

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 915**

51 Int. Cl.:

C07F 7/30 (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01)
A61K 31/194 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61K 33/00 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/22 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.11.2012 PCT/RU2012/000897**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.11.2013 WO13172732**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.11.2012 E 12876796 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2019 EP 2851368**

54 Título: **Compuestos complejos de germanio, métodos para la producción de los mismos y fármacos**

30 Prioridad:

16.05.2012 RU 2012120329

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

29.04.2019

73 Titular/es:

**OBSHESTVO S OGRANICHENNOI
OTVETSTVENNOSTYU (100.0%)
ul. Kulakova 20 str. 1G
Moscow 123592, RU**

72 Inventor/es:

**ISAEV, ALEXANDR DMITRIEVICH;
AMBROSOV, IGOR VALERIEVICH;
MANASHEROV, TAMAZ OMAROVICH y
MATELO, SVETLANA KONSTANTINOVNA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

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

ES 2 710 915 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

Compuestos complejos de germanio, métodos para la producción de los mismos y fármacos

5 Campo técnico

La invención se refiere a la medicina y la farmacología, a saber, al diseño de fármacos terapéuticos que están destinados a la prevención y/o el tratamiento de diversas enfermedades víricas, en particular, aquellas causadas por los virus del herpes, y que son adecuados para su uso en terapia anticancerígena de combinación e inmunoterapia.

10 La invención se refiere a nuevos compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), ácidos hidroxicarboxílicos y preferentemente aminoácidos. En particular, la invención se refiere a compuestos complejos de germanio con derivados de adenina y/o guanina, siendo las especies preferidas el aciclovir, el valaciclovir, el ganciclovir, el penciclovir, la vidarabina y algunas otras.

15 Los compuestos de acuerdo con las reivindicaciones proporcionan un nivel alto de actividad biológica, en particular, antivírica, frente a los virus del herpes, por ejemplo, frente al virus del herpes simple tipo 1 y tipo 2, incluyendo cepas resistentes, por ejemplo, cepas resistentes al aciclovir.

20 La técnica antecedente

En la actualidad, se usan algunos derivados de bases nitrogenadas como fármacos terapéuticos para el tratamiento y la prevención de diversas infecciones víricas, en particular, infecciones causadas por el virus del herpes, incluyendo la terapia de combinación de pacientes infectados por el VIH y con cáncer y de pacientes con trasplantes de órganos. Por ejemplo, los derivados de guanina se usan como fármacos terapéuticos antivíricos, en particular, para el tratamiento de infecciones causadas por el virus del herpes.

30 El herpes es la enfermedad humana más habitual, cuyo agente causante es el virus del herpes. Existen ocho tipos conocidos de virus del herpes, siendo los más conocidos los virus del herpes simple tipo 1 y tipo 2 (VHS-1 y VHS-2), el virus de la varicela-zóster (HHV-3), el virus de Epstein-Barr (HHV-4), el citomegalovirus (HHV-5) y algunos otros. Una parte considerable de la población en el mundo está infectada con virus del herpes en forma de infección latente. El virus del herpes existe de manera permanente en las células nerviosas del paciente infectado, pero la enfermedad se manifiesta por sí misma en el sentido clínico solo durante el período de exacerbación, es decir, el período de reproducción activa del patógeno. El VHS-1 es la causa de enfermedades, tales como queratitis, "frío en los labios" y encefalitis; el VHS-2 causa la infección genital; el HHV-3 causa enfermedades de la culebrilla y varicela-zóster; el HHV-4 es la causa de la mononucleosis infecciosa; y el HHV-5 es la causa de la hepatitis citomegalovírica, la colitis y la neumonitis.

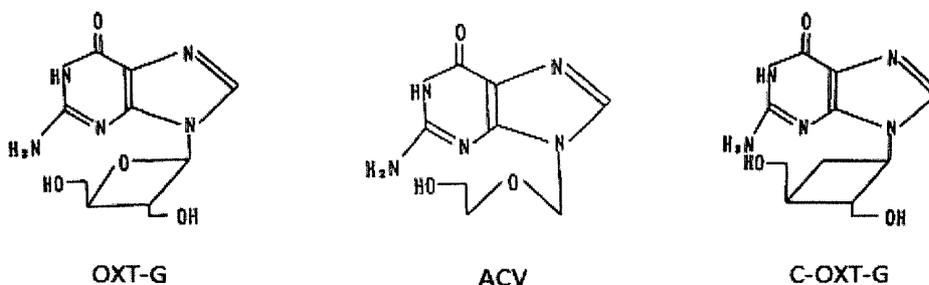
40 Los fármacos terapéuticos usados con el fin de tratar enfermedades causadas por virus del herpes son aquellos capaces de suprimir de manera eficaz los síntomas de la infección por virus, la reproducción del virus y su desarrollo, si se reciben con regularidad. Uno de tales fármacos terapéuticos ampliamente usados es el aciclovir, que es un derivado de la guanina y que inhibe la reproducción del virus en las células. Sin embargo, el aciclovir es eficaz en la inhibición de la reproducción del virus cuando se usa en altas dosis; en particular, la cantidad de este fármaco terapéutico para la ingestión es de hasta 4.000 mg/día. El aumento de la dosis única de aciclovir reduce su biodisponibilidad y esto puede dar lugar a efectos tóxicos medicinales sobre el cuerpo. Una desventaja más del aciclovir consiste en su baja solubilidad en agua: 1,3 mg/ml a 25 °C y 2,5 mg/ml a 37 °C; y, además, el aciclovir es casi insoluble en los sistemas hidrófobos. Por esta razón, la ingestión de aciclovir da lugar a cierta probabilidad de que se formen cristales finos en la urea (véase Mason, W.J. y Nickols H.H., "Crystalluria from acyclovir use", N. Engl. J. Med., 2008, 358: e14) y de que se produzca nefrotoxicidad. Además, las cepas del virus del herpes resistentes al aciclovir se han producido recientemente con una frecuencia cada vez mayor, en especial, en pacientes inmunodeficientes.

50 El valaciclovir es una especie modificada del aciclovir y tiene mayor actividad y biodisponibilidad: el 54 % frente al 15-20 % en cuanto al aciclovir. No obstante, el valaciclovir, como aciclovir, es eficaz solo en altas dosis de 1.000 a 4.000 mg/día.

60 Otros derivados de guanina, por ejemplo, el penciclovir y el ganciclovir, también se sabe que tienen actividad frente al virus del herpes simple tipo 1 y 2 (VHS-1 y VHS-2), el virus de la varicela-zóster, el virus de Epstein-Barr y las infecciones citomegalovíricas y que son útiles para el tratamiento y la prevención de infecciones causadas por estos virus, en particular, para el tratamiento y la profilaxis de pacientes inmunodeficientes, por ejemplo, pacientes con SIDA, pacientes con cáncer y aquellos con trasplantes de órganos. Un inconveniente habitual del penciclovir y el ganciclovir consiste en sus solubilidades en agua moderadas (el 0,17 % en cuanto al penciclovir y el 0,43 % en cuanto al ganciclovir) y sus biodisponibilidades bajas (el 1,5 % y el 5 %, respectivamente).

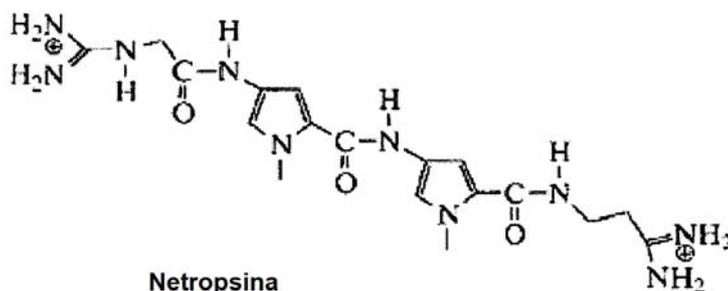
65 Los fármacos terapéuticos antivíricos tendrán las siguientes propiedades: la capacidad de penetrar una célula, la citotoxicidad mínima, la selectividad, la no adictividad y la no acumulación en el organismo. Por lo tanto, una línea en

el diseño de formas de dosificación consiste en buscar compuestos que mejoren la actividad antivírica de los fármacos terapéuticos de la técnica anterior cuando se formulan con ellos. La patente EP 0477871 (1992, IPC: A61K 31/52) desvela una composición antivírica que tiene una actividad selectiva y sinérgica frente a los virus del herpes simple tipos 1 y 2. La composición antivírica consiste en al menos dos compuestos que son derivados de guanina: oxetanocina G (OXT-G), aciclovir (ACV) y oxetanocina G carbocíclica (C-OXT-G).



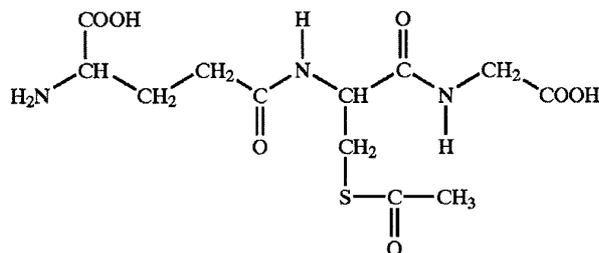
El efecto de aquellas composiciones antivíricas sobre la reproducción de los virus del herpes simple tipos 1 y 2 (VHS-1 y VHS-2) se estudió en cultivos de células Vero. Los cultivos de células monocapa Vero se cultivaron en un medio de nutriente Eagle suplementado con el 10 % de suero de ternera a una temperatura de 37 °C. Posteriormente, los cultivos se infectaron con el VHS-1 y VHS-2. Después, los derivados de guanina se introdujeron en el medio de cultivo de células infectadas, ya sea de manera individual o en combinaciones entre sí, y se determinaron las concentraciones que proporcionaron el 50 % de inhibición del efecto citopático inducido por el virus (DI₅₀). Se demostró que las composiciones que consistían en dos compuestos alcanzaban los valores de ID₅₀ a concentraciones más bajas que aquellas requeridas para cada uno de los componentes individuales. Por ejemplo, la combinación de aciclovir (0,04-0,4 mcg/ml) con oxetanocina G (0,4-5,4 mcg/ml) o con oxetanocina G carbocíclica (0,01-0,2 mcg/ml) proporciona un efecto sinérgico frente al VHS-1 y la combinación de aciclovir (0,1-3,4 mcg/ml) con oxetanocina G (0,4-4 mcg/ml) o con oxetanocina G carbocíclica (0,04-0,54 mcg/ml) proporciona un efecto sinérgico frente al VHS-2.

La patente de la Federación de Rusia 2240792 (2004, IPC: A61K 31/40) reivindica composiciones que comprenden netropsina o un derivado bis de la misma con aciclovir y ganciclovir, proporcionando estas composiciones altos niveles de actividad antivírica frente a los virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1).



Las combinaciones de compuestos de netropsina con aciclovir y ganciclovir proporcionan una potenciación apreciable de la actividad antiherpética en comparación con cada uno de los agentes antivíricos combinados tomados de manera individual. Por ejemplo, en cuanto al uso combinado de netropsina (2,5 mcg/ml) y bis-netropsina (0,15 mcg/ml) con aciclovir, se logra el 50 % de inhibición del efecto citopático inducido por el virus en concentraciones de aciclovir de 0,075 mcg/ml y 0,15 mcg/ml, que son, respectivamente, cinco y tres veces inferiores a las concentraciones de aciclovir usado de manera individual (0,4 mcg/ml). Una combinación de netropsina y bis-netropsina con ganciclovir proporciona una reducción de cinco veces en la concentración de ganciclovir.

La patente estadounidense 6448227 (2002, IPC: A61K 38/00) desvela una mezcla que contiene glutatona de S-acetilo y aciclovir como agente contra un virus del herpes simple o un virus de la varicela-zóster. La glutatona es un tripéptido γ-glutamil cisteinil glicina.

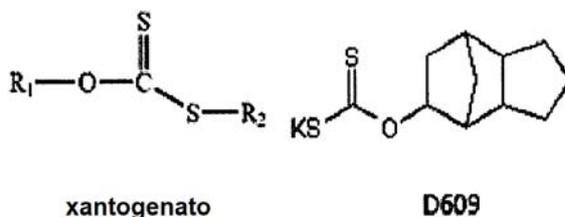


5 Se demostró que la glutatona de S-acetilo era un agente eficaz frente a un virus del herpes simple (VHS-1) a partir de concentraciones de 0,35 mg/ml; el aciclovir es especialmente eficaz en concentraciones de 0,45 mcg/ml. La combinación de glutatona de S-acetilo y aciclovir da lugar a un fuerte efecto sinérgico frente al VHS-1. Por ejemplo, cuando se usa glutatona de S-acetilo (0,7 mg/ml) con aciclovir (0,45 mcg/ml), no se determina el título del virus.

10 Se demostró que las composiciones de glutatona de S-acetilo (0,35 mg/ml) con tres concentraciones de aciclovir causaban un efecto sinérgico notable frente el virus de la varicela-zóster, que fue especialmente fuerte cuando la concentración de aciclovir era de 0,9 mcg/ml.

15 La patente de la Federación de Rusia 2104032 (1998, IPC: A61K 47/22) desvela un método para la mejora de la eficacia de los fármacos terapéuticos por medio de compuestos de organogermanio (derivados de germatrano). Se demostró que los compuestos de organogermanio potenciaban la actividad de muchos fármacos terapéuticos antivíricos conocidos, tales como los derivados de adamantano (metadona y rimantadina), los análogos de nucleósidos (aciclovir, ganciclovir, vidarabina y idoxuridina), los derivados de tiosemicarbazonas (metisazona) y foscarnet. El índice terapéutico aumenta cuatro veces con la reducción simultánea de la toxicidad y el alivio de los efectos secundarios. La actividad antivírica de las composiciones que consisten en derivados de germatrano con foscarnet o aciclovir se evaluó en cobayas macho infectadas con el virus del herpes simple VHS-2. Los estudios clínicos mostraron que el uso de derivados de germatrano formulados con foscarnet o aciclovir proporcionaron una potenciación de dos a cuatro veces en el efecto de estos últimos en el tratamiento del VHS-2.

25 La patente alemana 10343365 (2005, IPC: A61K 45/00) reivindica composiciones farmacéuticas de xantogenatos (ditiocarbonatos) en combinación con fármacos terapéuticos antivíricos para el tratamiento de enfermedades víricas. Los xantogenatos, en especial, el triciclododecan-9-il-xantogenato (D609, son bien conocidos por su actividad antivírica y antitumoral.



30 El uso de xantogenatos como fármacos terapéuticos antivíricos se complica con el hecho de que se requieren concentraciones altas de estos agentes para el tratamiento de organismos vivos. La última patente citada demuestra que el uso de derivados de xantogenato, tales como D609, en combinación con aciclovir da como resultado una potenciación de la actividad antivírica. En presencia de concentraciones ineficaces y bajas de xantogenato, la actividad del aciclovir en un cultivo celular aumentó cinco veces. En los experimentos sobre organismos vivos, la combinación de D609 y aciclovir proporcionó la supervivencia de todos los animales infectados con el VHS-1.

40 De ello se deduce que la forma usada en la técnica anterior para la potenciación de la actividad antivírica de fármacos terapéuticos conocidos implicaba la preparación de composiciones antivíricas que comprendían varios compuestos activos que potenciaban el efecto antivírico del fármaco terapéutico.

45 Los autores de la presente invención proponen un enfoque radicalmente diferente para mejorar la actividad antivírica de compuestos conocidos. Lo que se reivindica de acuerdo con la invención es: compuestos complejos de germanio con derivados de bases nitrogenadas de purina, ácidos hidroxicarboxílicos y aminoácidos, en los que estos compuestos complejos de germanio son compuestos químicos individuales que tienen valores biofarmacéuticos mejorados, en particular, solubilidades en agua altas, en comparación con los derivados relevantes de base nitrogenada de purina, y que tienen actividades antivíricas superiores a los derivados relevantes de base nitrogenada de purina.

Objetos de la invención

5 Un objeto de la presente invención consiste en proporcionar nuevos compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), ácidos hidroxicarboxílicos y, opcionalmente, pero preferentemente, aminoácidos, de tal manera que tengan una actividad antivírica, en particular, frente a los virus del herpes.

10 Otro objeto de la invención consiste en proporcionar nuevos compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), ácidos hidroxicarboxílicos y, opcionalmente, pero preferentemente, aminoácidos, de tal manera que tengan una actividad antivírica, en particular, frente a los virus del herpes, superior a las actividades antivíricas de las bases nitrogenadas relevantes.

15 Otro objeto más de la invención consiste en proporcionar nuevos compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), ácidos hidroxicarboxílicos y, opcionalmente, pero preferentemente, aminoácidos, de tal manera que tengan buenas solubilidades en agua.

20 Un objeto más de la invención consiste en proporcionar un método sencillo para la preparación de nuevos compuestos complejos de germanio con diversos derivados de base nitrogenada de Varios purina (análogos de nucleósidos), ácidos hidroxicarboxílicos de diversas naturalezas y aminoácidos de diversas naturalezas, de tal manera que sean estables en estado sólido y se puedan transferir de manera fácil a una solución acuosa.

25 Otro objeto de la invención consiste en desarrollar un método para la preparación de nuevos compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), ácidos hidroxicarboxílicos y, opcionalmente, pero preferentemente, aminoácidos, de tal manera que permitan el control de la relación entre el germanio, el derivado de base nitrogenada de purina, el ácido hidroxicarboxílico y el aminoácido en el compuesto complejo, es decir, que permitan el control de la composición del compuesto complejo.

30 Un objeto más de la invención consiste en proporcionar un fármaco terapéutico antivírico que comprenda, como componente activo, un compuesto complejo de germanio con derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), ácidos hidroxicarboxílicos y, opcionalmente, pero preferentemente, aminoácidos.

35 Un objeto adicional de la invención consiste en usar compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), ácidos hidroxicarboxílicos y, opcionalmente, pero preferentemente, aminoácidos, para fabricar un fármaco terapéutico para la mejora de la inmunidad.

40 Un objeto adicional más de la invención consiste en usar compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), ácidos hidroxicarboxílicos y, opcionalmente, pero preferentemente, aminoácidos, para el tratamiento de y/o la prevención de enfermedades víricas, en particular, aquellas causadas por un virus del herpes.

Breve divulgación de la invención

45 La invención se define mediante el conjunto de reivindicaciones adjunto. Los objetos de acuerdo con las reivindicaciones se pueden lograr debido a la provisión de nuevos compuestos complejos de organogermanio que comprenden derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), cuyas composiciones se describen mediante la siguiente Fórmula estructural:



50 en la que AD es un derivado de base nitrogenada de purina que tiene una actividad antivírica;
CA es un ácido hidroxicarboxílico;
AA es un aminoácido que se puede seleccionar de α -amino ácidos, en la que $x = 1-2$, $y = 2-4$ y $z = 0-2$ y en la que todos los AD en el compuesto complejo son los mismos o diferentes,
55 todos los CA en el compuesto complejo son los mismos o diferentes y todos los AA en el compuesto complejo son los mismos o diferentes.

Los derivados de base nitrogenada de purina útiles (análogos de nucleósidos) en el contexto de la invención son derivados de adenina y/o guanina, preferentemente aciclovir, valaciclovir, ganciclovir, penciclovir y vidarabina.

60 Los ácidos hidroxicarboxílicos preferidos a usar en la invención son ácido cítrico, ácido láctico y/o ácido málico.

Los aminoácidos preferidos a usar en la invención son arginina, glicina, lisina y treonina.

65 Los compuestos complejos de germanio de la Fórmula (I) estructural son compuestos químicos individuales que son bien solubles en agua y se pueden aislar en una forma sólida.

Los compuestos complejos de germanio de la Fórmula (I) estructural, que comprenden derivados de base nitrogenada de purina, tienen una alta actividad antivírica e inmunoestimuladora.

5 El método para la preparación de compuestos complejos de germanio de la Fórmula (I) estructural comprende: mezclar dióxido de germanio con agua para proporcionar una suspensión acuosa de dióxido de germanio; añadir la suspensión resultante con una mezcla de un ácido hidroxicarboxílico, un derivado de base nitrogenada de purina y, opcionalmente, pero preferentemente, un aminoácido; calentar la mezcla así obtenida a una temperatura de 40-100 °C durante 3-14 horas para formar un producto deseado; y retirar el agua mediante cualquier proceso conocido para obtener un producto en polvo.

10 En el método de la invención, la suspensión acuosa de dióxido de germanio se puede añadir con una mezcla de más de un aminoácido químicamente diferente y/o una mezcla de más de un ácido hidroxicarboxílico químicamente diferente y/o una mezcla de diferentes derivados de base nitrogenada de purina.

15 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra un espectro de RMN ¹H en D₂O para el compuesto complejo de germanio con arginina, ácido cítrico y aciclovir (WDS-1).

20 La Figura 2 muestra un espectro de IR del compuesto complejo de germanio con arginina, ácido cítrico y aciclovir (WDS-1).

La Figura 3 muestra un espectro de RMN ¹H en D₂O para el compuesto complejo de germanio con lisina, ácido cítrico y aciclovir (WDS-5).

La Figura 4 muestra un espectro de IR del compuesto complejo de germanio con lisina, ácido cítrico y aciclovir (WDS-5).

25 La Figura 5 muestra la dinámica del herpes oftálmico en conejos sometidos a tratamiento con WDS-1.

Detalles de la invención

30 Se han preparado nuevos compuestos complejos de organogermanio que comprenden derivados de base nitrogenada de purina (análogos de nucleósidos), cuyas composiciones se describen mediante la siguiente Fórmula estructural



35 en la que AD es un derivado de base nitrogenada de purina que tiene una actividad antivírica;

CA es un ácido hidroxicarboxílico;

AA es un aminoácido seleccionado de α-amino ácidos,

en la que x = 1-2, y = 2-4 y z = 0-2 y en la que

40 todos los AD en el compuesto complejo son los mismos o diferentes,

todos los CA en el compuesto complejo son los mismos o diferentes y

todos los AA en el compuesto complejo son los mismos o diferentes.

En la Fórmula (I) estructural; x puede tener valores de 1 o 2; y puede ser 2, 3 o 4; y z puede ser 0, 1 o 2; es decir, cada uno de x, y y z es un número entero.

45 Los derivados de base nitrogenada de purina (AD) útiles en el contexto de la invención son derivados de adenina y/o guanina que tienen actividad antivírica, en particular, frente a los virus del herpes. Tales derivados son bien conocidos en la técnica anterior. Estos se ejemplifican mediante los derivados de guanina que pertenecen a la familia de ciclovir, tales como aciclovir (9-[(2-hidroxietoxi)metil] guanina), valaciclovir (2-(guanin-9-ilmetoxi)etil L-valina éter), ganciclovir (9-[(1,3-dihidroxi-2-propoxi)metil] guanina), penciclovir (9-[4-hidroxi-3 - (hidroximetil)butil]guanina) y otros. Los derivados de adenina conocidos, por ejemplo, vidarabina (9-β-D-arabinofuranosil adenina), también son útiles en el contexto de la invención. En la técnica, estos compuestos se denominan, de manera alternativa, análogos de nucleósidos. En el contexto de la presente solicitud, estos términos son intercambiables.

55 Los derivados de base nitrogenada de purina (AD) preferidos a usar en la invención son los derivados de guanina que tienen actividad antivírica, en particular, frente a los virus del herpes.

Los ácidos hidroxicarboxílicos (CA) útiles en el contexto de la invención son diversos ácidos hidroxicarboxílicos, tales como ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico y otros. En el método de la invención se prefiere usar ácido cítrico.

60 Los aminoácidos (AA) útiles en el contexto de la invención son cualquier α-amino ácido, siendo preferidas la arginina, la glicina, la lisina y la treonina y siendo las más preferidas la arginina y la lisina.

Los compuestos de la Fórmula (I) estructural son compuestos químicos individuales que se pueden aislar en estado sólido como polvos amorfos.

Los compuestos químicos individuales de la Fórmula (I) son compuestos de organogermanio, que comprenden, en una molécula, más de un componente biológicamente activo, tal como germanio, y un derivado de base nitrogenada que tiene actividad antivírica. Esto dota a los compuestos de acuerdo con las reivindicaciones de una alta actividad antivírica e inmunoestimuladora. El ácido hidroxicarboxílico y el aminoácido implicados en el compuesto complejo lo dota de una alta solubilidad en agua. Además, los aminoácidos y los ácidos hidroxicarboxílicos potencian la actividad biológica de los compuestos complejos de la Fórmula (I).

La invención proporciona un método sencillo, que comprende un número mínimo de etapas, para la preparación de los compuestos de Fórmula (I).

El método de la invención está caracterizado por que el dióxido de germanio se mezcla con agua para proporcionar una suspensión acuosa. A la suspensión acuosa agitada de dióxido de germanio, se añaden un derivado de base nitrogenada, un ácido hidroxicarboxílico y un aminoácido o un derivado de base nitrogenada y un ácido hidroxicarboxílico. Más de un derivado de base nitrogenada, más de un ácido hidroxicarboxílico y más de un aminoácido se pueden añadir de acuerdo con el método. La mezcla se agita a 40-100 °C durante 3-14 horas para obtener una solución de un producto deseado; a continuación, se retira el agua mediante cualquier proceso conocido para obtener el producto deseado como un polvo amorfo de color blanco.

El dióxido de germanio usado puede ser un dióxido de α -germanio, que es insoluble en agua, o un dióxido de β -germanio, que es soluble en agua. Se prefiere el dióxido de α -germanio insoluble en agua porque, cuando se mezcla con agua, este forma una suspensión acuosa de dióxido de germanio.

Los derivados de base nitrogenada de purina (AD) útiles son derivados de adenina o guanina, que tienen actividad antivírica, en particular, frente a los virus del herpes. Los derivados preferidos a usar en el método son derivados de guanina de la familia de ciclovir, tales como aciclovir (9-[(2-hidroxietoxi)metil] guanina), valaciclovir (2-(guanin-9-ilmetoxi)etil L-valina éter), ganciclovir (9-[(1,3-dihidroxi-2-propoxi)metil]guanina) y penciclovir (9-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)butil]guanina). Otra realización del método de la invención usa derivados de adenina conocidos, por ejemplo, vidarabina (9- β -D-arabinofuranosil adenina).

Los ácidos hidroxicarboxílicos (CA) útiles en el método de la invención son ácidos hidroxicarboxílicos, tales como ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico y otros ácidos. En el método de la invención se prefiere usar ácido cítrico.

Los aminoácidos (AA) útiles en el método de la invención son cualquier α -amino ácido, siendo preferidas la arginina, la glicina, la lisina y la treonina y siendo las más preferidas la arginina y la lisina.

La relación entre el germanio, el derivado de base nitrogenada de purina, el ácido hidroxicarboxílico y el aminoácido en el compuesto complejo de germanio depende de las cantidades de los componentes añadidos a la suspensión acuosa de dióxido de germanio. Mediante la regulación de las proporciones entre las cantidades de dióxido de carbono y las cantidades del derivado de base nitrogenada de purina, el ácido hidroxicarboxílico y el aminoácido se pueden obtener compuestos complejos con diferentes relaciones entre el germanio, el derivado de base nitrogenada de purina, el ácido hidroxicarboxílico y el aminoácido. Cuando se añade un derivado de base nitrogenada a una solución acuosa de dióxido de germanio en la proporción estequiométrica, la relación molar entre el derivado de base nitrogenada y el dióxido de germanio en el compuesto complejo resultante es de 1:1. Mediante la regulación de la relación molar entre el derivado de guanina y el dióxido de germanio se puede regular de este modo la relación entre el germanio y el derivado de base nitrogenada de purina en el compuesto complejo resultante.

La relación del germanio respecto al ácido hidroxicarboxílico y el aminoácido en el compuesto complejo se puede regular de la misma manera. Cuando se añade un ácido hidroxicarboxílico (o un aminoácido) a una solución acuosa con dióxido de germanio en la proporción estequiométrica, la relación molar del germanio respecto al ácido hidroxicarboxílico (o el aminoácido) en el compuesto complejo resultante es de 1:1. Cuando se añade el ácido hidroxicarboxílico (o aminoácido) en una cantidad duplicada en relación con la estequiometría, la relación molar del ácido hidroxicarboxílico (o aminoácido) respecto al germanio en el compuesto complejo resultante es de 2:1.

De manera más detallada, la viabilidad de preparar compuestos complejos de germanio con diversas relaciones entre el germanio, los derivados de base nitrogenada de purina, los ácidos hidroxicarboxílicos y los aminoácidos de acuerdo con la invención se demuestra mediante realizaciones ejemplares de la invención.

La regulación de la composición del compuesto complejo de germanio de acuerdo con la invención permite obtener compuestos complejos que contienen diversas cantidades de un derivado de base nitrogenada de purina. Esto constituye una ventaja importante de los compuestos complejos de acuerdo con las reivindicaciones en el uso como fármacos terapéuticos en el tratamiento de enfermedades víricas, debido a que permite la fabricación de fármacos terapéuticos que tienen una actividad antivírica aumentada o reducida.

La temperatura a la que se lleva a cabo la reacción para preparar compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina, ácidos hidroxicarboxílicos y, opcionalmente, pero preferentemente, aminoácidos se

ES 2 710 915 T3

encuentra en el intervalo de 40-100 °C. Las temperaturas preferidas se encuentran en el intervalo de 80-100 °C; las temperaturas más preferidas se encuentran en el intervalo de 85-100 °C.

5 Los tiempos de reacción se encuentran en el intervalo de 3-14 horas. Los tiempos de reacción preferidos se encuentran en el intervalo de 5-12 horas; los tiempos de reacción más preferidos se encuentran en el intervalo de 6-8 horas.

10 La formación de un complejo de organogermanio se controla mediante la disolución completa de dióxido de germanio (cuando se usa el dióxido de germanio insoluble) y la formación de una solución transparente. Cualquier otro método también es útil para el control de la formación del producto, por ejemplo, aquellos que implican el muestreo y el análisis de las muestras.

15 Con el fin de aislar un compuesto complejo de organogermanio, la solución se filtra y, a continuación, se retira el agua de la solución mediante cualquier proceso conocido. Cualquiera de los procesos conocidos es adecuado para este fin, por ejemplo, la evaporación con agua, la destilación al vacío con calentamiento o el secado liofílico (secado por congelación). Los compuestos deseados se obtienen como polvos amorfos.

20 Los derivados de base nitrogenada de purina, los ácidos hidroxicarboxílicos y los aminoácidos se pueden añadir a una suspensión acuosa de dióxido de germanio, ya sea de manera simultánea o mediante la introducción de manera consecutiva de estos componentes. El orden en el que se añaden los componentes no afecta de manera sustancial al producto deseado resultante, que es un complejo de germanio con derivados de base nitrogenada de purina, ácidos hidroxicarboxílicos y aminoácidos, si se añaden tales.

25 Una realización del método es un método que comprende: añadir un ácido hidroxicarboxílico a una suspensión acuosa de dióxido de germanio y calentar la mezcla así obtenida con agitación a 80-100 °C durante 6-10 horas hasta que se forma una solución transparente; a continuación, añadir un aminoácido y un derivado de base nitrogenada de purina, en particular, un derivado de guanina; y continuar el calentamiento a 80-100 °C durante 2-3 horas, filtrar la solución y retirar el agua para obtener un compuesto complejo.

30 Otra realización del método es un método que comprende: añadir un aminoácido a una suspensión acuosa de dióxido de germanio; calentar la mezcla así obtenida con agitación a 80-100 °C durante 3-5 horas hasta que se forma una solución transparente; a continuación, añadir un ácido hidroxicarboxílico y un derivado de base nitrogenada de purina, en particular, un derivado de guanina; y continuar el calentamiento a 80-100 °C durante 3-5 horas, filtrar la solución y retirar el agua para obtener un compuesto complejo en forma sólida.

35 Otra realización más del método es un método que comprende: añadir un aminoácido y un ácido hidroxicarboxílico a una suspensión acuosa de dióxido de germanio; calentar la mezcla así obtenida con agitación a 80-100 °C durante 6-8 horas hasta que se forma una solución transparente; a continuación, añadir un derivado de base nitrogenada de purina, en particular, un derivado de guanina; y continuar el calentamiento a 80-100 °C durante 2-3 horas, filtrar la solución y retirar el agua para obtener un compuesto complejo en forma sólida.

40 Una realización más del método es un método que comprende: añadir una mezcla de un aminoácido, un ácido hidroxicarboxílico y un derivado de base nitrogenada de purina, en particular, un derivado de guanina, a una suspensión acuosa de dióxido de germanio; calentar la mezcla así obtenida con agitación a 80-100 °C durante 6-12 horas hasta que se forma una solución transparente; filtrar la solución; y retirar el agua para obtener un compuesto complejo en forma sólida.

45 Una realización adicional más del método es un método que comprende: añadir un ácido hidroxicarboxílico a una suspensión acuosa de dióxido de germanio y calentar la mezcla así obtenida con agitación a 80-100 °C durante 8-9 horas hasta que se forma una solución transparente. Después de esto, añadir un derivado de base nitrogenada de purina, en particular, un derivado de guanina; continuar el calentamiento a 80-100 °C durante 2-3 horas, filtrar la solución y retirar el agua para obtener un compuesto complejo en forma sólida.

50 El producto se obtiene como un polvo amorfo de color blanco, que es fácilmente soluble en agua. Cabe destacar que la mayoría de los derivados de guanina son, como regla, deficientemente solubles en agua (excepto en cuanto al valaciclovir). Por ejemplo: la solubilidad en agua del aciclovir es de 2,5 mg/ml a 37 °C, la solubilidad en agua del ganciclovir es de 4,3 mg/ml a 25 °C, la solubilidad en agua del penciclovir es de 1,74 mg/ml a 20 °C y la solubilidad en agua del valaciclovir es de 174 mg/ml a 25 °C. De la misma manera, los derivados de adenina tienen solubilidades en agua limitadas; por ejemplo, la vidarabina es deficientemente soluble en agua y se usa como unguento. Los compuestos complejos de germanio preparados de acuerdo con la invención tienen buenas solubilidades en agua que exceden el 25 % en peso a 20 °C, es decir, que exceden los 250 mg/ml a 20 °C. Las altas solubilidades de los compuestos complejos de germanio preparados de acuerdo con la invención permiten que las soluciones acuosas con altas concentraciones de estos compuestos se preparen y se usen como fármacos terapéuticos antivíricos sin causar efectos secundarios de nefrotoxicidad.

65 Los espectros de RMN e IR se estudiaron en compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina, en particular, derivados de guanina, ácidos hidroxicarboxílicos y aminoácidos, si se usaron tales, que se

prepararon de acuerdo con la invención, y también se realizó un análisis elemental en estos compuestos. Los resultados indican que estos compuestos complejos de germanio tienen la Fórmula estructural general:



en la que AD es un derivado de base nitrogenada de purina que tiene una actividad antivírica; CA es un ácido hidroxicarboxílico; AA es un α -amino ácido, en la que $x = 1-2$, $y = 2-4$ y $z = 0-2$, en la que cada uno de x , y y z es un número entero y en la que todos los AD en el compuesto complejo son los mismos o diferentes, todos los CA en el compuesto complejo son los mismos o diferentes y todos los AA en el compuesto complejo son los mismos o diferentes.

La presencia de una base nitrogenada de purina, un aminoácido y un ácido hidroxicarboxílico dota a los compuestos complejos de germanio de una alta actividad biológica y una buena solubilidad en agua, de modo que estos compuestos sean útiles en la fabricación de nuevas composiciones farmacéuticas y fármacos terapéuticos para diversas aplicaciones medicinales. La alteración de la naturaleza de una base nitrogenada de purina, un aminoácido y/o un ácido hidroxicarboxílico ofrece una manera de preparar compuestos complejos de germanio que tengan una actividad biológica muy alta para su uso en la fabricación de productos farmacéuticos altamente eficaces. Se propone el uso de los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la presente invención como componente activo en estos productos farmacéuticos y fármacos terapéuticos. Se espera que los compuestos complejos de germanio preferidos de acuerdo con las reivindicaciones tengan el mismo tipo de actividad biológica que las bases nitrogenadas de purina implicadas, tal como se demostrará más adelante en los compuestos preparados de acuerdo con los Ejemplos 1 y 5. Sin embargo, un compuesto complejo de germanio también puede tener otro tipo de actividad biológica, de tal manera que no sea intrínseca a los componentes iniciales implicados en el mismo. Los compuestos complejos de germanio están destinados para su uso en cantidades eficaces. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas pueden, además, contener componentes adyuvantes convencionales, que son bien conocidos en la técnica anterior.

A continuación, se describen preparaciones ejemplares de compuestos complejos de germanio con derivados de base nitrogenada de purina, en particular, derivados de guanina y adenina, ácidos hidroxicarboxílicos y aminoácidos, si se usan tales. Estos ejemplos sirven, de manera exclusiva, para ilustrar el método para la preparación de compuestos complejos de germanio y de ninguna manera pretenden limitar la invención a estos ejemplos.

Ejemplo 1.

En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador y un termómetro, se cargan 3,12 g (0,03 mol) de dióxido de α -germanio y 12,6 g (0,06 mol) de monohidrato de ácido cítrico y 200 ml de agua destilada. La suspensión se agita con calentamiento (a 85-95 °C) durante 8-9 horas hasta que se forma una solución transparente. Después, se añaden 2,61 g (0,015 mol) de arginina y 3,38 g (0,015 mol) de aciclovir y se lleva a cabo la agitación con calentamiento (a 85-95 °C) durante 2 horas. Después de esto, la solución se enfría y se filtra y el agua se retira en un evaporador giratorio. El producto se obtiene como 19,5 g (95 %) de un polvo amorfo de color blanco.

Los espectros de RMN e IR se midieron y se interpretaron y se obtuvieron datos del análisis elemental para el compuesto complejo de germanio preparado de acuerdo con el Ejemplo 1. La Figura 1 muestra un espectro de RMN ^1H en D_2O para el compuesto complejo de germanio con arginina, ácido cítrico y aciclovir. La Figura 2 muestra un espectro de IR del compuesto complejo de germanio con arginina, ácido cítrico y aciclovir. Los datos del análisis elemental para el compuesto preparado de acuerdo con el Ejemplo 1 se muestran en la Tabla 1. El compuesto preparado de acuerdo con el Ejemplo 1 se denomina, en lo sucesivo en el presente documento, WDS-1.

Ejemplo 2.

En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador y un termómetro, se cargan 3,12 g (0,03 mol) de dióxido de α -germanio, 12,6 g (0,06 mol) de monohidrato de ácido cítrico, 4,5 g (0,06 mol) de glicina, 9,73 g (0,03 mol) de valaciclovir y 250 ml de agua destilada. La suspensión se agita con calentamiento (a 85-95 °C) durante 10-12 horas. La solución transparente resultante se enfría y se filtra y el agua se retira en un evaporador giratorio. El producto se obtiene como 27,1 g (94 %) de un polvo amorfo de color blanco. Los datos del análisis elemental relevantes se muestran en la Tabla 1. El compuesto de este ejemplo se denomina, en lo sucesivo en el presente documento, WDS-2.

Ejemplo 3.

En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador y un termómetro, se cargan 3,12 g (0,03 mol) de dióxido de α -germanio, 12,6 g (0,06 mol) de monohidrato de ácido cítrico, 7,6 g (0,03 mol) de penciclovir y 250 ml de agua destilada. La suspensión se agita con calentamiento (a 85-95 °C) durante 7-9 horas hasta que se forma una solución transparente. A continuación, se añaden 5,22 g (0,03 mol) de arginina y se lleva a cabo la agitación con calentamiento (a 85-95 °C) durante 2 horas. Después de esto, la solución se enfría y se filtra y el agua se retira en un evaporador giratorio. El producto se obtiene como 26 g (95 %) de un polvo amorfo de color blanco. Los datos del análisis elemental

relevantes se muestran en la Tabla 1. El compuesto de este ejemplo se denomina, en lo sucesivo en el presente documento, WDS-3.

Ejemplo 4.

5 En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador y un termómetro, se cargan 3,12 g (0,03 mol) de dióxido de α -germanio, 7,14 g (0,06 mol) de treonina y 250 ml de agua destilada. La suspensión se agita con calentamiento (a 85-95 °C) durante 5-7 horas. A continuación, se añaden 7,65 g (0,03 mol) de ganciclovir y 8,04 g (0,06 mol) de ácido málico y la mezcla se agita con calentamiento (a 85-95 °C) durante 3 horas. Después de esto, la solución se enfría y se filtra y el agua se retira en un evaporador giratorio. El producto se obtiene como 23,1 g (93 %) de un polvo amorfo de color blanco. Los datos del análisis elemental relevantes se muestran en la Tabla 1. El compuesto de este ejemplo se denomina, en lo sucesivo en el presente documento, WDS-4.

Ejemplo 5.

15 En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador y un termómetro, se cargan 3,12 g (0,03 mol) de dióxido de α -germanio, 2,46 g (0,015 mol) de monohidrato de lisina, 12,6 g (0,06 mol) de monohidrato de ácido cítrico y 200 ml de agua destilada. La suspensión se agita con calentamiento (a 85-95 °C) durante 6-7 horas hasta que se forma una solución transparente. A continuación, se añaden 3,38 g (0,015 mol) de aciclovir y se lleva a cabo la agitación con calentamiento (a 85-95 °C) durante 2 horas. Después de esto, la solución se enfría y se filtra y el agua se retira en un evaporador giratorio. El producto se obtiene como 19,2 g (94 %) de un polvo amorfo de color blanco.

20 Los espectros de RMN e IR para el compuesto preparado de acuerdo con el Ejemplo 5 se muestran en la Figura 3 y la Figura 4, respectivamente. Los datos del análisis elemental relevantes se muestran en la Tabla 1. El compuesto de este ejemplo se denomina, en lo sucesivo en el presente documento, WDS-5.

Ejemplo 6.

30 En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador y un termómetro, se cargan 3,12 g (0,03 mol) de dióxido de α -germanio, 12,6 g (0,06 mol) de monohidrato de ácido cítrico y 200 ml de agua destilada. La suspensión se agita con calentamiento (a 85-95 °C) durante 8-9 horas hasta que se forma una solución transparente. A continuación, se añaden 3,38 g (0,015 mol) de aciclovir y se lleva a cabo la agitación con calentamiento (a 85-95 °C) durante 2 horas. Después de esto, la solución se enfría y se filtra y el agua se retira mediante secado por congelación. El producto se obtiene como 16,9 g (94 %) de un polvo amorfo de color blanco. Los datos del análisis elemental relevantes se muestran en la Tabla 1. El compuesto de este ejemplo se denomina, en lo sucesivo en el presente documento, WDS-6.

Ejemplo 7.

40 En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador y un termómetro, se cargan 3,12 g (0,03 mol) de dióxido de α -germanio, 12,6 g (0,06 mol) de monohidrato de ácido cítrico y 200 ml de agua destilada. La suspensión se agita con calentamiento (a 85-95 °C) durante 8-9 horas hasta que se forma una solución transparente. A continuación, se añaden 8,55 g (0,03 mol) de monohidrato de vidarabina y se lleva a cabo la agitación con calentamiento (a 85-95 °C) durante 2 horas. Después de esto, la solución se enfría y se filtra y el agua se retira mediante secado por congelación.

45 El producto se obtiene como 20,5 g (95 %) de un polvo amorfo de color blanco. Los datos del análisis elemental relevantes se muestran en la Tabla 1. El compuesto de este ejemplo se denomina, en lo sucesivo en el presente documento, WDS-7.

Tabla 1. Datos del análisis elemental para las composiciones preparadas.

N.º de Ejemplo	Compuesto	Fórmula	FW	Observado, %				Calc., %			
				C	H	Ge	N	C	H	Ge	N
1	WDS-1	Ge ₂ [Arg][Citri] ₄ [Acv]	1.305	34,62	3,91	11,32	9,45	34,97	3,78	11,13	9,66
2	WDS-2	Ge[Gli] ₂ [Citri] ₂ [Vcv]	927	37,34	4,73	7,98	11,86	37,56	4,56	7,83	12,08
3	WDS-3	Ge[Arg][Citri] ₂ [Pcv]	880	38,01	4,81	8,37	14,19	38,20	4,69	8,25	14,32
4	WDS-4	Ge[Tr] ₂ [Mal] ₂ [Gcv]	830	35,96	4,84	8,89	11,68	36,17	4,73	8,75	11,81
5	WDS-5	Ge ₂ [Lis][Citri] ₄ [Acv]	1.277	35,56	3,98	11,49	7,53	35,74	3,87	11,37	7,68
6	WDS-6	Ge ₂ [Citri] ₄ [Acv]	1130	33,83	3,27	12,97	6,03	34,01	3,12	12,84	6,19
7	WDS-7	Ge[Citri] ₂ [Vdrb]	720	36,51	3,62	10,17	9,55	36,70	3,50	10,08	9,72

Arg significa arginina, Gli significa glicina, Lis significa lisina, Tr significa treonina, Citr significa ácido cítrico, Mal significa ácido málico, Acv significa aciclovir, Vcv significa valaciclovir, Gcv significa ganciclovir, Pcv significa penciclovir y Vdrb significa vidarabina.

5 Toxicidad aguda

La toxicidad aguda de los nuevos compuestos, en particular, aquellos preparados de acuerdo con los Ejemplos 1, 5 y 6, se determinó en ratones blancos macho no lineales que tenían pesos corporales de 18-20 g con una única administración intragástrica (i/g), en dosis de 1.000, 2.000, 3.000, 4.000 y 5.000 mg/kg, de una solución acuosa al 20 % en cantidades de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 y 0,5 ml por 20 mg de peso corporal de ratón, respectivamente. Cada uno de los compuestos se administró de manera individual. No se observaron signos de intoxicación, retraso en el aumento de peso corporal o muerte de los animales en los 14 días posteriores a la administración de cada uno de los compuestos. No se observaron violaciones en los movimientos, reflejos o comportamiento de los animales en el intervalo de las dosis estudiadas. Los estudios anatómicos no han descubierto ningún cambio en los pulmones, los riñones, el bazo u otros órganos. Los valores de LD₅₀ en ratones para los compuestos estudiados fueron superiores a 5.000 mg/kg y, de este modo, estos compuestos se pueden clasificar como Clase IV de peligrosidad en términos de la clasificación de peligrosidad de las sustancias por su impacto en el organismo de acuerdo con la Norma Estatal de Rusia (GOST) 12.1.007-76 o como Clase V de toxicidad (prácticamente no tóxica) de acuerdo con la escala de Hodge y Sterner (1943).

Los experimentos también descubrieron que los compuestos sometidos a ensayo no tienen efectos de irritación para la piel, de resorción de la piel ni de sensibilización.

Los compuestos sometidos a ensayo no se acumulan en el organismo y no tienen ninguna propiedad acumulativa. Cuando los compuestos se administran a ratones no lineales durante 14 días por vía intragástrica en una dosis de 1.000 mg/kg, los animales de los grupos experimentales no mostraron ninguna muerte ni ningún cambio en el peso corporal ni los coeficientes de peso de los órganos parenquimatosos (hígado, riñones y bazo), en comparación con los respectivos valores en los animales del grupo de control.

30 Valores biofarmacéuticos

La solubilidad de un fármacos en fluidos biológicos del tubo gastrointestinal (fluido gástrico, fluido intestinal) es una propiedad biofarmacéutica importante. Se han estudiado valores biofarmacéuticos seleccionados para algunos de los compuestos recién preparados, en particular, para el WDS-1 y WDS-5, en comparación con el aciclovir. Los ensayos se llevaron a cabo de acuerdo con los requisitos de la Guidance on the Investigation of Bioequivalence, European Medicines Agency (EMA), Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP en inglés), 2010.

Con este fin, se estudiaron las solubilidades de estos compuestos en diversos valores de pH que corresponden a los fluidos gastrointestinales (en cuanto al fluido intestinal: el pH es 1,2; en cuanto al fluido duodenal: el pH es 4,4; y en cuanto al fluido de intestino: el pH es 6,8).

Un valor de solubilidad biofarmacéutica que permite la descripción de un fármaco terapéutico (TD en inglés) como un compuesto que tiene una solubilidad "alta" o "baja" es la relación de dosis/solubilidad (D/S). La relación de dosis/solubilidad se determina de la siguiente manera: dosis máxima (D) (mg) / solubilidad en agua (S) (mg/ml). Cuando $D/S \leq 250$ ml, el TD tiene una solubilidad "alta" en la solución acuosa relevante.

De manera importante, la solubilidad biofarmacéutica no es un valor constante para un fármaco terapéutico (TD) dado; más bien, depende de la dosificación máxima registrada de un TD de liberación inmediata destinado a efectos sistémicos. En estos experimentos, la relación de dosis/solubilidad se calculó usando la máxima dosificación de aciclovir en la forma de dosificación de comprimido registrada para su uso medicinal en la Federación de Rusia (800 mg).

Un valor biofarmacéutico más es la solubilidad en medios biorelevantes. Estos medios de disolución son tales que se acercan lo máximo posible a los fluidos corporales humanos (fluido intestinal y fluido gástrico) en términos de composición química y en términos de propiedades fisicoquímicas (pH, osmolalidad, capacidad de tampón y tensión superficial). La simulación de las condiciones fisiológicas se proporciona mediante la introducción de tensioactivos (lecitina y taurocolato de sodio) en estos medios. Existen dos tipos principales de medios biorelevantes, en concreto: un fluido intestinal artificial en el estómago vacío (fluido intestinal simulado en estado de ayuno (FaSSIF)) y después de la ingesta (fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF)). Las diferencias entre las solubilidades de un compuesto en estos medios se pueden tener en cuenta en la optimización de los regímenes de dosificación (a tomar con el estómago vacío o después de la ingesta). Cuando la dosificación máxima de un fármaco terapéutico se disuelve por completo en una parte de 250 ml de cada uno de estos medios, se puede someter a tratamiento este fármaco como si tuviera una solubilidad biorelevante "alta".

Un criterio que puede servir como una medida de la absorción del soluto a través de la pared del intestino delgado es la permeabilidad, es decir, la fracción de la sustancia que penetra a través de la pared intestinal. La propiedad

5 fisicoquímica de una molécula que hace la mayor contribución a la permeabilidad es la lipofilia. Una medida de la lipofilia a usar en la evaluación indirecta de la permeabilidad intestinal es el coeficiente de reparto de octanol-agua, $\log P$, que es el logaritmo de la relación de concentraciones de una sustancia no ionizada en el sistema de dos líquidos inmiscibles (n-octanol y agua). Un criterio indirecto de una permeabilidad intestinal "alta" (que excede el 90 %) es el siguiente: cuando el coeficiente de reparto $\log P$ excede el valor para una sustancia de referencia (metoprolol, para el que $\log P = 1,72$), se considera que la permeabilidad intestinal es alta. Los resultados de los experimentos se compilan en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores biofarmacéuticos de los compuestos WDS-1 y WDS-5, en comparación con el aciclovir

Solubilidad, mg/ml			
medio de disolución	aciclovir	WDS-1	WDS-5
pH 1,2	3,5	>32	>64
pH 4,4 - 4,5*	2,6	>32	>64
pH 6,8	2,4	>32	>64
FaSSIF	1,44	>32	>64
FeSSIF	1,38	>32	>64
Relación D/S, ml			
pH 1,2	< 229	< 25	< 12,5
pH 4,4 - 4,5*	308	< 25	< 12,5
pH 6,8	333	< 25	< 12,5
FaSSIF	555,5	< 25	< 12,5
FeSSIF	579,7	< 25	< 12,5
Solubilidad ("alta"/"baja")			
pH 1,2	"alta"	"alta"	"alta"
pH 4,4 - 4,5*	"baja"	"alta"	"alta"
pH 6,8	"baja"	"alta"	"alta"
FaSSIF	"baja"	"alta"	"alta"
FeSSIF	"baja"	"alta"	"alta"
Coeficiente de reparto de octanol-agua			
Log P	- 1,57	- 1,57	-1,66

* el pH es de 4,4 para los compuestos sometidos a ensayo y de 4,5 para el aciclovir.

10 Por tanto, las solubilidades biofarmacéuticas de los compuestos complejos de germanio preparados de acuerdo con la invención se pueden considerar "altas" en todo el intervalo de los valores de pH fisiológico, que corresponden a los valores de pH en el estómago, el duodeno o la sección inicial del intestino delgado. Cabe destacar que los valores de solubilidad para los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención difieren de la solubilidad del aciclovir no solo cuantitativamente, sino también cualitativamente. Por tanto, los valores de solubilidad para los compuestos complejos de germanio son al menos 10 veces la solubilidad del aciclovir y, además, las solubilidades de los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención son "altas" en todo el intervalo de pH estudiado, mientras que la solubilidad del aciclovir a un pH 4,4 - 4,5 y 6,8 es "baja".

15 20 Las solubilidades biorelevantes de los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención en ambos medios biorelevantes (FaSSIF y FeSSIF) son "altas" y, además, más de 10 dosificaciones máximas de la sustancia se disuelven por 250 ml. Dado que las solubilidades en ambos medios biorelevantes son altas, la ingesta no será un proceso limitante de la velocidad para la disolución de la sustancia en el entorno del tubo gastrointestinal y se deben tener en cuenta otros factores en la optimización de los regímenes de dosificación (por ejemplo, si se causa irritación de la pared gastrointestinal, si se destruye el compuesto cuando se ingiere, etc.).

25 30 Los coeficientes de reparto $\log P$ para los compuestos complejos de germanio estudiados de acuerdo con la invención son inferiores al metoprolol y sus valores son proporcionales al coeficiente de reparto $\log P$ para el aciclovir. Por tanto, las permeabilidades intestinales de estos compuestos se pueden caracterizar como "bajas". En vista de las altas solubilidades biofarmacéuticas de estos compuestos (que se analizaron anteriormente y demostraron en la Tabla 2), se espera que los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención tengan, al mismo tiempo, biodisponibilidades superiores a la biodisponibilidad del aciclovir. Sin embargo, no se puede descartar que la absorción a través de la pared intestinal sea la etapa de control de la velocidad para que los compuestos de acuerdo con la invención entren en el torrente sanguíneo.

35

En su conjunto, con lipofilicidades similares a la del aciclovir, los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención solubilidades biorelevantes y biofarmacéuticas mucho más altas y esto podría servir como prueba de sus biodisponibilidades superiores.

5 Actividad antivírica

(A) Estudios de la actividad antivírica *in vitro* de los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención.

La actividad antivírica de los nuevos compuestos de germanio de acuerdo con la invención, en particular, del WDS-1 y el WDS-5, se estudió *in vitro* en cultivos de células de riñón de mono verde (VERO) de acuerdo con técnicas convencionales (véanse Gus'kova, T.A., Nikolaeva, I.S. y Peters, V.V., "Methodological Guidance to Study Antiviral Activity of Pharmacological Agents" en "The Manual on the Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Agents", Moscú, Ministerio de Asistencia Sanitaria Pública de la Federación de Rusia, Remedium IPA, CJSC, 2000, págs. 274-280;

15 Cotarelo, M., Catalan, P., Sanchez-Carrillo, C., Menasalvas, A., Cercenado, E., y col., "Cytopathic effect inhibition assay for determining the *in vitro* susceptibility of herpes simplex virus to antiviral agents", J. Antimicrob. Chemother., 1999, Vol. 44, págs. 705-708; Kruppenbacher, J. P., Klass, R. y Eggers, H. J., "A rapid and reliable assay for testing acyclovir sensitivity of clinical herpes simplex virus isolates independent of virus dose and reading time", Antiviral Res., 1994, Vol. 23, págs. 11-22; y

20 Flint, S.J., Enquist, W., Racaniello, V.R. y Skalka, A.M., (2009). "Virological Methods" en Principles of Virology, ASM Press).

Las referencias usadas fueron el aciclovir y el valaciclovir, respectivamente.

25 El virus de ensayo usado para estudiar la actividad antivírica fue la cepa del virus del herpes simple tipo I (VHS), que es altamente resistente al aciclovir (cepa "L2/R").

Los criterios usados para evaluar la actividad antivírica fueron: la capacidad de prevenir el desarrollo de un efecto citopático inducido por el virus y la capacidad de inhibir la reproducción del virus en el cultivo celular. Las muestras de ensayo se introdujeron en el medio de nutriente 1 hora después de infectarse el cultivo con una determinada dosis del virus (el esquema terapéutico). La actividad antivírica de las muestras y los efectos citopáticos inducidos por el virus en el cultivo celular se controlaron cada día usando microscopía de luz como el grado de alteración morfológica de una monocapa celular. El criterio de valoración fue en el 4º día de contacto de las células con el material infeccioso, después de que apareciera un efecto citopático bien definido (100 %) en las muestras de control (control positivo). La presencia de actividad antivírica en las muestras de compuestos de organogermanio de acuerdo con la invención se determinó como la diferencia entre los títulos víricos medidos en el experimento y en el control. Los títulos víricos se determinaron de acuerdo con Reed y Muench (Reed, L.J. y Muench, H., "A simple method of estimating fifty percent endpoints", The American Journal of Hygiene 1938, 27: 493-497). Cuando la diferencia entre los títulos fue de $\leq 1,5$ log de TCD₅₀, causando la dosis de cultivo tisular citopático el 50 % de muerte celular en una monocapa (TCD₅₀ es la dosis de cultivo tisular que causa citopatología en el 50 % de las células cultivadas), se consideró que el compuesto tenía una actividad antivírica baja; cuando la diferencia fue en el intervalo de entre 1,5 y 2,0 log de TCD₅₀, se consideró que el compuesto tenía una actividad antivírica moderada; y cuando la diferencia fue de $\geq 2,0$ log de TCD₅₀, el compuesto tenía una actividad inhibidora del VHS bien definida.

45 En este experimento, una muestra de aciclovir en el intervalo de concentraciones de 500 a 100 mcg/ml redujo de manera significativa la actividad infecciosa del virus en un valor en el intervalo de 2,0 log a 1,0 log. Una muestra de valaciclovir en las concentraciones de 500 mcg/ml y 250 mcg/ml redujo de manera significativa la actividad infecciosa del virus de "L2/R" VHS-1 en 1,5 log. Una muestra del compuesto complejo de WDS-1 de acuerdo con la invención en el intervalo de concentraciones equivalentes a 400 a 160 mcg/ml de aciclovir redujo de manera significativa la actividad infecciosa del virus de "L2/R" VHS-1 en un valor en el intervalo de 3,25-1,5 log de TCD₅₀. Una muestra del compuesto complejo de WDS-5 de acuerdo con la invención en el intervalo de concentraciones equivalentes a 400 a 160 mcg/ml de aciclovir redujo de manera significativa la actividad infecciosa del virus de "L2/R" VHS-1 en un valor en el intervalo de 1,75-1,0 log de TCD₅₀.

55 (B) Estudios de la actividad antivírica *in vivo* de los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención.

(a) Actividad antivírica terapéutica de los compuestos de acuerdo con la invención.

60 El experimento *in vivo* destinado a evaluar la eficacia terapéutica del compuesto de WDS-1 de acuerdo con la invención, que se preparó usando aciclovir, se llevó a cabo en herpes oftálmicos herpéticos inducidos (queratitis) en conejos (Kaufman, H.E., Martola, E.L. y Dohlman, C.H., "The use of 5-iodo-2-deoxyuridine (IDU) in the treatment of herpes simplex keratitis", Arch. Ophthalmol. 1962; 68:235-239). Los animales se infectaron con un fluido de cultivo que contenía el VHS-1 en una dosis de 10 TCID₅₀ (TCID₅₀ es la dosis infecciosa al 50 % del cultivo tisular, que causa el 50 % de lesión celular de la monocapa), que se aplicó usando una pipeta a una córnea abrasada previamente

65 (seguido de frotamiento). El tratamiento de los conejos infectados con el VHS se inició 48 horas después de la infección. El agente se administró por vía oral a diario 6 veces al día en una concentración de 10 mg/ml durante 8 días.

El uso del compuesto de WDS-1 de acuerdo con la invención mostró un efecto terapéutico positivo bien definido y dio como resultado un alivio estadísticamente significativo de la gravedad del cuadro clínico del herpes oftálmico, una duración de la enfermedad reducida, y previno el desarrollo de complicaciones de la infección ocular herpética con meningoencefalitis, en comparación con los respectivos valores en el grupo de control.

La Figura 5 muestra la dinámica del herpes oftálmico en conejos. El índice terapéutico para el compuesto de WDS-1 fue del 42,9 %. En el grupo de conejos sometidos a tratamientos con WDS-1, la reducción en cuanto a la gravedad del proceso inflamatorio se observó tan pronto como en el 2º día de tratamiento, lo que dio como resultado una rápida disminución de las manifestaciones clínicas. La actividad del agente se manifestó por sí misma más rápidamente en el tratamiento de la queratitis epitelial. A los 13 días posteriores a la infección, se atenuaron las manifestaciones clínicas. La supervivencia de los animales en el grupo experimental fue del 100 % en el contexto de buena tolerabilidad frente al 66,7 % en el control.

Con el WDS-1, se observaron aislados víricos de los hisopos oculares en animales solo hasta 9 días después de la infección, que fue tres días antes que en el grupo de control (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto del compuesto de WDS-1 sobre la reproducción del VHS-1 en muestras de hisopos oculares obtenidas a partir de conejos con herpes oftálmico.

N.º/N.º	Grupo de animales	Tiempo posterior a la infección, días/ Títulos víricos en animales con aislados víricos, log de TCD ₅₀ /0,1 ml (M±m).				
		2	5	7	9	12
1.	Control (placebo)	2,75±0,25	4,0±0,25	2,75±0,1	1,0±0,1	0,5±0,1
2.	"WDS-1"	2,85±0,25	1,25±0,2	0,75±0,1	0,5±0,1	0

A partir de la Tabla 3, se puede observar que los valores de títulos víricos aislados de animales que recibieron el WDS-1 en el 5º día posterior a la infección son significativamente inferiores a los títulos víricos aislados de animales que recibieron placebo; los respectivos valores fueron 1,25 log de TCD₅₀/0,1 ml frente a 4,0 log de TCD₅₀/0,1 ml. Los altos títulos víricos en los animales de control indican la continuación de la reproducción vírica activa, en particular, en el epitelio de la córnea.

Los resultados sobre el efecto causado por el compuesto de ensayo sobre la frecuencia y el nivel de reproducción del VHS-1 en animales con aislados víricos indican que el compuesto de WDS-1 tiene un efecto antivírico específico.

(b) Estudios de la actividad inmunoestimuladora de los compuestos de acuerdo con la invención.

De manera simultánea a la determinación del efecto del compuesto de WDS-1 de acuerdo con la invención en el transcurso de la infección ocular herpética inducida en conejos, se estudió la producción de anticuerpos neutralizantes del virus (VAB en inglés) específicos en una reacción de neutralización *in vitro* en conejos. Antes del experimento, los anticuerpos neutralizantes del virus estaban ausentes en todos los animales. Catorce días después de la infección, la administración de la nueva sustancia en animales infectados dio como resultado un aumento significativo en la inducción de los anticuerpos neutralizantes del virus (VAB). Por tanto, los animales del grupo de control tuvieron un índice de neutralización (IN), que muestra la concentración de suero de anticuerpos neutralizantes del virus (VAB), de 2,0 log de TCD₅₀, mientras que en los animales infectados en el contexto de la administración de WDS-1, el índice de neutralización fue de 3,5 log de TCD₅₀. Se observó una tendencia similar en los 21 días de observación.

Por tanto, los estudios demuestran que los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención tienen un mecanismo de combinación de actividad antivírica. Estos no solo tienen un efecto inhibitor sobre los virus del herpes, incluyendo las cepas resistentes al aciclovir (en particular, "L2/R" VHS-1), sino que también estimulan de manera simultánea la formación y el mantenimiento, durante largos periodos de tiempo, de una inmunidad humoral específica.

Los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención se pueden usar para el tratamiento y la prevención de diversas infecciones, en particular, aquellas causadas por los virus del herpes. Además, los compuestos complejos de germanio de acuerdo con la invención se pueden usar como agentes inmunoestimuladores. Gracias al mecanismo de actividad de combinación de los compuestos de acuerdo con la invención, los fármacos terapéuticos que los comprenden serían eficaces en el tratamiento y la profilaxis de pacientes inmunodeficientes, por ejemplo, pacientes con SIDA, así como pacientes con cáncer y aquellos con trasplantes de órganos.

Los compuestos recién preparados no son tóxicos y tienen buenos valores biofarmacéuticos y, de este modo, se puede fabricar un amplio espectro de fármacos terapéuticos que comprenden, como componente activo, los compuestos complejos de germanio de acuerdo con las reivindicaciones, de acuerdo con la invención, en dosis eficaces. Los fármacos terapéuticos de acuerdo con la invención se pueden incluir en diversas formas de dosificación: formas de dosificación sólidas (cápsulas, comprimidos), formas de dosificación líquidas (soluciones para infusión y para ingestión, gotas para los ojos), formas de dosificación blandas (ungüentos, geles, supositorios), etc. y estos pueden contener, como componentes adyuvantes, vehículos y otros ingredientes usados habitualmente que sean farmacéuticamente aceptables.

REIVINDICACIONES

1. Compuestos complejos de germanio que tienen la Fórmula (I) estructural general:



en la que AD es un derivado de base nitrogenada de purina que tiene una actividad antivírica;

CA es un ácido hidroxicarboxílico;

AA es un aminoácido seleccionado de α -amino ácidos,

10 en la que $x = 1-2$, $y = 2-4$ y $z = 0-2$ y en la que

todos los AD en el compuesto complejo son los mismos o diferentes,

todos los CA en el compuesto complejo son los mismos o diferentes y

todos los AA en el compuesto complejo son los mismos o diferentes.

15 2. Los compuestos complejos de acuerdo con la reivindicación 1, en los que el AD es un derivado de guanina o adenina.

3. Los compuestos complejos de acuerdo con la reivindicación 2, en los que el derivado de guanina se selecciona del grupo que consiste en aciclovir (9-[(2-hidroxietoxi)metil]guanina), valaciclovir (2-(guanin-9-ilmetoxi)etil L-valina éter),
20 ganciclovir 9-[(1,3-dihidroxi-2-propoxi)metil]guanina), penciclovir (9-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)butil]guanina) o mezclas de los mismos.

4. Los compuestos complejos de acuerdo con la reivindicación 2, en los que el derivado de adenina se selecciona para que sea vidarabina (9- β -D- arabinofuranosil adenina).

25 5. Los compuestos complejos de acuerdo con la reivindicación 1, en los que el aminoácido AA se selecciona del grupo que consiste en arginina, glicina, lisina, treonina o mezclas de las mismas.

30 6. Los compuestos complejos de acuerdo con la reivindicación 1, en los que el ácido hidroxicarboxílico CA se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico o mezclas de los mismos.

7. Un método para la preparación de compuestos complejos de germanio de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende las etapas de:

35 (a) mezclar el dióxido de germanio con agua para proporcionar una solución acuosa o una suspensión acuosa;
(b) añadir a dicha solución acuosa o dicha suspensión acuosa:

40 (i) al menos un compuesto que es un derivado de base nitrogenada de purina que tiene una actividad antivírica, al menos un ácido hidroxicarboxílico y al menos un aminoácido;

o

(ii) al menos un compuesto que es un derivado de base nitrogenada de purina que tiene una actividad antivírica y al menos un ácido hidroxicarboxílico,

en el que dichos componentes se añaden en cualquier orden;

45 (c) calentar la mezcla así obtenida con agitación a una temperatura de 40-100 °C durante 3-14 horas;

(d) filtrar la solución resultante; y

(e) retirar el agua de la solución para obtener un compuesto complejo.

50 8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el calentamiento se lleva a cabo a una temperatura de 80-100 °C durante 5-12 horas, preferentemente a una temperatura de 85-100 °C durante 6-8 horas.

9. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el calentamiento se lleva a cabo con agitación hasta que se forma una solución transparente.

55 10. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el derivado de base nitrogenada de purina que tiene una actividad antivírica es un derivado de guanina y/o adenina y en el que el derivado de guanina es preferentemente un compuesto seleccionado del grupo que consiste en aciclovir (9-[(2-hidroxietoxi)metil]guanina), valaciclovir (2-(guanin-9-ilmetoxi)etil L-valina éter), ganciclovir (9-[(1,3-dihidroxi-2-propoxi)metil]guanina), penciclovir (9-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)butil]guanina) o mezclas de los mismos y el derivado de adenina es preferentemente vidarabina (9- β -D-arabinofuranosil adenina).
60

11. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el aminoácido es arginina, glicina, lisina, treonina o mezclas de las mismas y/o el ácido hidroxicarboxílico es ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico o mezclas de los mismos.

65 12. Un compuesto complejo de germanio, tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso como agente inmunoestimulador.

13. Un compuesto complejo de germanio, tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad vírica.
- 5 14. Un compuesto complejo de germanio, tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que la enfermedad vírica está causada por el virus del herpes, preferentemente el virus del herpes tipo 1 o tipo 2.

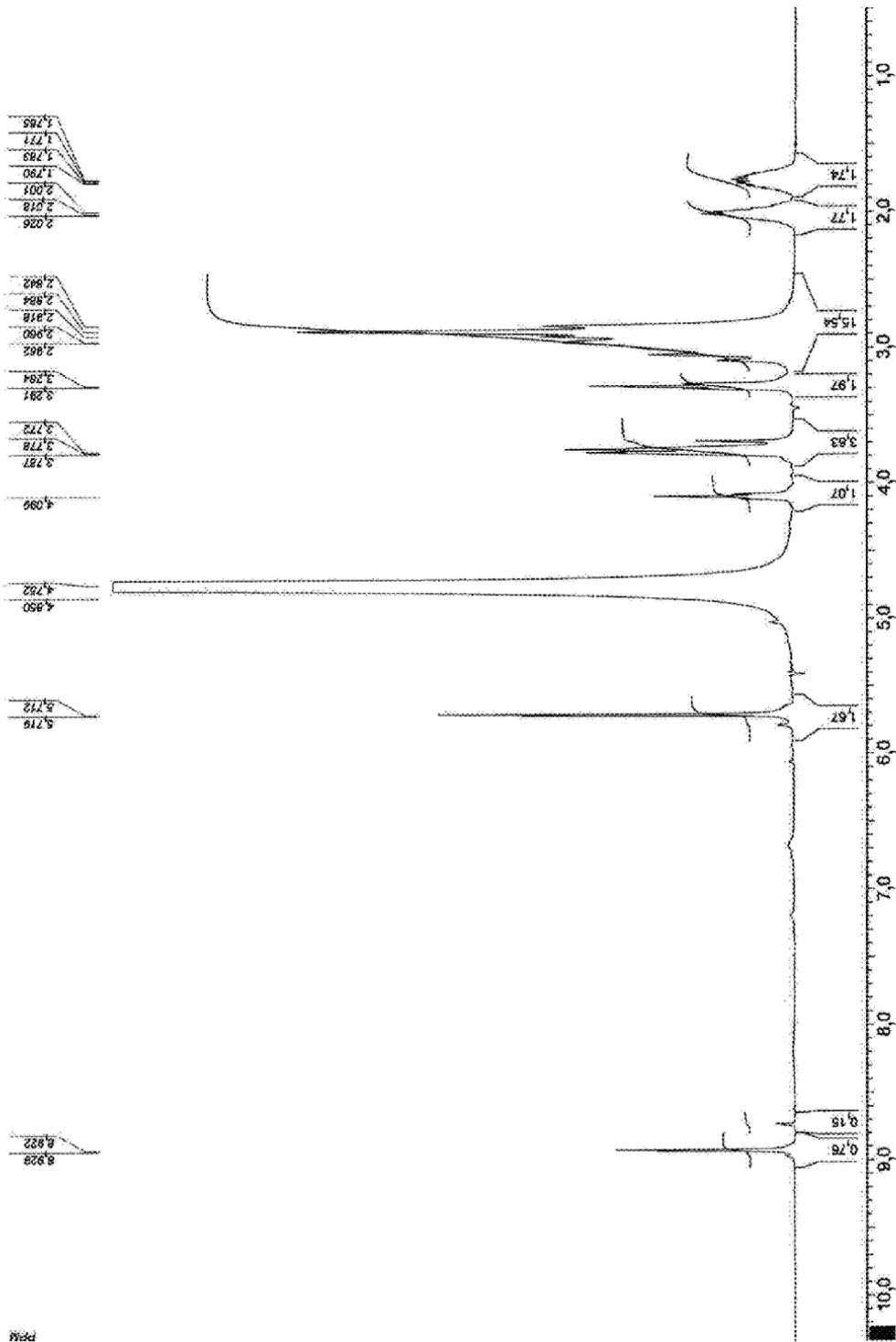


Fig. 1

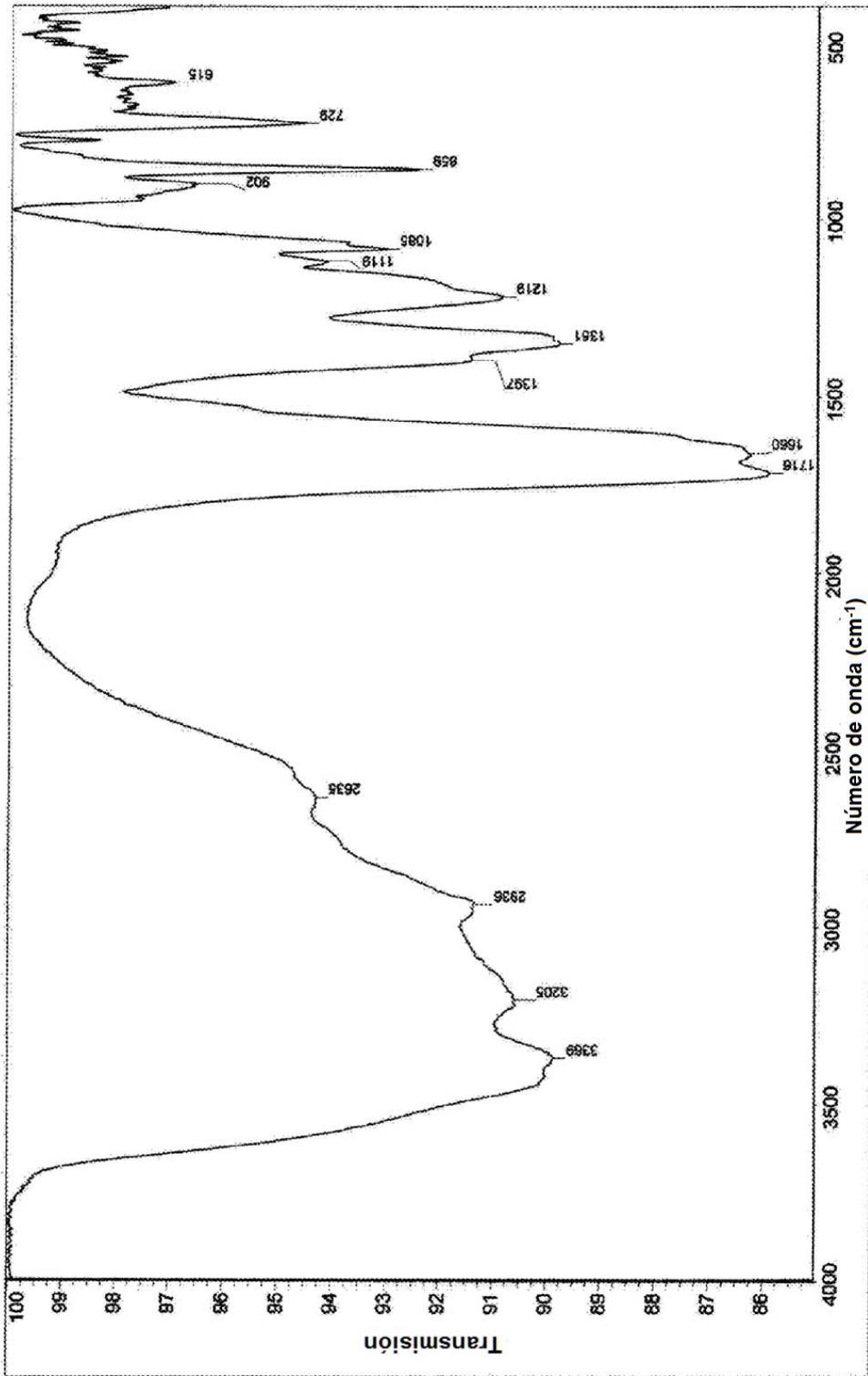


Fig. 2

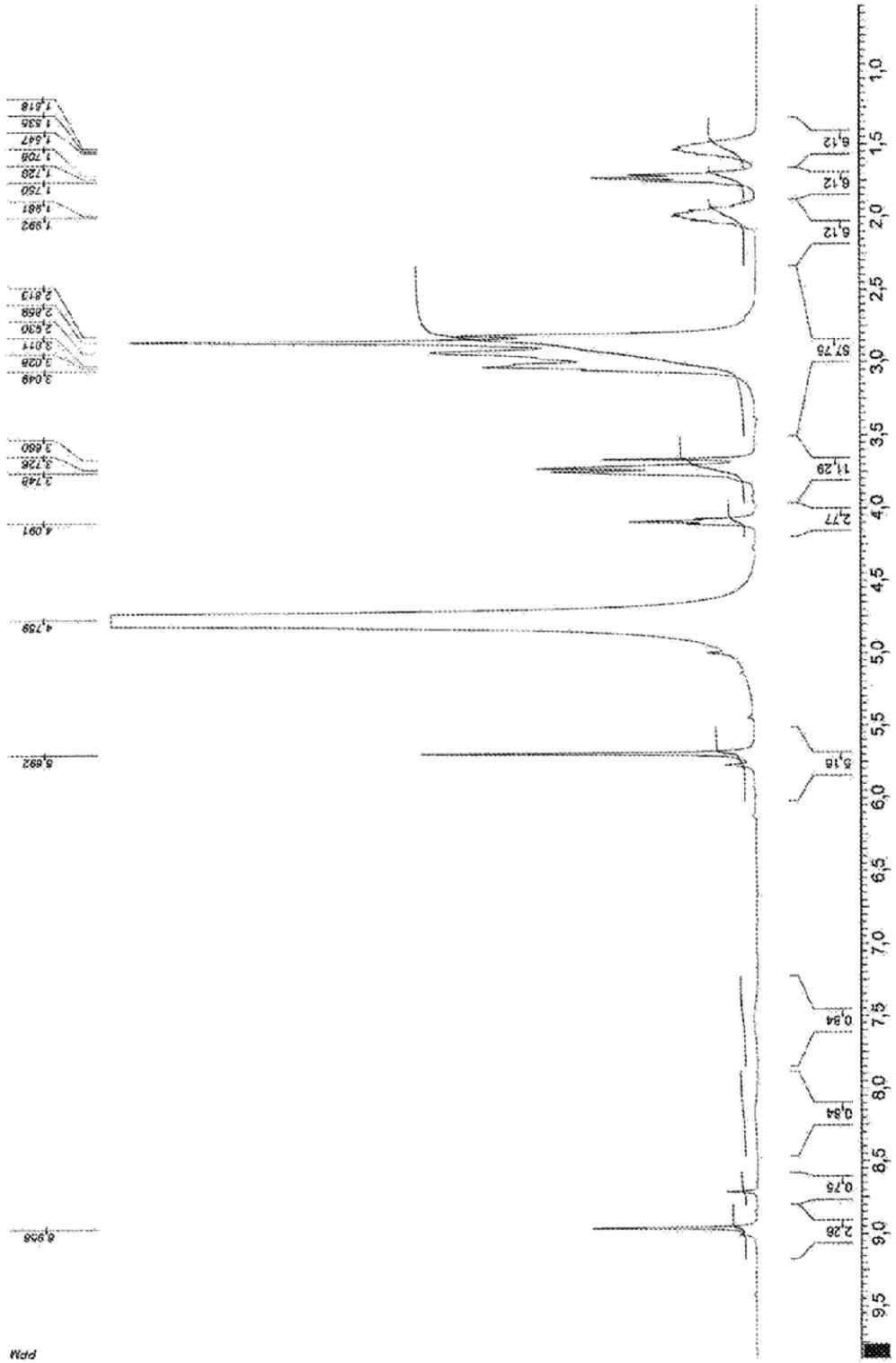


Fig. 3

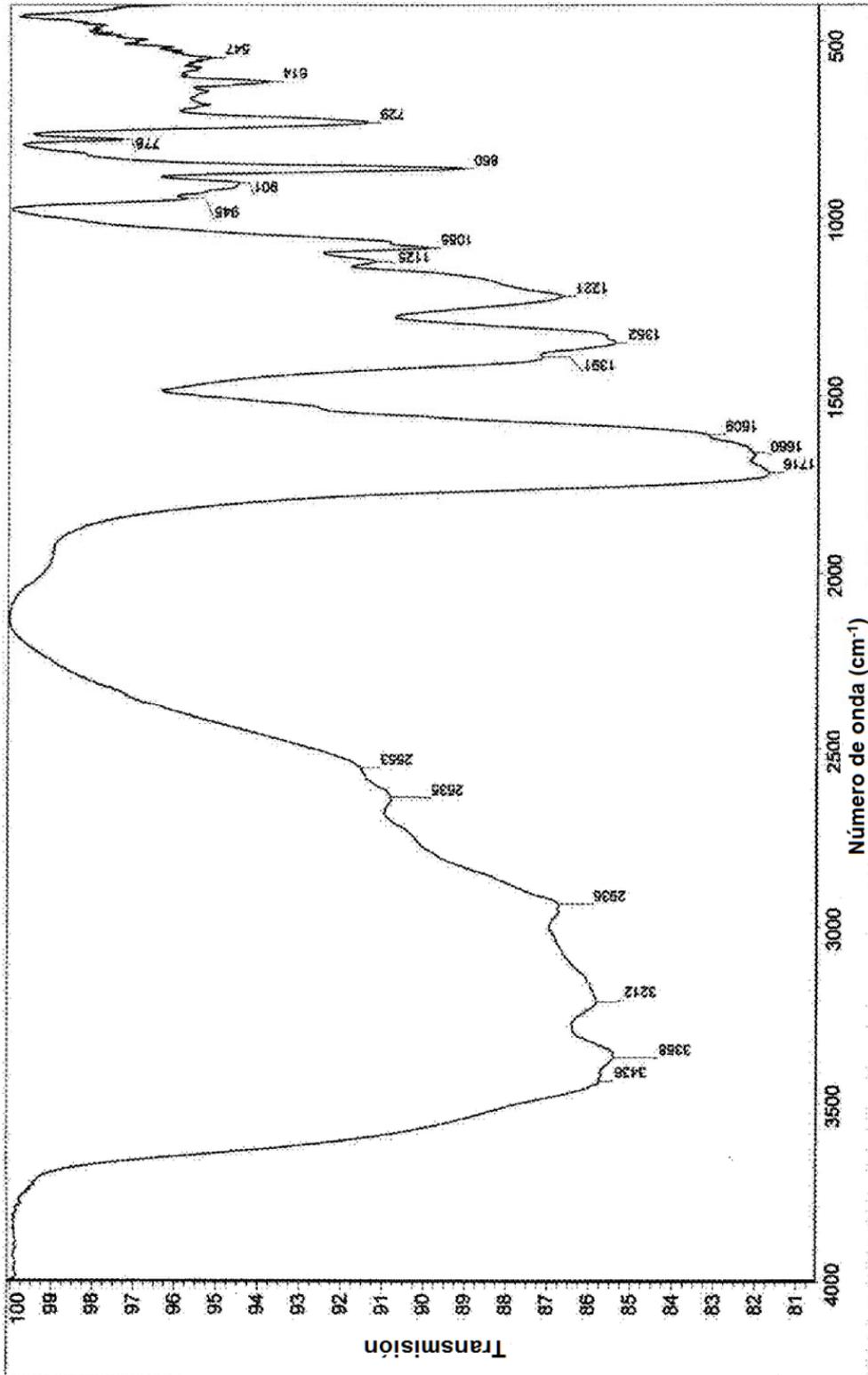


Fig. 4

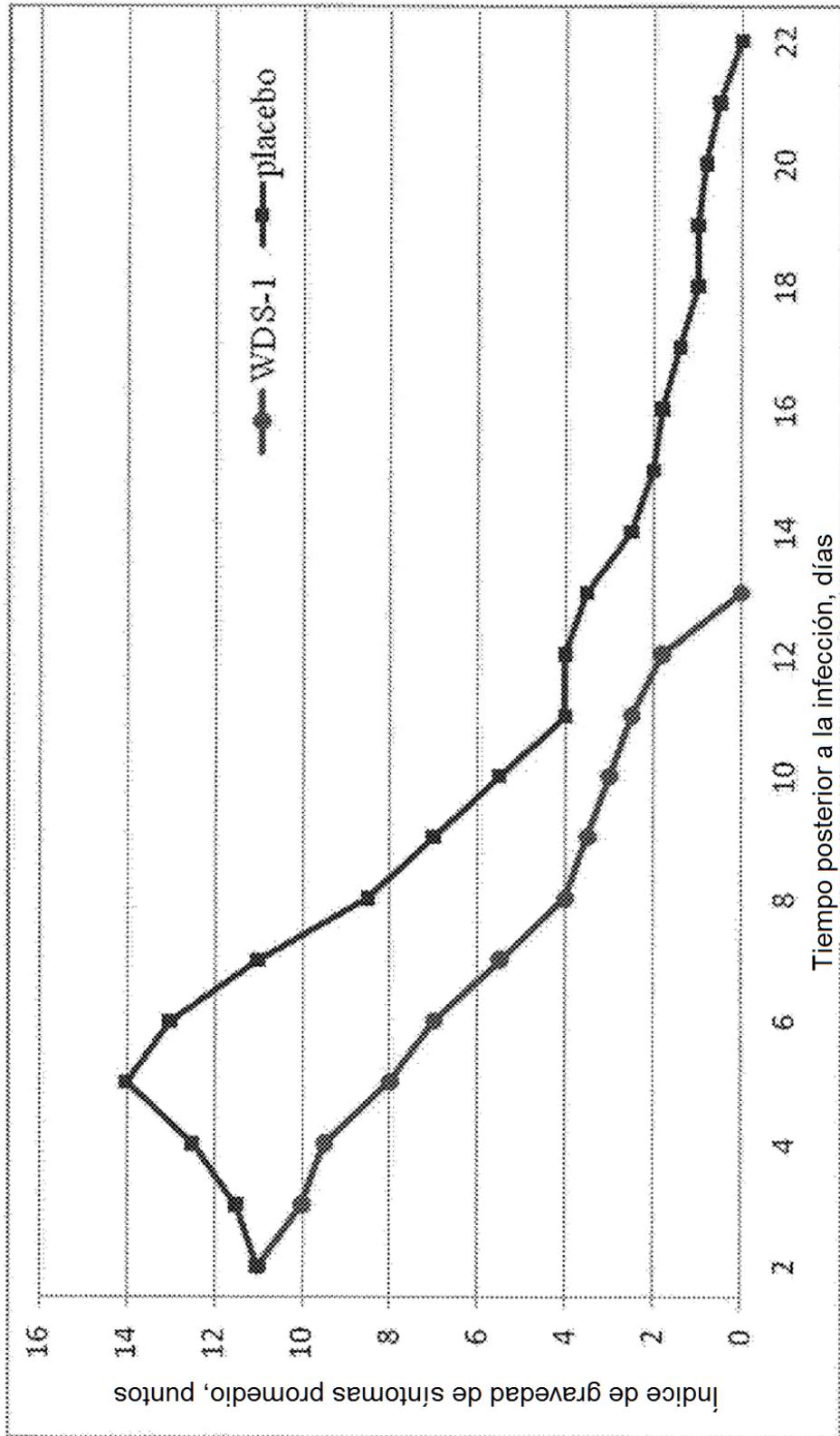


Fig. 5