujeto que resultan de la exposición a la radiación ultravioleta. Tal como se indica más arriba, la protección no tiene por qué ser y, en muchos casos, no será una reducción completa (100%) de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta. Para los fines de ilustración, cualquier reducción en uno cualquiera (o dos o tres o más) de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta ha de interpretarse como "proteger" el sujeto de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta. Tal reducción se puede observar en términos de la gravedad del efecto perjudicial, la duración del efecto perjudicial, o ambos; y, como se mencionó anteriormente, puede ser cualitativo o cuantitativo.

40 **[0047]** Ejemplos de efectos nocivos de la radiación ultravioleta de la que un sujeto puede ser protegida de acuerdo con el método de la presente invención incluyen: fotoenvejecimiento de la piel, arrugas de la piel, el daño al ADN u otras formas de daño celular, aumento del riesgo o incidencia de las lesiones precancerosas de la piel, aumento del riesgo o incidencia de las lesiones cancerosas, el aumento de riesgo o incidencia de melanomas y otros tipos de
45 cáncer y de muerte.

[0048] El folato natural puede ser administrado antes y/o durante la exposición del sujeto a la radiación ultravioleta, dependiendo (en parte) de la naturaleza de la exposición a la radiación ultravioleta. Por ejemplo, cuando la exposición es crónica (o donde el riesgo de exposición es elevado durante un largo período de tiempo) los folatos reducidos pueden ser administrados sobre una base regular, por ejemplo, una vez por día, múltiples veces por día (p. ej., dos veces por día, tres veces por día, cuatro veces al día, seis veces al día, etc.), o continuamente (p. ej., como en el caso en el que se administra el folato reducido en una formulación de liberación prolongada). Los folatos reducidos se pueden administrar a fin de mantener las concentraciones en plasma superiores a los niveles homeostáticos para el período de tiempo durante el cual se desea protección. Como se discutió anteriormente, para los fines de la presente invención, el nivel homeostático es la concentración de folato reducido en el plasma de la sangre, tal como se mide en ayunas y después de aproximadamente 24 horas de cualquier suplemento de folato previo. Los niveles plasmáticos no serán necesariamente determinados para cada individuo, sino, más bien, se pueden proyectar sobre la base de los datos farmacocinéticos de un grupo de sujetos.

60 **[0049]** Se cree que los efectos protectores de los folatos reducidos se convierten en óptimos en un momento después de su concentración en el plasma alcanza un máximo. El tiempo para esta concentración máxima que se produzca (Tmax) puede depender en la formulación en la que se administra el folato reducido y la dosis. Por ejemplo, una formulación de solución logra un Tmax típicamente entre 0,5 y 2,0 horas (p. ej., entre 0,5 y 1,0 horas), mientras que otras formulaciones pueden tener más tiempo Tmax. Ilustrativamente, donde se prevé que se produzca en un tiempo futuro conocido una exposición a la radiación ultravioleta, es deseable administrar (o comenzar la administración de)
65 folato reducido en alrededor de Tmax (0,5 y 2 horas para una formulación de solución) antes de la hora prevista de la

exposición a la radiación. La administración anterior (es decir, más de Tmax antes de la hora prevista de la exposición ultravioleta) o la administración posterior (es decir, menos de Tmax antes de la hora prevista de la exposición ultravioleta) todavía provoca en algún nivel de protección, aunque este nivel de protección puede no ser óptimo. Como se ha indicado anteriormente y como se discute más adelante, es ventajoso comenzar la administración al menos antes de la hora prevista de la exposición ultravioleta Tmax y continuar la administración regular de folato reducido (por ejemplo, una o más veces al día) durante el período de tiempo durante el cual se expone al sujeto a la radiación ultravioleta. Dosis consecutivas múltiples o una formulación de liberación a tiempo se pueden utilizar para alargar el tiempo durante el cual los niveles plasmáticos de folato reducido están en exceso de los niveles homeostáticos. Como otra ilustración adicional, en el caso de sujetos humanos, el folato reducido puede ser administrado al sujeto humano con el fin de alcanzar y/o mantener el nivel de plasma del sujeto de folato reducido a un valor mayor que 20 nanomolar, tal como más de aproximadamente 30 nanomolar, más de 40 nanomolar, más de aproximadamente 50 nanomolar, más de 60 nanomolar, más de aproximadamente 70 nanomolar, más de aproximadamente 80 nanomolar, más de aproximadamente 90 nanomolar, más de aproximadamente 100 nanomolar, más de aproximadamente 150 nanomolar, más de aproximadamente 200 nanomolar, más de aproximadamente 250 nanomolar, más de aproximadamente 300 nanomolar, más de aproximadamente 350 nanomolar, más de aproximadamente 400 nanomolar, más de aproximadamente 450 nanomolar, más de aproximadamente 500 nanomolar, más de aproximadamente 600 nanomolar, más de aproximadamente 700 nanomolar, más de aproximadamente 800 nanomolar, más de aproximadamente 900 nanomolar, más de aproximadamente 1 micromolar, etc.

[0050] En otra realización de la presente invención, folato reducido se administra rutinariamente (p. ej., diariamente) al sujeto de modo que el nivel de plasma homeostático del sujeto de folato reducido se eleva a un valor por encima de aquél al que sería considerado el sujeto deficiente en folato. Por ejemplo, en el caso de sujetos humanos, folato reducido se puede administrar de forma rutinaria (p. ej., diariamente) al sujeto humano con el fin de aumentar el nivel de plasma homeostático del sujeto humano de folato reducido a un valor mayor que 20 nanomolar, tal como mayor de aproximadamente 30 nanomolar, mayor que 40 nanomolar, más de aproximadamente 50 nanomolar, más de 60 nanomolar, más de aproximadamente 70 nanomolar, más de aproximadamente 80 nanomolar, más de aproximadamente 90 nanomolar, más de aproximadamente 100 nanomolar, más de aproximadamente 120 nanomolar, más de aproximadamente 140 nanomolar, más de aproximadamente 160 nanomolar, más de aproximadamente 180 nanomolar, más de aproximadamente 200 nanomolar, etc. al aumentar el nivel de plasma homeostático del sujeto de folato reducido a un nivel que es más alto que el que ha sido considerado en la técnica para ser suficiente, el método de la presente invención se puede utilizar para proteger al sujeto de exposiciones no anticipadas a la radiación ultravioleta.

[0051] Como se discutió anteriormente, la presente invención implica administrar al menos un folato reducido al sujeto. folatos reducidos adecuados incluyen todos aquellos discutidos anteriormente en el contexto de la protección de los sujetos de la radiación ionizante, así como mezclas de dos o más folatos reducidos; derivados de poliglutamilos; y de monoalquilo, de dialquilo, ésteres de monobencilo, y/o dibencilo de cadena lateral del glutamato del ácido fólico reducido. Los folatos reducidos pueden estar en la forma de un ácido libre o en la forma de una sal, y "folato reducido", como se usa en el presente documento, también se entiende que abarca tanto el ácido libre y formas de sal. Ejemplos de formas de sales adecuadas incluyen hidrocloreuro, sodio, potasio, calcio y sales de magnesio. La estructura en forma de sal y cristal del folato reducido afecta a la estabilidad y la solubilidad del folato reducido, y esto puede ser optimizado en función de las necesidades para una formulación particular. Formas de sal adecuadas incluyen también aquellas en las que el contraión es una base de amina orgánica. El pH de la composición final también puede ser optimizado de acuerdo con las propiedades de estabilidad del folato reducido particular usado y de los otros componentes presentes en la formulación (si los hay), como es bien entendido en las técnicas de compuestos de procesamiento y de folato de nutrientes.

[0052] Como se indicó anteriormente, la protección de un sujeto contra los efectos nocivos de la radiación ultravioleta se lleva a cabo con una composición que está sustancialmente libre de vitamina B12. Como se usa en este contexto, "sustancialmente libre de vitamina B12" significa que se refiere a composiciones en las que el nivel de vitamina B12 presente en la composición es insuficiente para tener un efecto apreciable sobre la protección contra los efectos nocivos de la radiación ultravioleta que ofrece la composición. Ilustrativamente, en el contexto de las composiciones para la protección de un sujeto contra los efectos nocivos de la radiación ultravioleta, las composiciones que no contienen vitamina B12; que contiene la vitamina B12 en una cantidad que es igual o menor que la cantidad diaria recomendada de vitamina B12 para el sujeto. Como se discutió anteriormente, "cantidad diaria recomendada", como se usa en el presente documento, significa que se refiere a la cantidad diaria recomendada en los Estados Unidos, que, para la vitamina B12, es de 6: g/día.

[0053] El folato reducido se puede administrar solo o en una composición que contiene, además del folato reducido, uno o más de otros componentes. Ejemplos de formas de dosificación apropiadas incluyen formas de dosificación enterales (p. ej., orales, intragástricas o transpilóricas), parenterales (intramusculares, intravenosas, rectales, vaginales, y subcutáneas), tópicas, y oculares.

[0054] De forma ilustrativa, el folato reducido puede ser administrado por vía oral en la forma de un suplemento. Por ejemplo, píldoras, comprimidos, comprimidos masticables, cápsulas, polvos, siropes, suspensiones, soluciones y masticables blandas son formas adecuadas para la administración de folatos reducidos para la protección contra la

radiación ultravioleta. Tiempo de retardo, de liberación lenta, y las formulaciones entéricamente protegidas también pueden ser utilizadas. Formas de dosificación adecuadas para los suplementos administrados por vía oral incluyen comprimidos, polvos dispersables, gránulos, cápsulas, suspensiones, jarabes, y elixires. diluyentes inertes y portadores para comprimidos incluyen, por ejemplo, carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa y talco. Los comprimidos también pueden contener agentes de granulación y desintegrantes, tales como almidón y ácido algínico; agentes, tales como almidón, gelatina y acacia vinculante; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, y talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertos mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción. diluyentes inertes y portadores que pueden usarse en cápsulas incluyen, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio y caolín. Suspensiones, jarabes y elixires pueden contener excipientes convencionales, por ejemplo, metilcelulosa, tragacanto, alginato de sodio; agentes, tales como lecitina y estearato de polioxi-etileno; y conservantes, tales como etil-p-hidroxibenzoato. Otros ingredientes inertes también pueden estar presentes en las formas de dosificación para la administración oral.

[0055] Como se ha discutido anteriormente, las formas de dosificación para la administración oral pueden incluir materiales inertes, tales como cargas, agentes aglutinantes, estabilizadores, edulcorantes, incluyendo edulcorantes nutritivos (p. ej., sacarosa, sorbitol, y otros polioles) y edulcorantes no nutritivos (p. ej., sacarina, aspartamo, y acesulfamo K), colorantes, sabores, tampones, sales, recubrimientos y similares que son conocidos para los expertos en la técnica de suplemento y la formulación farmacéutica. Adicional o alternativamente, las formas de dosificación orales pueden incluir también uno o más (es decir, además del folato reducido) materiales biológicamente activos. Ejemplos de tales materiales biológicamente activos adicionales que pueden estar presentes en la composición incluyen: otras vitaminas y/o nutrientes (p. ej., el ácido fólico, la vitamina B1, la vitamina B2, la vitamina B3, la vitamina B5, la vitamina B6, la vitamina C, la vitamina A y sus precursores, tales como beta-caroteno, la vitamina D, la vitamina E e incluyendo formas isómeras de vitamina E y derivados; vitamina K; biotina, ácido pantoténico; metionina; colina; taurina; carnitina; acetil-carnitina; azúcares; lípidos; aminoácidos, tales como glutamina, arginina, y metionina; y proteínas), agentes reductores y antioxidantes, tioles (p. ej., precursores de elevación de glutatión y glutatión, glutamina, cisteína, N-acetil-cisteína, ácido alfa-lipoico, cistinil-glicina, cictamina, S-alil cisteína sulfóxido, aminoetiloisotiourea, guanidina mercaptoetil, 2-mercaptopropionilglicina), sales de selenio, levadura selenizada, selenometioína, Co-enzima Q10, amifostina, hidroxilamina N-t-butilo y otros derivados de N-hidroxilamina, la melatonina, dismutasa de superóxido, sus derivados y complejos de mimético de metales, agentes quelantes, productos fitoquímicos, polifenoles, esteroides y derivados de esteroides (especialmente los que sabemos que son útiles para mejorar la respuesta protectora del sistema inmune, por ejemplo, DHEA, 5-androstenediol, androstenodiol y androstenetriol y sus derivados), extractos de productos naturales incluyendo hierbas, las hierbas chinas, preparaciones ayurvédicas, extractos de té, ditioliones, verduras crucíferas, flavanoides, la curcumina, metilxantinas, extractos de Gingko biloba, y minerales (p. ej., boro, calcio, fósforo, cromo, cobre, manganeso, magnesio, níquel, sodio, molibdeno, potasio, hierro, selenio, silicio, vanadio y zinc). Como ilustración adicional, los materiales biológicamente activos adicionales que se pueden utilizar en los métodos de protección ultravioleta de los nutrientes esenciales de la presente invención incluyen, tales como los que han sido recopilados en una serie de fuentes publicadas, incluyendo *Modern Nutrition in Health and Disease*, octava ed, Shils et al, eds, Philadelphia: Lea y Febiger (1994).

[0056] El folato reducido también se puede administrar por vía oral como un alimento que está fortificado con uno o más folatos reducidos. Los alimentos pueden ser alimentos de un solo componente, por ejemplo, frutas y jugos de frutas (p. ej., zumo de naranja), productos lácteos (p. ej., leche), hortalizas (p. ej., espinacas), otros alimentos, de un solo componente. Los alimentos también pueden ser preparados de múltiples componentes hechos de dos o más alimentos de un solo componente. Típicamente, los alimentos contienen diferentes concentraciones de folatos reducidos endógenos. Dependiendo de la naturaleza del procesamiento necesario, la fortificación se realiza a menudo de manera óptima después de cualquier paso de procesamiento especialmente destructivo, como es bien conocido en la técnica de la fortificación de alimentos. Puesto que la cantidad que los folatos reducidos endógenos presentes en el alimento puede variar, puede ser ventajoso saber la cantidad final (número de moles) de folato reducido en los alimentos o preparación de alimentos, como se ha cuantificado, por ejemplo, mediante el análisis de una muestra de un lote de producto. Muchos métodos analíticos (como la dependencia de crecimiento microbiano, ensayos basados en proteína de unión a folato, HPLC y GC) están disponibles para la medición del contenido de folato reducido de alimentos, preparaciones de alimentos y suplementos.

[0057] Independientemente de si el folato reducido se administra oralmente a un sujeto humano en la forma de un suplemento que, en la forma de un alimento fortificado, o en la forma de una preparación alimentaria, la cantidad total de folato reducido administrado por dosis puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 50 micromoles (basado en el componente de isómero natural, si el folato reducido está presente como una mezcla de isómeros), tal como de 0,45 micromoles a 50 micromoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 50 micromoles, de 0,9 micromoles a 50 micromoles, de aproximadamente 1,8 micromoles a aproximadamente 50 micromoles, de 1,8 micromoles a 50 micromoles, de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 25 micromoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 25 micromoles, de aproximadamente 1,8 micromoles a aproximadamente 25 micromoles, de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 10 micromoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 10 micromoles, de aproximadamente 1,8 micromoles a aproximadamente 10 micromoles, de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 5 micromoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 5 micromoles, de

aproximadamente 1,8 micromoles a aproximadamente 5 micromoles, de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 2 micromoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 2 micromoles, y/o de aproximadamente 1,8 micromoles a aproximadamente 2 micromoles.

5 **[0058]** Como se discutió anteriormente, la administración oral puede llevarse a cabo en una sola dosis, dosis múltiples, o continuamente. La cantidad de folato reducido contenida en una sola dosis, por supuesto, dependerá en parte de la pauta de dosificación y la cantidad total de folato reducido para ser administrada al sujeto en un periodo de tiempo dado (p. ej., por día). dosis diaria adecuada oscila para la protección contra la exposición crónica a la radiación ultravioleta incluyen: de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 15 micromoles, de aproximadamente 0,9 micromoles a aproximadamente 15 micromoles, de 0,9 micromoles a 15 micromoles, de aproximadamente 1 micromoles a aproximadamente 15 micromoles, de aproximadamente 2 micromoles a aproximadamente 12 micromoles, de aproximadamente 3 micromoles a aproximadamente 10 micromoles, de aproximadamente 5 micromoles a aproximadamente 8 micromoles, etc.

15 **[0059]** Las formas de dosificación adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones, dispersiones, emulsiones, y similares. También se pueden fabricar en forma de composiciones sólidas estériles que pueden ser disueltas o suspendidas en un medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Pueden contener agentes de suspensión o conocidos en la técnica de dispersión. Ejemplos de administración parenteral son administración intramuscular, intravenosa, rectal, y subcutánea.

20 **[0060]** Como se mencionó anteriormente, los folatos reducidos se pueden administrar por vías distintas de las rutas oral y parenteral. Por ejemplo, los folatos reducidos pueden ser administrados al ojo en forma de gotas, cremas o soluciones de gel o suspensiones adaptadas para la aplicación ocular. Los folatos reducidos también se pueden administrar por vía tópica, por ejemplo en una crema, loción, spray, o matriz de gel tópica convencional. Las formulaciones tópicas pueden beneficiarse de la incorporación de sistemas de administración que mejoran la penetración de la piel (p. ej., liposomas, etc.), como se conoce en la técnica. Las formulaciones tópicas de los folatos reducidos también pueden incluir uno o más agentes de protección solar o bloqueador solar, tales como los conocidos en la técnica. Ilustrativamente, formas de dosificación tópica se pueden formular de manera que contenga desde alrededor de 0,05 micromoles a aproximadamente 1 milimol, tal como de 0,05 micromoles a 1 milimol, de aproximadamente 0,1 micromoles a aproximadamente 0,5 milimoles, de aproximadamente 0,5 micromoles a aproximadamente 0,1 milimoles (basado en el componente de isómero natural, si el folato reducido está presente como una mezcla de isómeros) por metro cuadrado de área de cobertura. Se prefiere que pueden aplicar formulaciones tópicas, por adelantado, a la piel del sujeto en áreas de exposición anticipada. Las aplicaciones adicionales pueden ser útiles para mantener la presencia de los folatos reducidos durante un largo período de tiempo, o aplicaciones adicionales pueden ser útiles en caso de exposición al agua.

35 **[0061]** Más detalles sobre la formulación de las composiciones descritas anteriormente en este documento, tales como composiciones para administración tópica, enteral, y la administración parenteral, se pueden encontrar, por ejemplo, en Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3ª Edición (2000), American Pharmaceutical Association; The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 3ª Edición, Lachman et al. 1986; Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Volume Edition, Christopher T, edición, 1995; y Remington's Pharmaceutical Sciences, 2000.

40 **[0062]** Se apreciará que la cantidad real preferida de folato reducido a administrar según la presente invención variará de acuerdo con el folato reducido particular, la composición particular formulada, y el modo de administración. Muchos factores que pueden modificar la acción del folato reducido (p. ej., peso corporal, sexo, dieta, tiempo de administración, la vía de administración, velocidad de excreción, la condición del sujeto, combinaciones de fármacos, sensibilidades de reacción y gravedad, y el tipo, intensidad y duración de la radiación ultravioleta a la que está expuesto el sujeto) pueden tenerse en cuenta por los expertos en la técnica. La administración puede llevarse a cabo de forma continua o periódicamente dentro de la dosis tolerada máxima. Las velocidades de administración óptimas para un conjunto dado de condiciones pueden ser determinadas por los expertos en la técnica usando ensayos de administración de dosificación convencionales.

50 **[0063]** La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

55 EJEMPLOS

Ejemplo 1 -- Efecto de folatos reducidos en destrucción de rayos X de fluoresceína

60 **[0064]** La prevención de la decadencia de fluoresceína (en concentración nanomolar en 10 mM de tampón de fosfato de pH 7,0) por los rayos X se examinó en presencia de diversas concentraciones de 5-metil-tetrahidrofolato o 5-formil-tetrahidrofolato. Viales de plástico (1,5 ml) fueron completamente presentados con la mezcla de reacción, se sumerge en un tanque de agua a una distancia fija desde la cara del tanque, y se expusieron a radiación de rayos X durante 8 minutos para dar una exposición total de 25 Gy. La fluorescencia residual de la fluoresceína se midió en un fluorómetro Perkin Elmer LS 50B. Una concentración de entre aproximadamente 20 micromolar y 30 micromolar de los folatos anteriores proporcionados de protección 50% contra la pérdida de fluorescencia debido a la destrucción de la fluoresceína.

Ejemplo 2 -- Efecto de folatos reducidos en X-Ray De- struction de ADN

[0065] ADN plásmido superenrollado, PBR322 se diluyó en tampón fosfato 10 mM, pH 7,0 junto con variadas concentraciones de 5-metiltetrahidrofolato o 5-formil-tetrahidrofolato. Viales de plástico (1,5 ml) fueron completamente presentados con la mezcla de reacción, se sumerge en un tanque de agua a una distancia fija desde la cara del tanque, y se expusieron a radiación de rayos X durante 1,6 minutos para dar un total de exposición de 5 Gy. El ADN superenrollado residual se separó de las formas relajadas y linealizadas por electroforesis en geles en argarosa, teñido con bromuro de etidio, y cuantitativamente escaneado en una fluorescencia de imágenes Fuji FLA 5000. Una concentración de entre aproximadamente 30 micromolar y 40 micromolar de los folatos anteriores proporcionados de protección 50% contra la pérdida de ADN superenrollado, es decir, a través de roturas de la cadena.

Ejemplo 3 -- 5-metiltetrahidrofolato Inhibe reacciones de fotosensitización y roturas de la cadena en el ADN

[0066] En este estudio, monitorizamos 5-metiltetrahidrofolato ("5-MTHF") expuesto a los rayos UVA, UVB, o de la luz visible, en presencia y ausencia de fotosensibilizadores y probó su efecto sobre la fotoescisión de ADN de plásmido. Se encontró 5-MTHF a ser estable cuando se ilumina solo, sin embargo, fue empobrecido en reacciones de fotosensibilización mientras temple el fotosensibilizador excitado y barrido de oxígeno singlete. Incluso a concentraciones por debajo de 10: M, 5-MTHF impidió fotodegradación de ácido fólico y roturas de hebra en el ADN de plásmido en presencia de pterina 6-ácido carboxílico fotoexcitado ("PCA").

[0067] En este estudio, también realizamos una nueva evaluación de las propiedades fotoquímicas de ácido fólico. El foto-producto de pteridina de ácido fólico fue propuesto originalmente para ser 6-formil-pterina (6-FP). Estudios más recientes también identificaron el producto p-aminobenzoilglutamato adicional y han demostrado que 6-FP está más degradada para producir PCA. Al hacer un seguimiento de las reacciones de fotólisis por HPLC confirmamos que el ácido fólico expuesto a UVA produce inicialmente p-aminobenzoilglutamato y 6-FP, que a su vez está oxidizado a PCA. Resultados similares se encontraron con la exposición a los rayos UVB.

[0068] El destino de 5-metiltetrahidrofolato se determinó bajo las mismas condiciones. Se encontró que el 5-MTHF expuesto a los rayos UVA o UVB fue degradado sólo en la misma medida observada en ausencia de luz; por ejemplo, < 5% autooxidación en 1 h. Cuando la foto descomposición de ácido fólico se monitorizó en presencia de 5-MTHF, 5-MTHF inhibió la fotólisis de ácido fólico en una forma de sacrificio. El ácido fólico se mantuvo hasta que 5-MTHF decayó por debajo de 1: M concentración, como se muestra en la Figura 1.

[0069] Para el estudio de la reacción de 5-MTHF en una reacción de fotosensibilización caracterizada se utilizó rosa de Bengala. Ya que Rosa de Bengala iluminada puede generar radicales de superóxido, además de oxígeno singlete (Lee et al, Photochem Photobiol, 45: 79-86 (1987), dismutasa de superóxido se incluyó en las mezclas de reacción Como se muestra en la Figura 2A, se encontró que 5-MTHF se agotaba en presencia de luz visible sensibilizada Rosa de Bengala, dando lugar a los mismos productos generados por autooxidación. Para diferenciar las reacciones de 5-MTHF con estado excitado Rosa de Bengala versus oxígeno singlete, los experimentos se llevaron a cabo en varios niveles de oxígeno. Como se muestra en la Figura 2A, la tasa de agotamiento de 5-MTHF se desaceleró a medida que aumentó la concentración de O₂. Sin embargo, el burbujeo vigoroso de la reacción con argón ralentizó el agotamiento a una tasa menor que la obtenida con 100% de oxígeno.

[0070] Para determinar si el agotamiento está mediado al menos en parte por el oxígeno singlete, se determinó la pérdida de 5-MTHF en las mismas condiciones experimentales con 100% de O₂. Pero en presencia de aumento de las concentraciones de azida. Como se muestra en la Figura 2B, la tasa inicial para el agotamiento de 5-MTHF se redujo en aproximadamente el 80% con azida de 5 mM que indica la implicación de oxígeno singlete. Como se muestra además en la figura 2B, una concentración de azida 0,5 mM disminuyó la tasa de agotamiento de 5-MTHF en alrededor de 50%. En presencia de 50: M PCA, un generador eficiente de oxígeno singlete (Thomas et al, Photochem Photobiol Sci, 2: 245-250 (2003), 5-MTHF en concentración inicial de 25: M era agotado por completo por 15 min bajo la exposición UVA.

[0071] Se encontró que la tasa de pérdida de 5-MTHF en reacciones de fotosensibilización inducidas por Rosa Bengal en altos niveles de oxígeno para disminuirse en la presencia de niveles mM de ascorbato de sodio, tal como se muestra en la Figura 2C. La tasa de pérdida de 5-MTHF aumentó con el tiempo en paralelo con la pérdida del ascorbato. La limitación del método de HPLC actual no permitía la medición de la velocidad inicial de pérdida de 5-MTHF. En las condiciones de iluminación UVA en presencia de 10: M PCA, ascorbato 1 mM de forma sustancial mantuvo 25: M 5-MTHF a largo de la reacción.

[0072] Aunque el ADN no es un cromóforo para la radiación UVA, puede ser dañado por reacciones oxidativas iniciadas por fotosensibilizadores (Fiel y otros, Cancer Res, 41: 3543-3545 (1981) y Blazek et al, Photochem. Photobiol, 49: 607-613 (1989) la exposición de plásmido ADN superenrollado a los rayos UVA durante 80 min en presencia de 50: M ácido fólico o 50: M PCA produjo un alto porcentaje de roturas de hebra, como se muestra en la Figura 3 (panel superior). Exposición UV no tuvo ningún efecto perjudicial sobre el plásmido superenrollado (también se muestra en el panel superior de la Figura 3) como previamente se informó (Hirakawa et al, Arch.Biochem Biophys, 410: 261-268 (2003). También, ácido fólico o PCA, en 50: M, no tuvo ningún efecto cuando se incubaba con el plásmido durante 80

min en la oscuridad.

[0073] Como se señaló anteriormente, 5-MTHF se agota cuando participa en las reacciones de fotosensibilización. Con el fin de ayudar a mantener su concentración, 0,25 mM 5-MTHF se bombea en mezclas de reacción a 1,1 :1/min que contenía o bien 50 :M ácido fólico o 50 :M PCA, y su concentración residual se analizó por HPLC en varios momentos durante la exposición UV. En ambos casos, daño de ADN mediado por UVA fue inhibido por 5-MTHF que, a pesar de la adición continua, se redujo de 10: M a 0,25: M inicial por el final de la reacción (Figura 3, panel inferior). La azida de sodio en 10 mM también proporcionó una protección completa en las mismas condiciones, lo que confirma que el daño está mediado en gran parte por el oxígeno singlete.

[0074] Fotodegradación del folato natural directamente por los rayos UVA no se produjo en ausencia de fotosensibilizadores. Esto puede explicarse por la falta de absorbancia significativa de 5-MTHF por encima de 330 nm. Curiosamente, la estabilidad de 5-MTHF también se vio afectada por la irradiación UVB, que se solapa con su absorción a 290 nm. Es poco probable que el oxígeno singlete se produce en la interacción de 5-MTHF con UVB; de otro modo 5-MTHF se habría agotado a un ritmo más rápido que su auto-oxidación en la oscuridad. El estado excitado del 5-MTHF presumiblemente se somete a energía de desintegración no radiativa y/o libera energía por fluorescencia más rápidamente que su interacción con el oxígeno molecular.

[0075] La pérdida más lenta de 5-MTHF en reacción Rosa de Bengala bajo altas concentraciones de O₂ (Como se muestra en la Figura 2A) indica que, además de la extinción del estado excitado del fotosensibilizador, 5-MTHF reacciona con el oxígeno singlete, aunque a un ritmo más lento. Esto se ilustra en la Figura 4. En una reacción de competición, 5-MTHF se encontró que era aproximadamente 20 veces más eficaz que la azida en oxígeno singlete scavenger en altas concentraciones de O₂ (Figura 2B). Puesto que la constante de velocidad para la reacción de azida con el oxígeno singlete en el agua es $4,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ (Miskoski et al, Photochem Photobiol, 57: 447-452 (1993), la reacción de 5-MTHF con oxígeno singlete parece ser casi difusión limitada. La falta de completa inhibición de la depleción de 5-MTHF por 5 mM de azida puede deberse a una reacción residual de 5-MTHF con Rosa de Bengala fotoactivada. Saturación de la reacción incluso con 100% de oxígeno (es decir, ~1,4 mM) puede no haber sido suficiente para conducir completamente la reacción en la vía de oxígeno singlete (ilustrado en Figura 4).

[0076] Generación de roturas de cadena en el ADN se ha informado previamente que se asocia con la formación de oxígeno singlete en las reacciones de fotosensibilización (Fiel et al, Cancer Res, 41: 3543-3545 (1981); Ravanat et al, J. Photochem. Photobiol B, 63: 88-102 (2001); Ito et al, Biol Chem, 378: 1307-1312 (1997); Ravanat et al, J. Biol Chem, 276: 40601 a 40604 (2001); y Devasagayam et al, Biochemistry, 30: 6,283 a 6289 (1991) El oxígeno singlete se produce por PCA y 6-FP y ha sido sugerido para participar en la fotodegradación de ácido fólico (Thomas et al, Photochem Photobiol Sci, 2: 245-250 (2003) Esto puede explicar la aceleración observada de la fotodegradación de ácido fólico en el presente estudio, se confirmó que PCA sirve como un fotosensibilizador y cataliza formación de roturas de hebra de ADN durante la exposición a UVA, como se informa en Hiraakawa et al, Arch. Biochem Biophys, 410: 261-268 (2003). en contraste con el mecanismo propuesto por Hiraakawa de transferencia de electrones (tipo I), los hallazgos de que azida de daño en el ADN inhibido en las reacciones de fotosensibilización mediadas por PCA implican que el oxígeno singlete también puede estar implicado en el efecto dañino de ácido fólico y sus fotoproductos.

[0077] Hay muchos fotosensibilizadores endógenos que pueden conducir a daño solar (Fiel et al, Cancer Res, 41: 3543 a 3545 (1981); Fiel et al, Biochem Biophys Res Commun, 107: 1067-1074 (1982); y Mahns et al, Free Radical Res, 37: 391-397 (2003) el ácido fólico no metabolizado se ha detectado en el plasma de individuos consumiendo más que 200: g de ácido fólico (Kelly et al, Am J. Clin Nutr, 65: 1790-1795 (1997) dado que los niveles tisulares de ácido fólico sin metabolizar en la piel son actualmente desconocidos, queda por establecer la contribución de ácido fólico para reacciones de fotosensibilización.

[0078] Se encontró ascorbato en concentraciones fisiológicas para reducir el agotamiento mediando por fotosensibilización de 5-MTHF, como se muestra en la Figura 2C. Dado que la segunda constante de velocidad para la reacción de oxígeno singlete con ascorbato en agua es $8,3 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ (Chou et al, Biochem Biophys Res Commun, 115: 932-937 (1983), la pseudo velocidad de primer orden con ascorbato 2 mM es $1,7 \times 10^4 \text{ seg}^{-1}$. Esto es más de 10 veces más lento que la tasa de decaimiento espontáneo de oxígeno singlete (Studer et al, J. Am Chem Soc, 111: 7643 a 7644 (1989). Por otra parte, ascorbato ha sido previamente informado de que no tiene efecto en la generación de peróxidos derivados de proteínas en las células THP-1 cargadas con Rosa Bengal viables (Wright et al, Free Radic Biol Med, 34: 637-647 (2003). Por lo tanto, ascorbato a esta concentración no protege significativamente 5-MTHF eliminando directamente el oxígeno singlete o por temple directamente Rosa de Bengala. El ascorbato puede restaurar 5-MTHF reduciendo el intermedio inicial en sus reacciones de fotodecomposición (lo más probable su catión radical). Los resultados mostrados en la Figura 2c subestiman la capacidad de ascorbato de mantener inicialmente 5-MTHF, ya que una fracción significativa se convierte rápidamente en deshidroascorbato por el momento de la primera análisis HPLC.

[0079] El estudio reportado por Branda y Eaton (Branda et al, Science, 201: 625-626 (1978), midió el efecto de la exposición UV y la fototerapia en concentraciones de folato en el plasma de pacientes con psoriasis tratados con metoxaleno y demostró una fotólisis significativa de folato por UV basado en este estudio y los datos epidemiológicos, una posible relación causal entre el defecto del tubo neural y la exposición UV se ha propuesto (Van Raiz selaar, Med

Hypotheses, 41: 78-82 (1993) y Jablonski, Med Hypotheses, 52: 581-582 (1999). Sin embargo, la asociación entre la fotólisis in vivo de ácido fólico y la deficiencia de ácido fólico clínico todavía no se ha establecido claramente. Nuestros resultados sugieren que la fotólisis del folato se observa en su estudio fue probablemente mediado por fotosensibilizadores en el plasma en lugar de por la fotolabilidad intrínseca de 5-MTHF. Dependiendo de fotosensibilizadores y el estado posiblemente ascorbato en la piel y/o plasma, larga exposición a la luz solar puede afectar a la reserva de folato. Estudios preliminares sobre la naturaleza de los productos de desintegración de 5-MTHF indican que todavía contienen la cadena lateral de p-aminobenzoilglutamato. Dado que los estudios anteriores de catabolitos de folato en la orina humana solamente buscaron la presencia de p-aminobenzoilglutamato y su forma de N-acetilada, la pérdida de 5-MTHF vía oxidativa o descomposición fotolítica se habría detectado.

[0080] En conclusión, los presentes resultados muestran que, a diferencia del ácido fólico, 5-MTHF no se fotolizó directamente por UV y no induce la escisión de ADN de plásmido. 5-MTHF puede ofrecer una protección al ADN en reacciones de sensibilización, lo más probable por enfriamiento rápido del estado excitado del fotosensibilizador y barrido de oxígeno singlete (como se ha resumido en la Figura 4). Nuestros resultados sugieren que el folato natural, 5-MTHF, dentro: concentraciones M, puede proteger biomoléculas cuando se produce fotosensibilización. Por otra parte, el ascorbato puede permitirse un efecto sinérgico mediante el mantenimiento de la reserva de folato frente a la degradación fotolítica.

[0081] Más detalles con respecto a los experimentos realizados en este Ejemplo 3 se exponen en el siguiente Ejemplo 4.

Ejemplo 4 -- Detalles experimentales en cuanto a los estudios que muestran que el 5-metiltetrahydrofolato inhibe reacciones de fotosensibilización y roturas de la cadena en el ADN

[0082] Los siguientes materiales y métodos fueron empleados. Azida de sodio (>99%) se adquirió de Fluka. El ácido fólico (98% + 8% de H₂O), ascorbato de sodio, y la dismutasa de superóxido ("SOD") fueron adquiridos de Sigma, (St. Louis, Missouri). Sal del calcio de 5-metil-6S-ácido tetrahydrofólico se obtuvo de Eprova (Suiza). ADN plásmido superenrollado, PBR322, (4361 pares de bases, peso molecular 2,83 x 10⁶ Daltons) se obtuvo de Fermentas. Pterina-6-ácido carboxílico y 6-formil-pterina se adquirieron de los Laboratorios del Schirck (Jona, Suiza). Rosa de Bengala (sal de sodio 95%) se adquirió de Aldrich, y tampón de gel de carga BLUEJUICE™ y la mancha de gel de ADN de seguridad SYBR se adquirieron de Invitrogen.

[0083] La irradiación UVA y UVB se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones. Las muestras se exponen a la luz UV a una distancia de 30 cm de cualquiera de una lámpara UVA 15 W, Sylvania 350 BL, (lambda max = 365 nm, 820: W/cm²) o lámpara 15 UVB W, UVP (lambda max = 302 nm, 820: W/cm²); ambos adquiridos de UVP, Inc, EE.UU. Las lámparas se montaron en un soporte de la lámpara XX-15 UVP Modelo descansado en un soporte de la exposición XX.

[0084] Para dar una profundidad de solución de aproximadamente 3 mm, volúmenes de reacción de 0,5 ml fueron usados en placas de 24 pocillos claros. Para evitar la evaporación durante la exposición UVA, las muestras estaban cubiertas con MICROAMP™ Optical Adhesive Film (ABI) que permite la transmisión mayor que 80% por encima de 330 nm. Reacciones UVB se cubrieron con una ventana de cuarzo. Todas las reacciones se realizaron a temperatura ambiente en 10 mM de fosfato de potasio pH 7,41 (medido a 10 mM y 21°C), equilibrada con el aire, en presencia de 100 :M ácido dietilentriaminopentaacético con el fin de evitar el efecto de iones de metal redox-activo adventicio, prever la reacción de Fenton y evitar daño inducido por hidroxilo radicalizado.

[0085] Roturas de la cadena en el ADN se detectaron como sigue. ADN de plásmido superenrollado se convierte en una forma circular mellada (relajada) debido a roturas de hebra única, y posteriormente en una forma lineal debido a roturas de los filamentos dobles. Las tres formas pueden separarse por electroforesis en gel de agarosa. ADN superenrollado migra más allá de la forma lineal, que a su vez migra más allá de la forma relajada.

[0086] Una mezcla de 0,1: g de ADN de plásmido, PBR322, y ácido fólico, 5-MTHF o PCA en 10 mM fosfatado de potasio, pH 7,4, se incubó durante 80 min en las condiciones anteriores de irradiación de UVA para una exposición total de 4 J/cm². Para mantener parcialmente la concentración de 5-MTHF, una solución 0,25 mM se añadió continuamente a la mezcla de reacción a 1,1: 1/min utilizando una bomba de jeringa Harvard con agitación magnética.

[0087] Una muestra de 10: 1 a continuación de la mezcla de reacción se sometió a electroforesis en gel de agarosa después de adición de 2:1 de tampón de carga de gel de 10X. en gel de agarosa para electroforesis se preparó disolviendo agarosa al 0,9% en tampón 45 mM Tris-borato (pH 8,3), que contenía EDTA 1 mM. La electroforesis se realizó a 4 V/cm durante 1 h. El gel se incubó con 1: g/ml mancha SYBR Safe, y las bandas de ADN fueron escaneadas utilizando el sistema de imagen de fósforo fosfatasa Fuji FLA-5000.

[0088] Las reacciones con pterina-6-ácido carboxílico fotoexcitado o ácido fólico se llevaron a cabo como sigue. Las muestras se exponen en placas de 24 pocillos a la luz UVA en 0,5 ml volúmenes de reacción que contienen 5-MTHF y ácido fólico o PCA en ausencia o en presencia de ascorbato de sodio en tampón de fosfato de potasio 10 mM pH 7,42. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, en el oxígeno atmosférico en las condiciones de

iluminación anteriores. Se tomaron muestras mediante una jeringa y se inyecta directamente en la HPLC.

5 **[0089]** Las reacciones fotoquímicas con Rosa de Bengala se llevaron a cabo de la siguiente manera. Las muestras en cubetas de vidrio septo-tamponado se iluminaron a una distancia de 12 cm por la luz de una lámpara de tungsteno de 40 W pasado a través de un filtro de gelatina Wratten nº 16. Las reacciones se equilibraron con aire o roció con 100% o 1,8% de O₂ en argón, o ampliamente con 100% de argón, y la iluminación se realizó a temperatura ambiente. Se tomaron muestras a través del septo con una jeringa y se inyecta directamente en la HPLC.

10 **[0090]** Fotodegradación 5-MTHF se ensayó por HPLC usando el siguiente procedimiento. Las muestras fueron tomadas durante exposición a la luz en diversos momentos y se analizaron por HPLC en una Luna fenil-hexilo 5: m (25 x 0,46 cm) (columna Fenomenex) eluido a un caudal de 1,5 ml/min con fosfato de amonio (20 mM en amonio), pH 2,8/acetronitrilo (17: 1) con detección por absorbancia UV usando Waters 996, un espectrómetro de matriz de fotodiodos.

15 Ejemplo 5 -- Formulación de un comprimido de multivitaminas diario típico que contiene folato reducido para la protección contra las exposiciones crónicas a la radiación ionizante

20 **[0091]** Una formulación de un comprimido de multivitamina diario típico que contiene folato reducido para la protección contra exposiciones crónicas a la radiación ionizante puede contener: carbonato de calcio; sal 5-MTHF Ca 0,4-7 mg (p. ej., 4 mg); de ácido ascórbico de 12 a 300 mg (p. ej., 60 mg); gelatina; acetato de vitamina E 5 a 150 UI (p. ej., 30 UI); almidón; niacinamida 4 a 100 mg (p. ej., 20 mg); hidroxipropilmetilcelulosa; pantotenato de calcio 2 a 50 mg (p. ej., 10 mg); hidroxipropilcelulosa de silicato de calcio; clorhidrato de piridoxina 0,4 a 10 mg (p. ej., 2 mg); riboflavina 0,35 a 8,5 mg (p. ej., 1,7 mg); mononitrato de tiamina 0,3 a 7,5 mg (p. ej., 1,5 mg); beta caroteno y acetato de vitamina A 1000 a 25000 UI (p. ej., 5000 IU); hexametafosfato de sodio; estearato de magnesio; vitamina D 80-2000 UI (p. ej., 400 UI); vitamina B12 1 a 30: g (p. ej., 6: g); y lecitina.

Ejemplo 6 - Formulación de una diaria típica de multivitaminas comprimido que contiene folato reducido para la protección contra las exposiciones crónicas a la radiación ultravioleta

30 **[0092]** Una formulación de una multivitamina diaria típica que contiene folato reducido para la protección contra las exposiciones crónicas a la radiación ultravioleta puede contener: carbonato de calcio; sal 5-MTHF Ca 0,4-7 mg (p. ej., 4 mg); de ácido ascórbico de 12 a 300 mg (p. ej., 60 mg); gelatina; acetato de vitamina E 5 a 150 UI (p. ej., 30 UI); almidón; niacinamida 4 a 100 mg (p. ej., 20 mg); hidroxipropilmetilcelulosa; pantotenato de calcio 2 a 50 mg (p. ej., 10 mg); hidroxipropilcelulosa de silicato de calcio; clorhidrato de piridoxina 0,4 a 10 mg (p. ej., 2 mg); riboflavina 0,35 a 8,5 mg (p. ej., 1,7 mg); mononitrato de tiamina 0,3 a 7,5 mg (p. ej., 1,5 mg); beta caroteno y acetato de vitamina A 1000 a 25000 UI (p. ej., 5000 UI); hexametafosfato de sodio; estearato de magnesio; vitamina D 80-2000 UI (p. ej., 400 UI); vitamina B12 1 a 19: g (p. ej., 6: g); y lecitina.

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Un folato reducido para uso en un método de protección de un sujeto humano de los efectos dañinos de radiación ionizante, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos uno de dicho folato reducido; en el que el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico y derivados poliglutamilos de los mismos.
- 10 **2.** Un folato reducido para su uso según la reivindicación 1, en el que el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste de 5-metil-(6S)-ácido tetrahidrofólico, y derivados de poliglutamilo de los mismos.
- 3.** Un folato reducido para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el folato reducido se selecciona del grupo que consiste de 5-metil-ácido tetrahidrofólico racémico, y derivados de poliglutamilos de los mismos.
- 15 **4.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que el sujeto es uno que incurre la exposición a un nivel perjudicial de radiación ionizante.
- 5.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en donde el sujeto es una persona que está en riesgo de incurrir en la exposición a un nivel perjudicial de radiación ionizante.
- 20 **6.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que la radiación ionizante es radiación gamma.
- 7.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que la radiación ionizante es la radiación de rayos x.
- 25 **8.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que la radiación ionizante es la radiación cósmica.
- 9.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que el folato reducido es para administración oral.
- 30 **10.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que el folato reducido es para administración oral en la formulación de liberación prolongada.
- 11.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1 en el que el folato reducido es para administración por vía tópica.
- 35 **12.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que el folato reducido es para administración por vía intravenosa.
- 40 **13.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que el folato reducido es para administración en una composición que comprende el folato reducido.
- 14.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 13 para su uso según la reivindicación 13, en el que la composición comprende además uno o más materiales biológicamente activos.
- 45 **15.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 14 para su uso según la reivindicación 14, en el que uno o más materiales biológicamente activos adicionales comprende un agente radioprotector.
- 50 **16.** Un folato reducido según la reivindicación 15 para su uso según la reivindicación 15, donde el agente radioprotector es una sal de yoduro.
- 17.** Un folato reducido según la reivindicación 16 para su uso según la reivindicación 16, en el que la sal de yoduro es yoduro de potasio.
- 55 **18.** Un folato reducido según la reivindicación 15 para su uso según la reivindicación 15, donde el agente radioprotector es un agente radioprotector esteroideo.
- 19.** Un folato reducido según la reivindicación 18 para su uso según la reivindicación 18, donde el agente radioprotector esteroideo es un androstenediol.
- 60 **20.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 13 para su uso según la reivindicación 13, en el que la composición incluye además, en adición al folato reducido, una o más otras vitaminas.
- 65 **21.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que el folato reducido

se administra en condiciones eficaces para establecer y/o mantener un nivel de plasma homeostático de folato reducido mayor que 20 nanomolar.

- 5 **22.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que el folato reducido es para administración en condiciones eficaces para establecer y/o mantener un nivel en plasma homeostático de folato reducido más de aproximadamente 30 nanomolar.
- 10 **23.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que el folato reducido es para administración a una dosis diaria de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 15 micromoles.
- 15 **24.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en el que el folato reducido es para administración en una dosis que contiene de aproximadamente 0,45 micromoles a alrededor de 2 milimoles.
- 20 **25.** Una composición radioprotectora para su uso en el suministro de radioprotección contra la radiación ionizante a un sujeto humano, comprendiendo la composición: un primer agente radioprotector, siendo dicho primer agente radioprotector un folato reducido; y un segundo agente radioprotector, en el que el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico y derivados de poliglutamilos de los mismos; en el que el segundo agente radioprotector se selecciona de una sal de yoduro y un agente radioprotector esteroideo.
- 25 **26.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 25 para su uso según la reivindicación 25, en el que el folato reducido se selecciona del grupo que consiste en 5 metil-(6S)-ácido tetrahidrofólico, y derivados de poliglutamilo de los mismos.
- 30 **27.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 25 para su uso según la reivindicación 25, en donde el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico racémico, y derivados de poliglutamilos del mismo.
- 35 **28.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 25 para su uso según la reivindicación 25, en el que el segundo agente radioprotector es una sal de yoduro.
- 40 **29.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 28 para su uso según la reivindicación 28, en el que la sal de yoduro es yoduro de potasio.
- 45 **30.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 25 para su uso en el suministro de radioprotección contra la radiación ionizante, comprendiendo la composición un primer agente radioprotector y un segundo agente radioprotector, en el que dicho primer agente radioprotector es un folato reducido seleccionado de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico y derivados de poliglutamilos del mismo, y el segundo agente radioprotector es un agente radioprotector esteroideo.
- 50 **31.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el agente radioprotector esteroideo es un androstenediol.
- 55 **32.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 25 para su uso según la reivindicación 25, en donde la composición no contiene vitamina B12 o contiene una cantidad de vitamina B12 que es igual a o menor que 300% de la cantidad diaria recomendada de vitamina B12 para un sujeto humano y dicha dosis recomendada diaria es de 6 µg/día.
- 60 **33.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 25 para su uso según la reivindicación 25, en donde la composición comprende de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 2 milimoles de folato reducido.
- 65 **34.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 25 para su uso en el suministro de radioprotección contra la radiación ionizante, comprendiendo la composición un primer agente radioprotector y un segundo agente radioprotector, en el que dicho primer agente radioprotector es un folato reducido seleccionado de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico y derivados de poliglutamilos del mismo y el segundo agente radioprotector es yoduro de potasio y en el que la composición comprende desde aproximadamente 1 miligramo a aproximadamente 500 miligramos de yoduro de potasio.
- 35.** Una composición radioprotectora de acuerdo con la reivindicación 34, en donde la composición comprende de aproximadamente 0,45 micromoles a aproximadamente 2 milimoles de folato reducido.
- 36.** Un folato reducido para uso en un método para proteger un sujeto humano de efectos nocivos de la radiación ultravioleta, comprendiendo dicho método: administrar a un sujeto una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un folato reducido, en donde dicha composición está sustancialmente libre de la vitamina B12 en que no contiene vitamina B12 o contiene una cantidad de vitamina B12 que es igual a o menor que la cantidad diaria

recomendada de vitamina B12 para un sujeto humano y dicha cantidad diaria recomendada es de 6 µg/día, en el que el folato reducido se selecciona del grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico, y derivados de poliglutamilos de los mismos, y de monoalquilo, dialquilo, ésteres de monobencilo y/o dibencilo de una cadena lateral del glutamato del folato reducido.

5 **37.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 36 para su uso según la reivindicación 36, en el que el folato reducido se selecciona del grupo que consiste en 5 metil-(6S)-ácido tetrahidrofólico, y derivados de poliglutamilo de los mismos.

10 **38.** Un folato reducido según la reivindicación 36 para su uso según la reivindicación 36, en el que el folato reducido se selecciona de entre el grupo que consiste en 5-metil-ácido tetrahidrofólico racémico, y derivados de poliglutamilo de los mismos.

15 **39.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 36 para su uso según la reivindicación 36, en el que dicha composición no comprende vitamina B12.

20 **40.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 36 para su uso según la reivindicación 36, en el que dicha composición comprende vitamina B12 en una cantidad que es igual a o menor que la cantidad diaria recomendada de vitamina B12 para el sujeto.

41. Un folato reducido según la reivindicación 36 para su uso según la reivindicación 36, donde la composición es para administración por vía oral.

25 **42.** Un folato reducido según la reivindicación 36 para su uso según la reivindicación 36, donde la composición es para la administración por vía tópica.

43. Un folato reducido según la reivindicación 36 para su uso según la reivindicación 36, donde la composición es una composición de liberación prolongada y en donde la composición es para administración por vía oral.

30 **44.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1 en el que el folato reducido es el 5-metil-ácido tetrahidrofólico.

45. Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1 en el que el folato reducido es para administración antes y/o durante la exposición del sujeto a la radiación ionizante.

35 **46.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1 en el que el folato reducido es para administración al sujeto en alrededor de T_{max} antes del sujeto que está siendo expuesto a la radiación ionizante.

40 **47.** Un folato reducido de acuerdo con la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1 en el que el folato reducido es para administración en forma de una solución entre 0,5 y 2,0 horas antes de que el sujeto se exponga a la radiación ionizante.

45

50

55

60

65

FIGURA 1

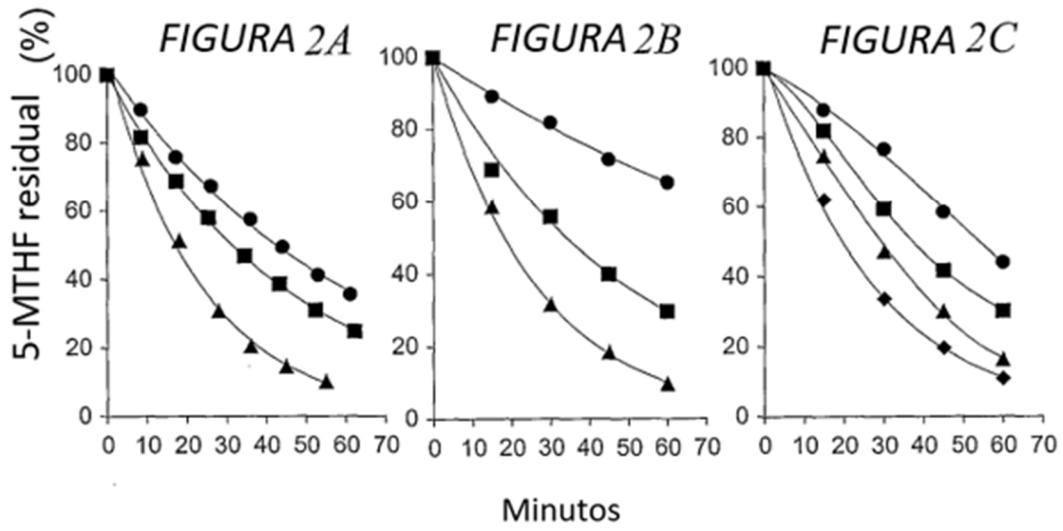
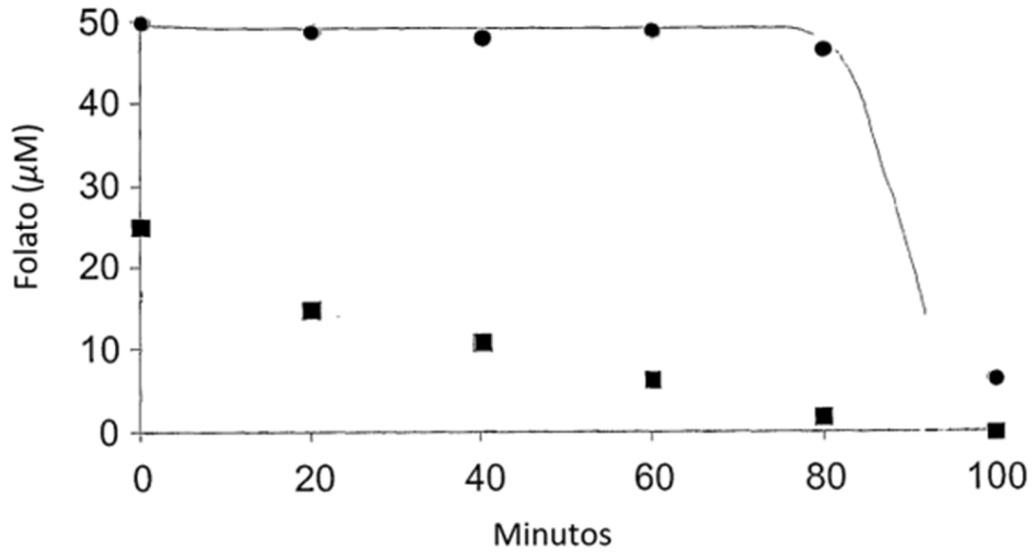


FIGURA 3

Dirección de migración

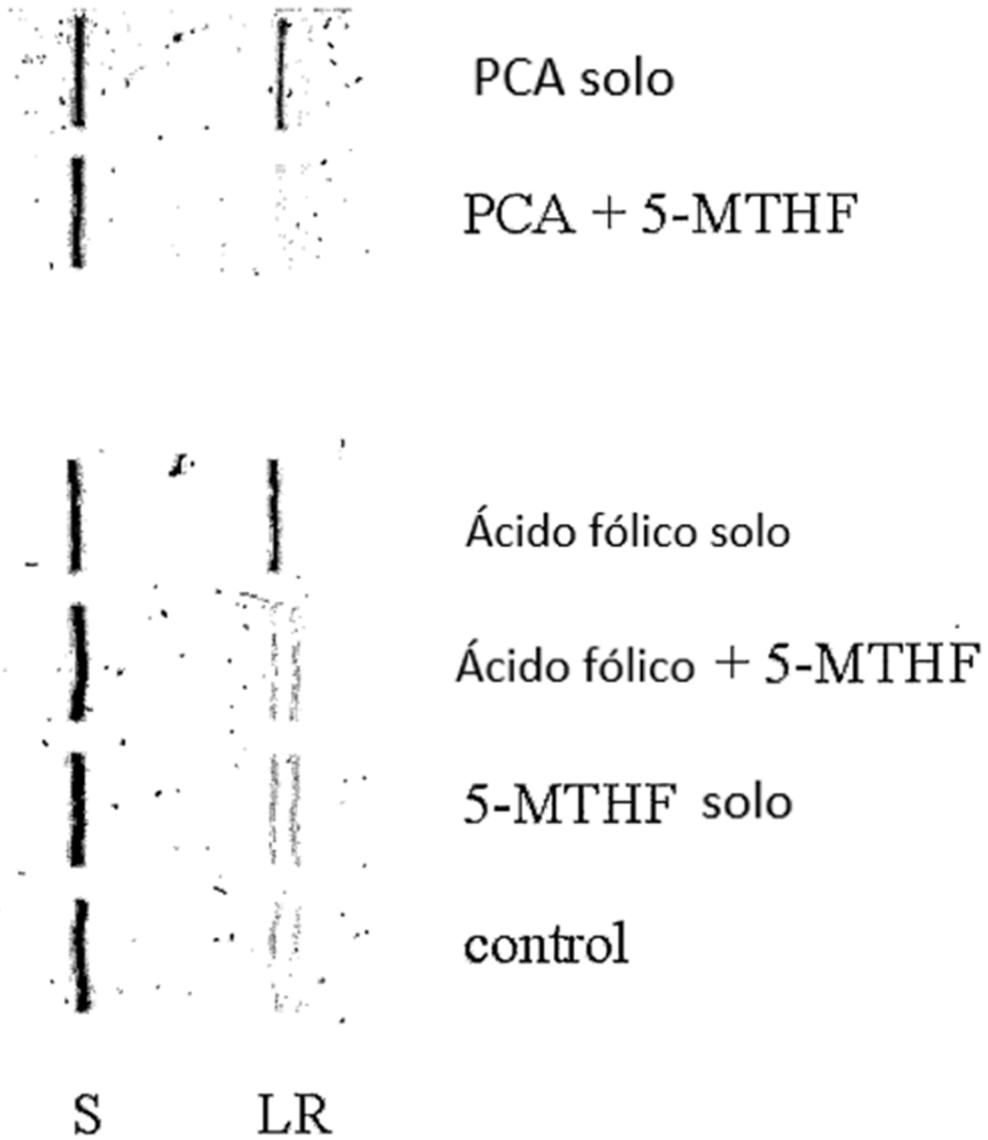


FIGURA 4

