

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 795 672**

51 Int. Cl.:

C07K 5/02	(2006.01)
A23L 2/52	(2006.01)
A61K 38/00	(2006.01)
A61K 8/64	(2006.01)
A61Q 19/00	(2006.01)
C05F 11/00	(2006.01)
A23L 33/17	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.06.2012 PCT/JP2012/066510**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **03.01.2013 WO13002317**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.06.2012 E 12803619 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 2727932**

54 Título: **Sal sólida de glutatión oxidado y método para producirla**

30 Prioridad:

30.06.2011 JP 2011146574

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

24.11.2020

73 Titular/es:

**KANEKA CORPORATION (100.0%)
3-18, Nakanoshima 2-chome, Kita-ku
Osaka-shi, Osaka 530-8288, JP**

72 Inventor/es:

**MOURI, TAKU;
TAOKA, NAOAKI;
MOROSHIMA, TADASHI y
KINOSHITA, KOICHI**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

Observaciones:

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

ES 2 795 672 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

Sal sólida de glutatión oxidado y método para producirla

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a una tecnología de mejorar la propiedad de manejo de glutatión oxidado. El glutatión oxidado es útil como producto alimenticio saludable, producto farmacéutico, producto cosmético, producto fertilizante y similares o un producto intermedio para producir los productos.

10

Antecedentes de la técnica

El glutatión oxidado (GSSG) es útil en campos de alimentos saludables, productos farmacéuticos, cosméticos, fertilizantes y similares, así como el glutatión reducido (GSH). Por ejemplo, se sabe que el glutatión oxidado tiene desintoxicación o similares (documento no de patente 1 y otros).

15

El glutatión oxidado (GSSG) tiene una estructura molecular obtenida oxidando dos moléculas de glutatión reducido (GSH) para formar un enlace disulfuro, y el glutatión reducido es un tripéptido que se compone de ácido glutámico, cisteína y glicina, es decir, "L-γ-glutamilo-L-cisteinil-glicina".

20

Como método para producir glutatión oxidado, por ejemplo, se conoce un método para producir glutatión oxidado en forma de una disolución acuosa preparando en primer lugar una disolución acuosa o extracto de levadura que contiene glutatión reducido con un método de fermentación, y oxidando la disolución acuosa o extracto de levadura (documento de patente 1, documento de patente 2 y otros). El glutatión oxidado obtenido de la manera mencionada anteriormente se pulveriza como un polvo de extracto de levadura que contiene glutatión oxidado, por ejemplo, añadiendo un excipiente o similar a la disolución acuosa, seguido de liofilización o secado por pulverización. Sin embargo, dependiendo de los usos de los mismos, puede no estar permitido usar un excipiente y el uso de un excipiente puede estar limitado en algunos casos.

25

Convencionalmente, como el glutatión oxidado que se obtiene en forma de un sólido sin usar un excipiente, por ejemplo, se conoce un polvo de anhídrido de glutatión oxidado. Tal polvo se obtiene separando y purificando glutatión oxidado de la disolución acuosa de glutatión oxidado descrita anteriormente, seguido de liofilización, secado por pulverización o similares. Además, se conocen tres formas de glutatión oxidado, es decir, glutatión oxidado hidratado y sal de glutatión oxidado además del anhídrido. Sin embargo, las formas de glutatión oxidado tienen diversos problemas en cuanto a usos industriales.

30

35

Por ejemplo, el anhídrido de glutatión oxidado tiene el problema de tener una higroscopicidad y una deliquesencia extremadamente altas. Para evitar la absorción de humedad y la deliquesencia, por ejemplo, se requiere que el anhídrido se enfríe o congele, o alternativamente se mantenga en un estado especialmente envuelto para evitar la absorción de humedad en el momento de la conservación, el transporte, la distribución y similares. En cualquier caso, el anhídrido no es adecuado para un gran suministro a nivel industrial. Además, el anhídrido es altamente soluble en agua, de modo que el anhídrido se usa para un producto de disolución acuosa tal como un agente médico para inyección, pero es fácil de convertir en hidrato en agua. El hidrato tiene baja solubilidad en agua, y existe el riesgo de que el cristal del mismo se precipite en el producto de disolución acuosa.

40

45

Como glutatión oxidado hidratado, se conocen un cristal de glutatión oxidado octahidratado (documento no de patente 2) y un cristal de glutatión oxidado monohidratado (documento de patente 3). Un cristal de glutatión oxidado octahidratado libera fácilmente agua de cristalización y es difícil mantener la cantidad de agua en el cristal a un nivel constante y, por tanto, inferior en estabilidad. Además, el octahidrato es insuficiente en la reproducción e inadecuado para la síntesis o industrialización a gran escala. Un cristal de glutatión oxidado monohidratado es poco deliquescente; por otro lado, el monohidrato es difícil de manejar en forma de disolución acuosa debido a la baja solubilidad en agua y, por tanto, es imposible producir un producto de disolución acuosa del monohidrato con una alta concentración. Además, cuando se produce glutatión oxidado, se usa generalmente una base y es necesario eliminar la base para precipitar el monohidrato. Por tanto, se requiere usar, por ejemplo, una resina de intercambio iónico o una resina quelante. Sin embargo, en el caso del tratamiento con tales resinas, se aumentan las cargas ambientales, de modo que se genera una gran cantidad de una disolución de desecho y se requiere el tratamiento para ello, y existe un problema en cuanto al coste.

55

Como sal de glutatión oxidado, se conocen sales de un metal y un aminoácido. Como sal metálica de glutatión oxidado, se encuentra disponible comercialmente una sal de sodio de glutatión oxidado y adicionalmente se conoce una sal de metal alcalino tal como una sal de litio de glutatión oxidado (documento de patente 4). Además, hasta ahora se informan una sal de aminoácidos tal como una sal de monoornitina de glutatión oxidado (documento de patente 5) y una sal de monolisina de glutatión oxidado (documento de patente 6). Sin embargo, hay pocos ejemplos de que se aísle. Una sal de metal alcalino de glutatión oxidado tal como una sal de sodio de glutatión oxidado y una sal de litio de glutatión oxidado es difícil de poner a disposición en forma de un sólido en primer lugar. Además, tal sal de metal alcalino tiene una deliquesencia extremadamente alta y no es adecuada para uso industrial de manera similar

65

al anhídrido de glutatión oxidado. Además, con respecto a una sal de aminoácido tal como una sal de monoornitina de glutatión oxidado y una sal de monolisina de glutatión oxidado, por ejemplo, existe el problema de que la sal de aminoácido tiene el mismo grupo funcional que el de glutatión oxidado, y por tanto el aminoácido provoca una reacción competitiva para inhibir la reacción deseada cuando la sal se somete a la reacción. Además, existe otro problema de que un aminoácido es una sustancia fisiológicamente activa y, por tanto, la adición de la sal al producto final a menudo es limitada.

Se conocen además una sal de calcio de glutatión oxidado (documento de patente 6) y una sal de amonio de glutatión oxidado (documento de patente 7).

Técnica anterior

Documentos de patente

Documento de patente 1: JP H5-146279 A

Documento de patente 2: JP H7-177896 A

Documento de patente 3: WO 2003/035674

Documento de patente 4: JP 2002-538079 T

Documento de patente 5: JP S42-1393 B

Documento de patente 6: JP S41-14997 B

Documento de patente 7: US 6251857 B1

Documento de patente 8: US 2007/123450 A1

Documentos no de patente

Documento no de patente 1: Yoichiro Sugimura *et al.*, "Effect of Orally Administered Reduced- and Oxidized-Glutathione against Acetaminofen-Induced Liver Injury in Rats", J. Nutr. Sci. Vitaminol., vol. 44, págs. 613-624 (1998)

Documento no de patente 2: Christian Jelsch *et al.*, "The oxidized form of glutathione", Acta Cryst., vol. C55, n.º 9, págs. 1538-1540 (1999)

Divulgación de la invención

Problemas que van a resolverse mediante la invención

La presente invención se completó en vista de las circunstancias descritas anteriormente, y el objetivo de la presente invención es proporcionar un glutatión oxidado sólido que sea bajo en deliquesencia y que se maneje fácilmente, y al mismo tiempo, sea altamente soluble en agua y apenas limitado en usos.

Más específicamente, el glutatión oxidado convencional en forma de un sólido tiene problemas tales como alta deliquesencia y baja solubilidad en agua tal como se describió anteriormente. Además, se conocen ejemplos de glutatión oxidado obtenido mediante solidificación junto con un excipiente y solidificación en forma de sal de aminoácido; sin embargo, los usos de los mismos pueden estar limitados en algunos casos. Por tanto, puede pensarse que se obtiene un sólido con baja deliquesencia y alta solubilidad en agua a partir de una sal inorgánica de glutatión oxidado, que tiene un uso menos limitado; sin embargo, no es fácil aislar una sal inorgánica de glutatión oxidado en forma de un sólido. Por ejemplo, se describe en el documento de patente 4 que se forma una sal de diamonio de glutatión oxidado en el medio del procedimiento para producir una sal de dilitio de glutatión oxidado a partir de glutatión reducido; sin embargo, la sal de amonio no está aislada en forma de un sólido. En el documento de patente 4, el anhídrido de glutatión oxidado en forma de un sólido se obtiene ajustando el pH de una disolución acuosa de la sal de amonio para que sea 5 y liofilizando la disolución. Sin embargo, una sal de amonio de glutatión oxidado no está aislada, aunque se supone que el glutatión y el amoniaco oxidados forman continuamente una sal incluso en la etapa en que el pH de la disolución acuosa de la sal de amonio se ajusta a 5, ya que el punto isoeléctrico del glutatión oxidado es de alrededor de pH 2,8. Además, a partir del resultado del experimento realizado por los inventores de la presente invención, se aclaró que no puede obtenerse una sal de diamonio de glutatión oxidado en forma de un sólido mediante un método convencionalmente conocido. En detalle, los inventores trataron de obtener el sólido añadiendo 2 molar de amoniaco a 1 molar de glutatión oxidado para obtener una disolución acuosa cuyo pH era 5, y liofilizando la disolución; sin embargo, el producto liofilizado se volvió oleoso cuando se volvió a calentar hasta temperatura ambiente. En tales circunstancias, se ha deseado obtener una sal de glutatión oxidado que tenga baja deliquesencia y alta solubilidad en agua, que no se ha logrado hasta ahora, y que sea fácil de producir y distribuir a escala comercial.

Medios para resolver los problemas

5 Los inventores de la presente invención estudiaron intensamente para resolver el problema anterior. Como resultado, los presentes inventores completaron la presente invención al encontrar que solo un catión amonio, un catión de calcio y un catión de magnesio pueden formar una sal sólida con glutatión oxidado por el método de producción en la condición de calentamiento específica, y cualquiera de los obtenidos de esta manera La sal sólida de glutatión oxidado tiene baja deliquesencia y alta solubilidad en agua.

10 La sal sólida de glutatión oxidado de la presente invención puede producirse mediante un método que comprende la etapa de calentar un glutatión oxidado a 30°C o más mientras el glutatión oxidado se pone en contacto con un medio acuoso en presencia de una sustancia para proporcionar un catión, para producir la sal del glutatión oxidado y el catión como un sólido, en la que el medio acuoso se compone de agua y/o un medio soluble en agua, y el catión es al menos uno seleccionado de un catión amonio, un catión de calcio y un catión de magnesio. Por ejemplo, el tiempo para calentar a una temperatura de 30°C o más es de 0,25 horas o más. Como medio soluble en agua, se prefiere un medio de alcohol tal como metanol, etanol, propanol y butanol, un medio de cetona tal como acetona y metil etil cetona, y similares.

20 La sal sólida de glutatión oxidado de la presente invención se define en las reivindicaciones y se caracteriza por comprender glutatión oxidado y al menos un catión seleccionado de un catión amonio, un catión de calcio y un catión de magnesio, en la que la sal sólida de glutatión oxidado está en un estado sólido a temperatura ambiente. La sal sólida de glutatión oxidado se mantiene en un estado sólido después de dar un impacto mecánico, y no es deliquescente cuando la sal sólida de glutatión oxidado se mantiene en condiciones de temperatura de 25°C, presión normal y humedad relativa del 75% de HR durante 2 horas o más. La sal sólida de glutatión oxidado de la invención se selecciona del grupo que consiste en una sal de monoamonio de glutatión oxidado, una sal de hemicalcio o una sal de monocalcio de glutatión oxidado, y una sal de hemimagnesio o una sal de monomagnesio de glutatión oxidado.

25 En el intervalo de la presente invención, una formulación en polvo que comprende la sal sólida de glutatión oxidado descrita anteriormente, en la que el contenido de glutatión oxidado en forma de sólido es del 0,01% en masa o más, y una formulación líquida en la que la sal sólida de glutatión oxidado descrita anteriormente se disuelve o dispersa en agua o se incluye un medio orgánico que contiene agua. El medio orgánico se ejemplifica por un medio de alcohol, un medio de cetona, un medio de aldehído, un medio de éster, un medio de hidrocarburo, un medio de sulfóxido, un medio de éter y similares.

Efecto de la invención

30 Según la presente invención, puede obtenerse fácilmente una sal sólida de glutatión oxidado usando el catión específico y tratando el glutatión oxidado con el método de producción en la condición de calentamiento específica.

40 Además, según la presente invención, puede proporcionarse el glutatión sólido oxidado que es bajo en deliquesencia y se maneja fácilmente, y al mismo tiempo, es altamente soluble en agua y escasamente limitado en usos, ya que se forma la sal de glutatión oxidado con el catión específico.

Modo para llevar a cabo la invención

45 El objetivo de la presente invención es precipitar una sal de glutatión oxidado en forma de un sólido a partir de una disolución que contiene glutatión oxidado.

50 El glutatión oxidado que puede usarse como material de partida no está particularmente limitado, y por ejemplo, puede usarse glutatión oxidado disponible comercialmente, puede usarse glutatión oxidado que se obtiene oxidando glutatión reducido obtenido con un método convencional tal como un método de fermentación, y pueden usarse glutationes oxidados excepto los glutationes oxidados descritos anteriormente.

55 La reacción de oxidación descrita anteriormente avanza mediante un agente oxidante en un disolvente apropiado tal como agua. Tal agente oxidante se ejemplifica por un agente oxidante débil tal como oxígeno; y un agente oxidante fuerte tal como peróxido de hidrógeno, yodo y ferrocianuro de potasio. Como otro agente oxidante, puede usarse una sustancia gaseosa tal como una sustancia de óxido de nitrógeno y una sustancia de sulfóxido. En la reacción de oxidación, si es necesario, puede usarse un catalizador de oxidación tal como sulfato de cobre, sulfato de hierro y cloruro de hierro (III). Se recomienda ajustar el pH de la mezcla de reacción en la reacción de oxidación y, por ejemplo, el pH se ajusta deseablemente a no menos de 5 y no más de 12, preferiblemente no menos de 6 y no más de 10, y más preferiblemente no menos de 7 y no más de 9. Al ajustar el pH dentro del intervalo descrito anteriormente, el glutatión reducido y el glutatión oxidado pueden estabilizarse y puede aumentarse la velocidad de reacción.

65 El glutatión oxidado puede aislarse de la disolución de glutatión oxidado obtenida en la reacción de oxidación descrita anteriormente y puede purificarse adicionalmente si es necesario. Entonces, el producto aislado o el producto purificado puede usarse como el material de partida de glutatión oxidado descrito anteriormente. Alternativamente, la

disolución de glutatión oxidado puede usarse directamente como material de partida de glutatión oxidado sin llevar a cabo un tratamiento posterior tal como aislamiento o purificación. En tal procedimiento de aislamiento, por ejemplo, se llevan a cabo concentración, dilución, filtración y similares de la disolución.

5 En la presente invención, los inventores estudiaron intensamente para lograr el objetivo descrito anteriormente y pudieron lograr el objetivo descrito anteriormente al descubrir que cuando el glutatión oxidado se calienta hasta una temperatura de 30°C o más, al poner el glutatión oxidado en contacto con un medio acuoso en presencia de una sustancia que puede proporcionar al menos un tipo de catión seleccionado de un catión amonio, un catión de calcio y un catión de magnesio, la sal del mismo puede producirse en forma de un sólido. Por ejemplo, si se usa un catión de sodio o un catión de litio como catión, no se produce sal en forma de un sólido, incluso si el glutatión oxidado se calienta hasta una temperatura de 30°C o más. Además, no se produce sal en forma de un sólido también cuando el glutatión oxidado no se calienta hasta una temperatura de 30°C o más. Se descubrió que una sal inorgánica de glutatión oxidado se produce en forma de un sólido combinando el catión especificado y la condición de tratamiento especificada.

15 Los ejemplos de la sustancia descrita anteriormente para proporcionar el catión descrito anteriormente incluyen una base que está ejemplificada por un compuesto que contiene amonio iónico, tal como amoniaco tal como hidróxido de amonio, un haluro de amonio tal como cloruro de amonio y bromuro de amonio, un carbonato de amonio tal como carbonato de amonio e hidrogenocarbonato de amonio, fosfato de amonio, sulfato de amonio y acetato de amonio; un compuesto que contiene calcio iónico, tal como hidróxido de calcio, un haluro de calcio tal como cloruro de calcio, un carbonato de calcio tal como carbonato de calcio e hidrogenocarbonato de calcio; un compuesto iónico que contiene magnesio, tal como hidróxido de magnesio, un haluro de magnesio tal como cloruro de magnesio, un carbonato de magnesio tal como carbonato de magnesio e hidrogenocarbonato de magnesio, sulfato de magnesio. Una base preferida es una base cuyo componente, distinto de amoniaco, calcio y magnesio, puede convertirse en gas o agua, tal como amoniaco, hidróxido de amonio, una sal de carbonato de amonio, hidróxido de calcio, una sal de carbonato de calcio, hidróxido de magnesio y una sal de carbonato de magnesio; y una base particularmente preferida es una sustancia de hidróxido tal como hidróxido de amonio, es decir, agua amoniaca, hidróxido de calcio e hidróxido de magnesio. La sustancia productora de cationes, particularmente una base, puede usarse sola o en una combinación adecuada.

30 Al formar una sal de un catión distinto del amonio, calcio y magnesio descritos anteriormente con glutatión oxidado, e intercambiar las especies de cationes, puede formarse una sal de amonio, una sal de calcio o una sal de magnesio. Para el intercambio de las especies de cationes, un medio no está particularmente limitado y, por ejemplo, puede utilizarse una diferencia de solubilidad y una relación de equilibrio.

35 La cantidad de la sustancia productora de cationes que va a usarse puede establecerse adecuadamente dependiendo de la cantidad de catión que está contenido en la sal sólida de glutatión oxidado que va a producirse y, en general, la razón molar entre el catión usado y el glutatión oxidado usado es la misma que en el sólido. Por tanto, la cantidad, es decir, la razón molar, del catión que va a usarse en relación con el glutatión oxidado a menudo se establece en el intervalo que es el mismo que en el sólido tal como se describe a continuación.

40 El medio acuoso descrito anteriormente incluye agua y/o un medio soluble en agua, particularmente un medio orgánico soluble en agua. Tal medio orgánico soluble en agua se ejemplifica mediante un medio de alcohol tal como metanol, etanol, propanol, butanol y etilenglicol; un medio de cetona tal como acetona y metil etil cetona; un medio de éter tal como tetrahidrofurano y dioxano; un medio de éster; un medio de nitrilo tal como acetonitrilo; un medio de amida tal como N,N-dimetilformamida y acetamida; y se prefieren un medio de alcohol y un medio de cetona. El medio orgánico soluble en agua puede tener un número de carbonos de, por ejemplo, 5 o menos, preferiblemente 3 o menos, y más preferiblemente 1. En consideración de la utilización en los campos de alimentos y similares, el medio acuoso es preferiblemente agua, acetona, etanol o similares, particularmente agua o etanol, y en el uso distinto de alimentos, por ejemplo, fertilizantes, puede seleccionarse metanol como medio acuoso preferido además de los medios anteriores. El medio orgánico soluble en agua puede ser, por ejemplo, un medio que puede mezclarse en una proporción de 100 partes en masa o más basándose en 100 partes en masa de agua a una temperatura de 25°C, o un medio que puede mezclarse con agua en cualquier razón.

55 El medio acuoso descrito anteriormente puede usarse solo o en una combinación adecuada de dos o más de los mismos, y se recomienda que el medio acuoso pueda usarse en combinación de agua y un medio soluble en agua. En tal caso, el agua funciona como un buen disolvente para el glutatión oxidado y el medio soluble en agua funciona como un disolvente malo. La razón del medio soluble en agua basándose en 10 partes en volumen de agua es, por ejemplo, no menos de aproximadamente 1 y no más de aproximadamente 1000 partes en volumen, preferiblemente no menos de aproximadamente 5 y no más de aproximadamente 500 partes en volumen, más preferiblemente no menos de aproximadamente 10 y no más de aproximadamente 100 partes en volumen, y particularmente de manera preferiblemente no menos de aproximadamente 12 y no más de aproximadamente 50 partes en volumen.

65 La razón en masa, tal como una concentración, de glutatión oxidado en relación con la masa total del medio acuoso y el glutatión oxidado no está particularmente limitada y, por ejemplo, la producción se lleva a cabo preferiblemente en un intervalo del 0,1% en masa o más y del 60% en masa o menos. En cuanto a los puntos de vista de productividad y

operabilidad, el límite inferior del mismo es preferiblemente del 1% en masa o más, más preferiblemente del 5% en masa o más, y particularmente de manera preferible del 8% en masa o más desde el punto de vista de la eficiencia de producción. Además, en consideración de la viscosidad o similares de la disolución, el límite superior de la misma es preferiblemente del 40% en masa o menos, y más preferiblemente del 30% en masa o menos.

5 En la presente invención, si es necesario, puede usarse un disolvente distinto de los medios acuosos descritos anteriormente en combinación con los medios acuosos hasta el punto de que no se produzca ningún efecto adverso sobre la solidificación de la sal de glutatión oxidado.

10 Además, en la presente invención, puede usarse un ácido si es necesario. Por ejemplo, cuando una cantidad de la sustancia productora de cationes se usa en exceso con respecto al glutatión oxidado, la sustancia productora de cationes innecesaria puede neutralizarse con un ácido después de eso. Un ácido que puede usarse no está particularmente limitado, y se prefiere un ácido mineral tal como ácido clorhídrico y ácido sulfúrico en consideración del coste y la facilidad de retirada.

15 Se cambia un valor adecuado del pH del medio acuoso en el momento de producir glutatión oxidado en forma de un sólido dependiendo de la temperatura, la presencia o ausencia del medio soluble en agua y la cantidad del mismo, y por tanto el valor apropiado es difícil de determinar en general. Sin embargo, el límite inferior del pH es deseable, por ejemplo, 2,8 o mayor, preferiblemente 3,0 o mayor, más preferiblemente 3,2 o mayor, y el límite superior del pH es deseable, por ejemplo, 7,0 o menor, preferiblemente 6,0 o menor, más preferiblemente 5,5 o menor.

20 La temperatura de calentamiento no está particularmente limitada siempre que la temperatura sea de 30°C o más, y sea preferiblemente de 33°C o más, más preferiblemente de 35°C o más, y particularmente de manera preferible de 40°C o más. Si la temperatura de calentamiento es menor de 30°C, es imposible obtener la sal objetivo de glutatión oxidado como un sólido, de modo que la sal no se solidifique y permanezca en un estado oleoso incluso si pasa el tiempo. Además, en consideración de la trabajabilidad a escala industrial en la que la cantidad del medio acuoso que va a usarse es de, por ejemplo, 10 kg o más, preferiblemente 100 kg o más, más preferiblemente 500 kg o más, y 30 toneladas o menos, preferiblemente de aproximadamente 10 toneladas o menos, la temperatura de calentamiento es más preferiblemente mayor de 45°C y particularmente de manera preferible 48°C o más. Incluso si la temperatura de calentamiento es de 30°C o más, dependiendo de otras condiciones, una mezcla del producto solidificado y el producto oleoso puede precipitarse en un estado emulsionado y puede dar como resultado dificultad de agitación en el caso de producción a escala industrial. en algunos casos. Sin embargo, la razón de precipitación del sólido puede aumentarse y el estado emulsionado puede evitarse ajustando la temperatura de calentamiento a 45°C o más. El límite superior de la temperatura de calentamiento no está particularmente limitado, pero el límite superior es preferiblemente el punto de ebullición o menor que el del medio acuoso en cuanto a seguridad ya que no se necesita alta presión. Además, como la temperatura de calentamiento es mayor, la precipitación de una cantidad recomendada de la sal de glutatión oxidado tiende a tomar más tiempo. Desde tal punto de vista, la temperatura de calentamiento es de, por ejemplo, 80°C o menos, preferiblemente 70°C o menos, y particularmente de manera preferible 60°C o menos. En particular, tanto desde el punto de vista de tanto la velocidad de precipitación como de la propiedad de la sal de glutatión oxidado que se obtiene en la producción a escala industrial, la temperatura de calentamiento está particularmente de manera preferible en un intervalo de no menos de 53°C y no más de 60°C.

45 Además, el tratamiento de calentamiento generalmente se lleva a cabo a presión normal, pero puede llevarse a cabo en condiciones de presión aumentada o condiciones de presión reducida.

50 El tiempo de calentamiento puede establecerse adecuadamente en un intervalo necesario para la solidificación de la sal de glutatión oxidado, y el tiempo apropiado cambia dependiendo de la temperatura de calentamiento y, por tanto, generalmente es difícil de determinar. Sin embargo, el límite inferior del mismo es, por ejemplo, de 0,25 horas o más, preferiblemente 0,5 horas o más, y más preferiblemente 1 hora o más. Cuando la temperatura de calentamiento es especialmente alta, por ejemplo, cuando la temperatura es de 45°C o más, o en un caso de producción a escala industrial, el tiempo de calentamiento puede ser preferiblemente de 2 horas o más, y más preferiblemente de 3 horas o más en algunos casos. El límite superior del mismo es, por ejemplo, de 48 horas o menos, preferiblemente 24 horas o menos, y más preferiblemente 10 horas o menos. Se prefiere más mantener la mezcla a 30°C o más durante la duración ejemplificada anteriormente desde el comienzo de la solidificación de la sal de glutatión oxidado.

55 Durante el tratamiento de calentamiento, es deseable poner en contacto el glutatión oxidado y el medio acuoso entre sí en una condición de agitación, y la intensidad de agitación no está particularmente limitada. Como potencia de agitación, el límite inferior del mismo es generalmente de 0,001 kW/m³ o mayor, preferiblemente 0,03 kW/m³ o mayor, más preferiblemente 0,2 kW/m³ o mayor, y el límite superior del mismo es de 5 kW/m³ o menor, preferiblemente 2 kW/m³ o menor, y más preferiblemente 1 kW/m³ o menor.

65 En la presente invención, es suficiente que el glutatión oxidado se caliente hasta una temperatura de 30°C o más en presencia de una sustancia productora de cationes recomendada mientras se pone en contacto con el medio acuoso, y el procedimiento para permitir que la condición se realice no está particularmente limitado. Por ejemplo, el procedimiento de mezclado de la sustancia productora de cationes, el glutatión oxidado y el medio acuoso no está particularmente limitado, y los componentes pueden mezclarse en un procedimiento arbitrario. Incluso en el caso de

que el medio acuoso se componga de dos o más medios, el procedimiento de mezclado y el tiempo se ajustan adecuadamente.

En un procedimiento operativo preferible,

5 primer mezclado: la sustancia productora de cationes recomendada y el glutatión oxidado se mezclan con agua, preferiblemente el glutatión oxidado y la sustancia productora de cationes se disuelven en agua; y entonces,

10 segundo mezclado: el primer líquido mezclado obtenido se mezcla adicionalmente con un medio soluble en agua que es un disolvente malo, si es necesario.

15 En el primer mezclado, es deseable que una de las sustancias productoras de cationes y el glutatión oxidado, preferiblemente ambos, se disuelva previamente en agua para obtener una disolución, seguido de mezclado. En el segundo mezclado, puede añadirse un medio soluble en agua a la primera disolución mezclada, o la primera disolución mezclada puede añadirse a un medio soluble en agua, o la primera disolución mezclada y un medio soluble en agua puede añadirse en al mismo tiempo a otro recipiente.

20 En el procedimiento de operación preferido descrito anteriormente, el tiempo de calentamiento hasta una temperatura de 30°C o más puede establecerse adecuadamente, y el tiempo puede ser cualquiera antes del primer mezclado, durante el primer mezclado, después del primer mezclado y antes del segundo mezclado, durante el segundo mezclado y después del segundo mezclado. Lo más preferido es que la temperatura se eleve hasta 30°C o más como máximo antes del inicio del segundo mezclado, y después de ese se mantiene la temperatura de calentamiento.

25 El procedimiento para la solidificación de la sal de glutatión oxidado después de que la temperatura se eleva hasta 30°C o más, tampoco está particularmente limitado, y pueden realizarse varios procesos. Por ejemplo,

un ejemplo 1: la sal sólida de glutatión oxidado puede precipitarse de una disolución que contiene glutatión oxidado;

30 un ejemplo 2: el glutatión oxidado puede separarse como un producto oleoso (retirada de aceite) o un producto tipo gel de una disolución o suspensión que contiene glutatión oxidado, y después el producto oleoso o el producto tipo gel puede solidificarse; y

35 un ejemplo 3: la sal de glutatión oxidado puede solidificarse mientras el disolvente se elimina de una disolución o una suspensión que contiene glutatión oxidado.

40 En el caso del ejemplo 1: precipitación sólida, específicamente, el glutatión oxidado puede precipitarse en forma de un sólido de la segunda disolución mixta en la que se disuelve el glutatión oxidado. Por ejemplo, en el caso del tiempo de calentamiento más preferido descrito anteriormente, es decir, cuando se inicia el calentamiento antes del segundo mezclado, en general, la sal de glutatión oxidado se precipita como un sólido. Además, incluso en el caso de calentar hasta una temperatura de 30°C o más después del inicio del segundo mezclado, la sal de glutatión oxidado puede precipitarse como un sólido a menos que el inicio del calentamiento sea demasiado tarde. Además, dependiendo de la temperatura de calentamiento o la velocidad de mezclado del segundo mezclado, la sal de glutatión oxidado comienza a precipitar como un sólido durante el segundo mezclado, y el mezclado puede llevarse a cabo mientras se produce una suspensión en algunos casos.

45 En el caso del ejemplo 1: precipitación sólida, si es necesario, puede añadirse un cristal semilla para promover la solidificación de la sal de glutatión oxidado.

50 Como ejemplo 2: solidificación del producto oleoso o producto tipo gel, se ejemplifica específicamente el caso descrito anteriormente en el que se calienta específicamente a una temperatura de 30°C o más después del inicio del segundo mezclado. A medida que se retrasa el inicio del calentamiento, tiende a producirse fácilmente un producto oleoso (retirada de aceite) o un producto tipo gel. Incluso en tal caso, si se continúa calentando a una temperatura de 30°C o más, el producto oleoso o el producto tipo gel se solidifica. Desde un punto de vista industrial, cuando el producto oleoso se somete a un tratamiento de calentamiento, es necesario prestar atención a la ocurrencia de un incidente no deseado, como la inclusión de un disolvente o la formación de grumos.

55 En el ejemplo 1: precipitación sólida y el ejemplo 2: solidificación del producto oleoso y producto tipo gel, la sal sólida de glutatión oxidado puede separarse del medio acuoso mediante una operación común de separación sólido-líquido, tal como filtración a presión aumentada, separación centrífuga, precipitación centrífuga y decantación. La sal sólida de glutatión oxidado separada puede someterse a una operación de secado común tal como secado a vacío y secado por ventilación, si es necesario. Además, la sal sólida de glutatión oxidado se disuelve nuevamente en el medio acuoso y se vuelve a solidificar, tal como se recristaliza y se vuelve a coagular, nuevamente en las mismas condiciones de tratamiento de calentamiento que las anteriores para purificar la sal de glutatión oxidado.

65 Como ejemplo 3: eliminación de disolventes y solidificación, puede ejemplificarse un método para utilizar el secado por pulverización. Específicamente, la sal sólida de glutatión oxidado también puede obtenerse pulverizando la primera

disolución mixta o la segunda disolución mixta en un gas a alta temperatura y eliminando el disolvente mientras la disolución mixta se calienta hasta una temperatura de 30°C o más.

El procedimiento anterior puede optimizarse adecuadamente dependiendo del tipo de sustancia productora de cationes. Por ejemplo, cuando una sal de amonio de glutatión oxidado se solidifica usando un compuesto que contiene amonio iónico, lo más preferido es añadir un medio soluble en agua como un disolvente malo, mientras que una disolución acuosa que contiene una sal de amonio de glutatión oxidado se calienta hasta temperatura de 30°C o más. El tiempo de duración de la adición del medio soluble en agua no está particularmente limitado y, por ejemplo, el tiempo de duración es generalmente de 5 minutos o más, preferiblemente de 10 minutos o más, y en consideración de la productividad, el tiempo de duración es de 30 horas o menos, preferiblemente 20 horas o menos, y particularmente de manera preferible 10 horas o menos. Por otro lado, cuando una sal de calcio o una sal de magnesio de glutatión oxidado se solidifica usando un compuesto que contiene calcio iónico o un compuesto que contiene magnesio iónico, desde el punto de vista de la facilidad para la solidificación, es más preferible añadir una disolución, particularmente una disolución acuosa, en la que el glutatión oxidado y la sustancia productora de cationes, es decir, un compuesto que contiene calcio iónico y/o un compuesto que contiene magnesio iónico, se disuelven en el medio soluble en agua como un disolvente malo que la adición en la dirección inversa, pero la dirección de adición puede seleccionarse según la necesidad.

Según el método descrito anteriormente, la sal de glutatión oxidado puede obtenerse en forma de un sólido. La cantidad de rendimiento como un sólido es, por ejemplo, del 80% en masa o más, preferiblemente del 90% en masa o más, y más preferiblemente del 95% en masa o más, basándose en la cantidad usada de glutatión oxidado.

La sal de glutatión oxidado obtenida tal como se describió anteriormente se compone de glutatión oxidado y al menos un tipo de catión seleccionado de un catión amonio, un catión de calcio y un catión de magnesio, y puede mantener su estado sólido a temperatura ambiente, por ejemplo, 25°C. La razón de cantidad del catión y el glutatión oxidado puede establecerse adecuadamente dependiendo del número de valencia del catión. Cuando la cantidad molar del catión se define como C_1 , el número de valencia del catión se define como n_1 , y la cantidad molar de glutatión se define como G , la razón de $n_1 \times C_1$ con respecto a G (primero/último) es, por ejemplo, no menos de aproximadamente 0,5 y no más de aproximadamente 4, preferiblemente no menos de aproximadamente 0,7 y no más de aproximadamente 3, y más preferiblemente no menos de aproximadamente 1 y no más de aproximadamente 2. Cuando existe una pluralidad de cationes diferentes, se recomienda que la proporción de la suma de los productos ($n_1 \times C_1 + n_2 \times C_2 + n_3 \times C_3 + \dots$) de las cantidades molares de los cationes respectivos (C_1, C_2, C_3, \dots) y el número de valencia de cationes respectivos (n_1, n_2, n_3, \dots) en relación con la cantidad molar G de glutatión (primero/último) está dentro del intervalo mencionado anteriormente.

En el caso de una sal de amonio de glutatión oxidado, la razón molar de amoniaco con respecto al glutatión oxidado (primero/último) es preferiblemente de no menos de 1 y no más de 4, más preferiblemente no menos de 1 y no más de 3, además preferiblemente no menos de 1 y no más de 2, y particularmente de manera preferible 1. En el caso de una sal de calcio o una sal de magnesio de glutatión oxidado, la razón molar de calcio o magnesio con respecto al glutatión oxidado (primero/último) es preferiblemente de no menos de 0,5 y no más de 2, más preferiblemente no menos de 0,5 y no más de 1,5, además preferiblemente no menos de 0,5 y no más de 1, y particularmente de manera preferible 0,5 ó 1.

La sal sólida de glutatión oxidado obtenida tal como se describió anteriormente tiene baja deliquesencia y alta solubilidad en agua. La deliquesencia del glutatión sólido oxidado puede evaluarse permitiendo que un polvo de la sal permanezca en un ambiente a una temperatura de 25°C, presión normal, por ejemplo, 1 presión atmosférica, y una humedad relativa del 75% de HR, y observar si la deliquesencia comienza o no a simple vista. El glutatión oxidado de la presente invención no comienza a ser deliquescente, incluso si se deja reposar en las condiciones descritas anteriormente, por ejemplo, durante 2 horas, preferiblemente durante 10 horas, o más preferiblemente 24 horas.

La solubilidad de la sal sólida de glutatión oxidado de la presente invención en agua a una temperatura de 25°C puede calcularse según la siguiente fórmula, y la solubilidad es, por ejemplo, del 10% en masa o más, preferiblemente del 20% en masa o más, y más preferiblemente del 30% en masa o más. El límite superior de la solubilidad no está particularmente limitado, pero el límite superior puede ser, por ejemplo, del 80% en masa o menos, y particularmente del 60% en masa o menos.

Solubilidad (%) = masa de glutatión oxidado disuelto / (masa de agua + masa de glutatión oxidado disuelto) x 100

Además, la sal sólida de glutatión oxidado de la presente invención también se caracteriza porque su estado sólido puede mantenerse incluso después de recibir un impacto mecánico.

La sal sólida de glutatión oxidado de la presente invención puede ser cristalina o amorfa. La sal sólida de glutatión oxidado puede tener diversas formas, tales como un polvo y un gránulo. Además, si es necesario, la sal sólida de glutatión oxidado puede pulverizarse o triturarse, o procesarse para ser nanopartículas, o encapsularse. Independientemente del contenido, la sal sólida de glutatión oxidado puede contener agua o un disolvente, y puede hidratarse o solvotarse. Sin embargo, la sal puede ser preferiblemente un no hidrato o un no solvato, y particularmente

de manera preferible no puede tener agua o un disolvente.

La sal sólida de glutatión oxidado de la presente invención puede usarse preferiblemente como una formulación en polvo soluble en agua, ya que la sal tiene baja deliquesencia y alta solubilidad en agua. El tamaño de la formulación en polvo es preferiblemente de 1 cm o más pequeño, más preferiblemente de 1 mm o más pequeño, y particularmente de manera preferible de 0,1 mm o más pequeño. La formulación en polvo puede disolverse en su totalidad en agua, o puede proporcionarse con una propiedad de liberación controlada para que se disuelva parcialmente. La formulación en polvo de la sal de glutatión oxidado contiene el 0,01% en masa o más, preferiblemente el 0,1% en masa o más, más preferiblemente el 1% en masa o más, y particularmente de manera preferible el 3% en masa o más de glutatión oxidado. La formulación en polvo de glutatión oxidado puede contener un excipiente, un lubricante, un aglutinante y un disgregante como otros componentes.

Un excipiente se ejemplifica por una sustancia inorgánica tal como arcilla; una sustancia orgánica tal como un azúcar, un alcohol de azúcar y un polisacárido. Un azúcar se ejemplifica por lactosa, sacarosa, maltosa y trehalosa. Un alcohol de azúcar se ejemplifica por manitol, jarabe de almidón de malta reducido, palatinosa, maltitol, maltol, lactitol, xilitol, sorbitol y eritritol reducidos. Un polisacárido se ejemplifica por β -ciclodextrina y celulosa cristalina. Puede seleccionarse arbitrariamente uno o una combinación de dos o más tipos de los excipientes descritos anteriormente.

Un lubricante se ejemplifica por un éster de ácido graso de sacarosa, un éster de ácido graso de glicerina, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearil fumarato de sodio, talco, laurilsulfato de sodio y silicio anhidro ligero. Puede seleccionarse arbitrariamente uno o una combinación de dos o más tipos de lubricantes.

Un aglutinante se ejemplifica por metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, pululano, un polímero a base de ácido acrílico, poli(alcohol vinílico), gelatina, agar, goma arábiga, polvo de goma arábiga, goma xantana, goma tragacanto, goma guar, goma gellan, goma de algarroba, almidón parcialmente pregelatinizado y macrogol. Puede seleccionarse arbitrariamente uno o una combinación de dos o más tipos de aglutinantes.

Un disgregante se ejemplifica por almidón de maíz, almidón de patata, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio, croscovidona, croscarmelosa de sodio y carboximetil almidón sódico. Puede seleccionarse arbitrariamente uno o una combinación de dos o más tipos de disgregantes.

La sal sólida de glutatión oxidado de la presente invención puede disolverse o dispersarse, particularmente disolverse, en agua o un medio orgánico que contiene agua para usarse preferiblemente como una formulación líquida, particularmente una formulación en disolución. El medio orgánico que va a usarse en la formulación líquida no está particularmente limitado, y se prefiere el medio orgánico que tiene una mayor capacidad de disolver la sal sólida de glutatión oxidado. El medio orgánico se ejemplifica preferiblemente por un medio de alcohol tal como metanol, etanol, n-propanol, butanol, isopropanol, etilenglicol y glicerina; un medio de cetona tal como acetona, metil etil cetona y dietil cetona; un medio de aldehído tal como formaldehído, acetaldehído y formalina; un medio de éster tal como acetato de etilo; un medio de hidrocarburo tal como ciclohexano y tolueno; un medio de sulfóxido tal como dimetilsulfóxido; y un medio de éter tal como tetrahidrofurano; y los ejemplos particularmente preferidos de los mismos incluyen un medio de alcohol, un medio de cetona, un medio de aldehído, un medio de éster y un medio de hidrocarburo. El medio orgánico puede usarse solo, o dos o más de los mismos pueden mezclarse para su uso en una razón arbitraria.

La concentración del glutatión oxidado en la formulación líquida se ajusta adecuadamente dependiendo del uso del mismo, y la concentración es, por ejemplo, del 0,001% en masa o más, preferiblemente del 0,01% en masa o más, y particularmente de manera preferible del 0,1% en masa o más. En consideración del transporte y la distribución, la concentración es especialmente de manera preferible del 10% en masa o más. El límite superior de la misma es la solubilidad saturada y la concentración puede seleccionarse dependiendo del uso de la misma.

Ejemplos

A continuación en el presente documento, la presente invención se describe con los ejemplos.

En los ejemplos, se llevaron a cabo medición cuantitativa de glutatión oxidado y medición cuantitativa de especies catiónicas usando HPLC, y las condiciones de las mismas se establecieron como las siguientes condiciones de HPLC 1 y 2. Además, se usaron los siguientes aparatos para el análisis de cristal, medición del punto de fusión y análisis elemental de las sales sólidas de glutatión oxidado obtenidas en los ejemplos.

1) HPLC

Condición de HPLC 1: medición cuantitativa de glutatión oxidado

Columna: "YMC-Pack ODS A" (longitud: 150 mm × diámetro interno: 4,6 mm), fabricada por YMC CO., LTD.

Temperatura de la columna: 40°C

ES 2 795 672 T3

Detector: detector UV (longitud de onda: 210 nm)

Condición de HPLC 2: medición cuantitativa de catión

5 Columna: "SHIMADZU Shim-pack (nombre comercial registrado) IC-C3" (longitud: 100 mm × diámetro interno: 4,6 mm), fabricada por SHIMADZU CORPORATION

Temperatura de la columna: 40°C

10 Detector: detector de la conductividad eléctrica

2) Análisis de cristal

Difractómetro de rayos X de polvo ("Mini Flex II", fabricado por Rigaku Corporation)

15 3) Medición del punto de fusión

Aparato de medición del punto de fusión (Opti Melt MPA100, fabricado por Stanford Research Systems (SRS))

20 Condición de medición: velocidad de calentamiento: 1,0°C/min

4) Análisis elemental

Analizador elemental ("vario MICRO cube", fabricado por Elementar Analytical)

25 Temperatura del tubo de combustión: 1150°C

Temperatura del tubo de reducción: 850°C

30 Ejemplo 1

Se disolvió glutatión oxidado (5 g, 8,2 mmol) en agua (25 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (30 g), y se añadió a lo mismo además una disolución acuosa de amoníaco al 25% (0,56 g, 8,2 mmol, razón molar en relación con glutatión = 1). Mientras la temperatura de la disolución acuosa (pH = 3,5) se mantuvo a temperatura ambiente (25°C), se añadió etanol (90 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 3) a lo largo de 30 minutos; como resultado, se separó un producto oleoso de la disolución mixta.

40 Cuando la disolución a la que se le añadió etanol anterior se calentó hasta 30°C, el producto oleoso se solidificó. Se mantuvo la mezcla a una temperatura de 30°C tal como estaba durante 15 minutos. Después de que se enfriara la mezcla hasta temperatura ambiente, se recogió el sólido producido mediante filtración y se secó a presión reducida para obtener 3,5 g (contenido: 95% en masa) de una sal de monoamonio de glutatión oxidado.

Intervalo de punto de fusión: de 170 a 176°C (se descompone al fundirse)

45 Sólido amorfo (confirmado mediante difracción de rayos X de polvo)

Ejemplo 2

50 Se disolvió glutatión oxidado (3 g, 4,9 mmol) en agua (7 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (10 g), y se añadió a lo mismo además una disolución acuosa de amoníaco al 25% (0,33 g, 4,9 mmol, razón molar en relación con glutatión = 1). Mientras la disolución acuosa (pH = 3,5) se calentó hasta 40°C, se añadió metanol (20 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 2) a lo largo de 1 hora; como resultado, se precipitó un producto sólido. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 40°C tal como estaba durante 30 minutos, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se secó el producto sólido filtrado a presión reducida para obtener 2,9 g (contenido: 99% en masa) de una sal de monoamonio de glutatión oxidado.

Intervalo de punto de fusión: de 179 a 183°C (se descompone al fundirse)

60 Sólido cristalino

Difracción de rayos X de polvo [ángulo de difracción (2 θ), los valores entre paréntesis "()" representan la intensidad relativa]:

65 6,02(25), 17,4(46), 17,4(53), 17,6(72), 17,9(62), 18,7(22), 18,8(23), 18,9(21), 20,0(40), 20,2(60), 20,2(62), 21,1(42), 21,4(100), 21,9(76), 22,8(29), 22,8(29), 23(44), 23,4(96), 23,6(76), 24,7(50), 26,2(34), 28,0(27), 28,2(23), 30,8(28),

30,9(24), 35,6(34), 35,7(37), 35,8(34), 35,9(26)

Análisis elemental

5 Fórmula molecular: $C_{20}H_{34}N_7O_{12}S_2$

Peso molecular: 630,7

Valor teórico: [N]16%, [C]38%, [S]10%

10

Resultados de los análisis: [N]15%, [C]38%, [S]10%

Ejemplo 3

15 Se disolvió glutatión oxidado (3 g, 4,9 mmol) en agua (7 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (10 g), y se añadió a lo mismo además una disolución acuosa de amoníaco al 25% (0,33 g, 4,9 mmol, razón molar en relación con glutatión = 1). Se calentó la disolución acuosa (pH = 3,5) hasta 40°C, y se añadió isopropanol (30 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 3) a lo largo de 1 hora; como resultado, se precipitó un producto sólido. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 40°C tal como estaba durante 30 minutos, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se secó el producto sólido filtrado a presión reducida para obtener 2,9 g (contenido: 96% en masa) de una sal de monoamonio de glutatión oxidado.

20

25 Los resultados del punto de fusión, difracción de rayos X y análisis elemental fueron los mismos que los de la sal de monoamonio de glutatión oxidado descrita en el ejemplo 2.

Ejemplo 4

30 Se disolvió glutatión oxidado (3 g, 4,9 mmol) en agua (7 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (10 g), y se añadió además una disolución acuosa de amoníaco al 25% (0,66 g, 9,6 mmol, razón molar en relación con glutatión = 2). Se calentó la disolución acuosa (pH = 4,8) hasta 40°C, y se añadió metanol (20 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 2) a lo largo de 1 hora; como resultado, se precipitó un producto sólido. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 40°C tal como estaba durante 30 minutos, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se secó el producto sólido filtrado a presión reducida para obtener 2,9 g (contenido: 95% en masa) de una sal de monoamonio de glutatión oxidado.

35

Los resultados del punto de fusión, difracción de rayos X y análisis elemental fueron los mismos que los de la sal de monoamonio de glutatión oxidado descrita en el ejemplo 2.

40 Ejemplo 5

Se disolvió glutatión oxidado (3 g, 4,9 mmol) en agua (7 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (10 g), y se añadió a lo mismo además hidróxido de calcio (0,36 g, 4,9 mmol, razón molar en relación con glutatión = 1). Se añadió la disolución acuosa (pH = 5,3) a metanol (100 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = aproximadamente 10) que se calentó hasta 40°C a lo largo de 1 hora; como resultado, se precipitó un producto sólido. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 40°C tal como estaba durante 30 minutos, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se secó el producto sólido filtrado a presión reducida para obtener 2,9 g (contenido: 98% en masa) de una sal de monocalcio de glutatión oxidado.

45

50 Intervalo de punto de fusión: de 194 a 205°C (se descompone al fundirse)

Sólido amorfo (confirmado mediante difracción de rayos X de polvo)

Ejemplo 6

55 Se disolvió glutatión oxidado (3 g, 4,9 mmol) en agua (7 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (10 g), y se añadió a lo mismo además hidróxido de calcio (0,18 g, 2,5 mmol, razón molar en relación con glutatión = 0,5). Se añadió la disolución acuosa (pH = 3,4) a metanol (100 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = aproximadamente 10) que se calentó hasta 40°C a lo largo de 1 hora; como resultado, se precipitó un producto sólido. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 40°C tal como estaba durante 30 minutos, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se secó el producto sólido filtrado a presión reducida para obtener 2,9 g (contenido: 97% en masa) de una sal de hemicalcio de glutatión oxidado.

60

65 Intervalo de punto de fusión: 188 to 195°C (se descompone al fundirse) Sólido amorfo (confirmado mediante difracción de rayos X de polvo)

Análisis elemental

Fórmula molecular: $C_{20}H_{30}N_6O_{12}S_2Ca_{0,5}$

Peso molecular: 631,7

Valor teórico: [N]13%, [C]38%, [S]10%

Resultados de los análisis: [N]13%, [C]39%, [S]10%

Ejemplo 7

Se disolvió glutatión oxidado (5 g, 8,2 mmol) en agua (25 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (30 g), y se añadió a lo mismo además hidróxido de magnesio (0,4 g, 8,2 mmol, razón molar en relación con glutatión = 1). Se añadió la disolución acuosa (pH = 4,7) a metanol (100 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 3,5) que tenía una temperatura de 25°C a lo largo de 30 minutos; como resultado, se obtuvo un precipitado gelatinoso. Después de que se retiró el sobrenadante por decantación, se secó el residuo a presión reducida con calentamiento a 50°C durante 6 horas, para obtener 5,0 g (contenido: 95% en masa) de una sal de monomagnesio de glutatión oxidado.

Intervalo de punto de fusión: de 186 a 197°C (se descompone al fundirse)

Sólido amorfo (confirmado mediante difracción de rayos X de polvo)

Ejemplo 8

Se disolvió glutatión oxidado (5 g, 8,2 mmol) en agua (25 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (30 g), y se añadió a lo mismo además hidróxido de magnesio (0,24 g, 4,1 mmol, razón molar en relación con glutatión = 0,5). Se añadió la disolución acuosa (pH = 3,4) a metanol (100 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 3,5) que se calentó hasta 40°C a lo largo de 1 hora; como resultado, se precipitó un producto sólido. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 30°C tal como estaba durante 30 minutos, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se secó el producto sólido filtrado a presión reducida para obtener 4,8 g (contenido: 98% en masa) de una sal de hemimagnesio de glutatión oxidado.

Intervalo de punto de fusión: de 179 a 186°C (se descompone al fundirse)

Sólido amorfo (confirmado mediante difracción de rayos X de polvo)

Ejemplo 9

Se disolvió glutatión reducido (20 g, 65 mmol) en agua (180 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión reducido (200 g), y se añadió a lo mismo además una disolución acuosa de amoníaco al 25% (4,4 g, 65 mmol, razón molar en relación con glutatión = 1) de modo que el pH de la disolución se ajustó a 7,8. Entonces, se agitó la disolución bajo una atmósfera de aire para oxidar el glutatión reducido. Después se añadió ácido clorhídrico al 35% (3,4 g, 33 mmol) a la disolución acuosa de modo que el pH se vuelve de 3,5, se aumentó la temperatura hasta 40°C. Se añadió metanol (400 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 2) a lo largo de 1 hora a lo mismo; como resultado, se precipitó un producto sólido. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 40°C tal como estaba durante 30 minutos, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se secó el producto sólido filtrado a presión reducida para obtener 19,6 g (contenido: 96% en masa) de una sal de monoamonio de glutatión oxidado.

Los resultados del punto de fusión, difracción de rayos X y análisis elemental fueron los mismos que los de la sal de monoamonio de glutatión oxidado descrita en el ejemplo 2.

Ejemplo 10

Se disolvió glutatión oxidado (3,5 kg, 5,7 mol) en agua (14 kg) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado, y se añadió a lo mismo además una disolución acuosa de amoníaco al 25% (0,39 kg, 5,7 mol, razón molar en relación con glutatión = 1). Mientras la disolución acuosa (pH = 3,5) se calentó hasta 60°C y se agitó con una potencia de agitación de 1 kw/m³, se añadió metanol (17,5 kg, 21 l, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 1,3) a lo largo de 1 hora; como resultado, se precipitó un producto sólido. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 60°C con agitación durante 2 horas, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se secó el producto sólido filtrado a presión reducida para obtener 3,6 kg (contenido: 99% en masa) de una sal de monoamonio de glutatión oxidado.

Los resultados del punto de fusión, difracción de rayos X y análisis elemental fueron los mismos que los de la sal de monoamonio de glutatión oxidado descrita en el ejemplo 2.

Ejemplo 11

5 Se disolvió glutatión oxidado (3,5 kg, 5,7 mol) en agua (14 kg) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado, y se añadió a lo mismo además una disolución acuosa de amoniaco al 25% (0,39 kg, 5,7 mol, razón molar en relación con glutatión = 1). Mientras la disolución acuosa (pH = 3,5) se calentó hasta 50°C y se agitó con una potencia de agitación de 1 kw/m³, se añadió metanol (17,5 kg, 21 l, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 1,3) a lo largo de 1 hora; como resultado, se precipitó un producto sólido. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 50°C con agitación durante 2 horas, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se secó el producto sólido filtrado a presión reducida para obtener 3,6 kg (contenido: 99% en masa) de una sal de monoamonio de glutatión oxidado.

15 Los resultados del punto de fusión, difracción de rayos X y análisis elemental fueron los mismos que los de la sal de monoamonio de glutatión oxidado descrita en el ejemplo 2.

Ejemplo 12

20 Se disolvió glutatión oxidado (3,5 kg, 5,7 mol) en agua (14 kg) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado, y se añadió a lo mismo además una disolución acuosa de amoniaco al 25% (0,39 kg, 5,7 mol, razón molar en relación con glutatión = 1). Mientras la disolución acuosa (pH = 3,5) se calentó hasta 45°C y se agitó con una potencia de agitación de 1 kw/m³, se añadió metanol (17,5 kg, 21 l, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 1,3) a lo largo de 1 hora; como resultado, se precipitó una mezcla de un producto sólido y un producto oleoso para estar en un estado emulsionado. Después se mantuvo la mezcla a una temperatura de 45°C durante 1 hora, se solidificó completamente el producto oleoso. Entonces, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se recogió el producto sólido mediante filtración. Se midió el punto de fusión del producto sólido filtrado y se analizó el producto sólido mediante difracción de rayos X; como resultado, se confirmó que el producto sólido era una sal de monoamonio de glutatión oxidado.

Ejemplo comparativo 1

35 Se disolvió glutatión oxidado (5 g, 8,2 mmol) en agua (25 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (30 g), y se añadió a lo mismo además una disolución acuosa de amoniaco al 25% (0,56 g, 8,2 mmol, razón molar en relación con glutatión = 1). Se sometió la disolución acuosa obtenida a liofilización para obtener una sal de monoamonio de glutatión oxidado; sin embargo, la sal de monoamonio de glutatión oxidado obtenida pronto se volvió oleosa y no podía manejarse como un sólido.

Ejemplo comparativo 2

40 Se disolvió glutatión oxidado (3 g, 4,9 mmol) en agua (7 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (10 g), y se añadió a lo mismo además una disolución acuosa de amoniaco al 25% (0,33 g, 4,9 mmol, razón molar en relación con glutatión = 1). Mientras la temperatura de la disolución acuosa obtenida se mantenía a temperatura ambiente, es decir, 25°C, se añadió metanol (20 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 2) a lo mismo; como resultado, se asentó una sustancia oleosa y no pudo obtenerse una sustancia sólida.

Ejemplo comparativo 3

50 Se disolvió glutatión oxidado (3 g, 4,9 mmol) en agua (7 g) para preparar una disolución acuosa de glutatión oxidado (10 g), y se añadió a lo mismo además hidróxido de sodio (0,39 g, 9,8 mmol, razón molar en relación con glutatión = 1). Se calentó la disolución acuosa hasta 40°C, y se añadió a lo mismo metanol (60 ml, razón de volumen en relación con la disolución acuosa = 6) a lo largo de 1 hora. Sin embargo, se asentó una sustancia oleosa y no pudo obtenerse una sustancia sólida.

Evaluación 1: Solubilidad en agua a 25°C a presión normal y delicuescencia de sal de glutatión oxidado

(1) Solubilidad

60 Cada uno de los polvos de la sal de glutatión oxidado en estado sólido obtenidos en los respectivos ejemplos anteriores se disolvió en agua hasta que no se disolvió el polvo adicionalmente. Después de que se agitara cada suspensión durante 30 minutos o más, se obtuvo el sobrenadante y se calcularon las concentraciones de cada glutatión oxidado y sal usando HPLC. Por comparación, las solubilidades de los siguientes glutationes oxidados sólidos conocidos convencionalmente se investigaron de la misma manera que antes.

65 Anhídrido de glutatión oxidado, preparado según el método del ejemplo de referencia 1 divulgado en el documento WO 2003/035674 (documento de patente 3)

Glutati3n oxidado monohidratado, preparado seg3n el m3todo del ejemplo 1 divulgado en el documento WO 2003/035674 (documento de patente 3)

5 Sal de disodio de glutati3n oxidado, fabricada por Sigma-Aldrich Co., LLC.

(2) Delicuescencia

10 Cada uno de los polvos de la sal de glutati3n oxidado en estado s3lido obtenidos en los respectivos ejemplos anteriores se permiti3 reposar en una condici3n atmosf3rica de una temperatura de 25°C, presi3n normal y una humedad relativa del 75% de HR. Despu3s de 2 horas o 24 horas, se determin3 si la delicuescencia estaba presente observando la aparici3n de cambio de forma a simple vista. Para comparaci3n, las delicuescencias de los glutati3nes oxidados s3lidos disponibles comercialmente anteriores se investigaron de la misma manera.

15 Los resultados se demuestran en la tabla 1.

Tabla 1

	Solubilidad (% en masa, a 25°C, en agua)	Delicuescencia	
		2 horas	24 horas
Ejemplo 1	Sal de monoamonio de glutatión oxidado (amorfa)	no	no
Ejemplo 2	Sal de monoamonio de glutatión oxidado (cristal)	no	no
Ejemplo 5	Sal de monocalcio de glutatión oxidado	no	no
Ejemplo 6	Sal de hemicalcio de glutatión oxidado	no	no
Ejemplo 7	Sal de monomagnesio de glutatión oxidado	no	ligeramente delicuescente
Ejemplo 8	Sal de hemimagnesio de glutatión oxidado	no	ligeramente delicuescente
Control	Anhídrido de glutatión oxidado	delicuescente	delicuescente
	Glutatión oxidado monohidratado	no	no
	Sal de disodio de glutatión oxidado	delicuescente	delicuescente

Resulta evidente a partir de la tabla 1 que los glutaciones oxidados sólidos convencionales (controles) tienen o bien una alta deliquesencia o bien una baja solubilidad en agua, y no satisfacen tanto una alta solubilidad en agua como una baja deliquesencia. Las sales de glutatión oxidado sólidas de los ejemplos pueden satisfacer tanto una alta solubilidad en agua como una baja deliquesencia.

5

Aplicabilidad industrial

La sal de glutatión oxidado de la presente invención es útil como un producto alimenticio saludable, un producto farmacéutico, un producto cosmético, un producto fertilizante y similares, o un producto intermedio para producir los productos.

10

REIVINDICACIONES

1. Sal sólida de glutatión oxidado,
 5 que comprende glutatión oxidado y al menos un catión seleccionado de un catión amonio, un catión de calcio y un catión de magnesio;
 en la que la sal sólida de glutatión oxidado está en un estado sólido a temperatura ambiente; y
 10 en la que la sal sólida de glutatión oxidado se selecciona del grupo que consiste en una sal de monoamonio de glutatión oxidado, una sal de hemicalcio o una sal de monocalcio de glutatión oxidado, y una sal de hemimagnesio o una sal de monomagnesio de glutatión oxidado.
- 15 2. Sal sólida de glutatión oxidado según la reivindicación 1, en la que la sal sólida de glutatión oxidado se mantiene en un estado sólido después de dar un impacto mecánico, y no es delicuescente cuando la sal sólida de glutatión oxidado se mantiene en una condición de temperatura de 25°C, presión normal y humedad relativa del 75% de HR durante 2 horas o más.
- 20 3. Sal sólida de glutatión oxidado según la reivindicación 1 ó 2, en la que la sal sólida de glutatión oxidado es una sal de monoamonio de glutatión oxidado.
4. Sal sólida de glutatión oxidado según la reivindicación 1 ó 2, en la que la sal sólida de glutatión oxidado es una sal de hemicalcio o una sal de monocalcio de glutatión oxidado.
- 25 5. Sal sólida de glutatión oxidado según la reivindicación 1 ó 2, en la que la sal sólida de glutatión oxidado es una sal de hemimagnesio o una sal de monomagnesio de glutatión oxidado.
6. Formulación en polvo,
 30 que comprende la sal sólida de glutatión oxidado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; y
 en la que el contenido de glutatión oxidado es del 0,01% en masa o más.
- 35 7. Método para producir una sal sólida de glutatión oxidado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, comprendiendo el método la etapa de calentar un glutatión oxidado a 30°C o más mientras el glutatión oxidado se pone en contacto con un medio acuoso en presencia de una sustancia para proporcionar un catión, para producir la sal del glutatión oxidado y el catión como un sólido;
 40 en el que
 el medio acuoso se compone de agua y/o un medio soluble en agua; y
 el catión es al menos uno seleccionado de un catión amonio, un catión de calcio y un catión de magnesio.
- 45 8. Método según la reivindicación 7, en el que el glutatión oxidado se calienta a 30°C o más durante 0,25 horas o más.
- 50 9. Método según la reivindicación 7 u 8, en el que el medio soluble en agua es al menos uno seleccionado de un medio de alcohol y un medio de cetona.
10. Método según la reivindicación 9, en el que el medio de alcohol es al menos uno seleccionado de metanol, etanol, propanol y butanol, y el medio de cetona es al menos uno seleccionado de acetona y metil etil cetona.