(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 774 663**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/03 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07D 239/22 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.10.2011 PCT/RU2011/000793**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2012 WO12064222**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2011 E 11839763 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 2638901**

(54) Título: **Agente para inducir interferón endógeno**

(30) Prioridad:

08.11.2010 RU 2010145438

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.07.2020

(73) Titular/es:

TETS, VIKTOR VENIAMINOVICH (50.0%)
ul. Lensoveta, 27-95
St. Petersburg, 196066, RU y
TETS, GEORGY VIKTOROVICH (50.0%)

(72) Inventor/es:

TETS, VIKTOR VENIAMINOVICH;
TETS, GEORGY VIKTOROVICH y
KRUTIKOV, VIKTOR IOSIFOVICH

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 774 663 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

Agente para inducir interferón endógeno

Campo técnico

La invención se refiere a un medicamento y puede usarse para tratar una gama de enfermedades en el tratamiento de las cuales se usa interferón.

Antecedentes de la técnica

Las enfermedades que se tratan usando interferón o inductores de su síntesis endógena incluye la mayoría de las infecciones por virus, incluyendo infección herpética, hepatitis virales A, B, C y determinados tumores: papiloma de laringe, metrofibroma, mastadenoma, adenoma hipofisario, etc., véase el documento RU 2105566 C1.

Se conoce que determinados medicamentos inducen la síntesis de interferón endógeno propio (una sustancia que fomenta la creación de una barrera protectora que impide la infección del organismo por virus y bacterias, y también regula el estado del sistema inmunitario e inhibe el crecimiento de células malignas. Los fármacos que inducen interferón mejor conocidos y extendidos son Neovir, Cycloferon que tiene la misma estructura, y tilorona

Neovir (oxodihidroacridinilacetato de sodio), que se tomó como prototipo de la presente invención, se usa ampliamente para tratar infecciones virales y bacterianas, especialmente las provocadas por parásitos intracelulares. Neovir también se usa en el tratamiento de determinadas enfermedades oncológicas. Neovir tiene una determinada actividad cuando se administra por medio de inyección. Cuando se administra por vía oral, esta preparación tiene baja eficacia.

Después de la ingestión de Neovir, la producción máxima de interferón se identifica en la secuencia de intestinos-hígado-sangre después de 4-24 h. Neovir induce la producción de interferón en leucocitos humanos, y el nivel de interferón en cantidades de sangre hasta 250 U/ml.

Cuando se receta Neovir, así como otros inductores de interferón conocidos, existe un riesgo de reacciones no deseadas con otros fármacos, por ejemplo, con rifamcipina cuando se trata tuberculosis, y con fármacos antirretrovirales cuando se trata infección por VIH, así como con anticonceptivos orales. Debido a la falta de datos detallados sobre la interacción de Neovir con los fármacos mencionados anteriormente y otros determinados, su administración simultánea puede ser peligrosa. (Renton KW, Mannering GJ (1976). “Depression of hepatic cytochrome P-450-dependent monooxygenase systems administered interferon inducing agents” Biochem Biophys Res Commun 73 (2): 343-348.).

En el documento WO 00/29389 A1 se da a conocer el compuesto 6-(3-carboximetilfenil)-aminouracilo como un inductor de interferón.

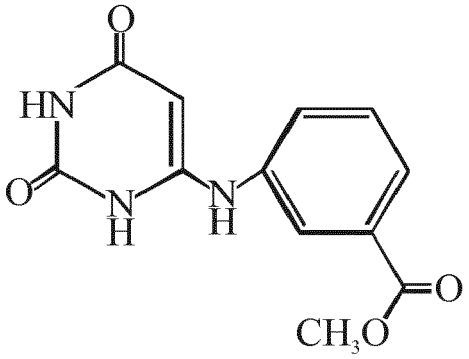
En el documento WO 2006/089221 A2 se da a conocer el compuesto 4-[(2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-il)amino]benzoato de metilo como inhibidor de agregación de superóxido dismutasa-1.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere al objeto tal como se define en las reivindicaciones.

Un objeto de la presente invención es proporcionar una preparación que presenta mayor actividad tanto cuando se inyecta como cuando se administra por vía oral.

Según la invención, el agente para inducir interferón endógeno se compone del compuesto 6-(3-metoxicarbonilfenil)-amino-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona, $C_{12}H_{11}N_3O_4$, de general fórmula:



Breve descripción de los dibujos

Además, la invención se explica, a modo de ejemplo, con referencia al dibujo que muestra el diagrama de concentración de la sustancia en plasma sanguíneo de conejos durante la administración vaginal en forma de "óvulos vaginales de 0,1 g".

Realización preferida

La sustancia de la invención se produce de la siguiente manera. Se añaden 7 g de 6-aminouracilo a 10 g de clorhidrato de metil éter de ácido *m*-aminobenzoico y 8,4 g de metil éter de ácido *m*-aminobenzoico, y luego se muele minuciosamente la mezcla en un mortero. Cuando se calienta hasta 160ºC, se funde la mezcla y se vuelve escasamente fluida, pero justo después de 0,5 h se vuelve sólida, y se interrumpe el calentamiento después de 1,5 h. Se transfiere la mezcla a agua, se agita y se filtra, y se lava con agua. Luego se lleva a ebullición el producto en 100 ml de alcohol etílico durante 2 h. Después se enfría la mezcla hasta temperatura ambiente, se filtra el producto, se lava con alcohol etílico y se seca. Se obtienen 10 g del producto objetivo.

Este producto es la mezcla de la sustancia de la invención (monómero) con su dímero. La temperatura de fusión de la mezcla es de por encima de 300ºC.

La separación del monómero y el dímero se realizó de la siguiente manera: el producto objetivo mencionado anteriormente se disolvió en una mezcla 2-propanol-dimetilformamida con calentamiento, y luego se enfrió. Durante el enfriamiento el dímero precipitó, y el monómero permaneció en la disolución. Para extraer el monómero, se separó la disolución hasta sequedad, y se lavó el precipitado cristalino con etanol y se secó a vacío. La masa del monómero obtenido era el doble de la masa del dímero; es posible usar tanto el monómero como el dímero; es decir, el dímero penetra las membranas celulares más fácilmente.

El espectro de infrarrojos de la preparación medida para píldoras con bromuro de potasio (2 mg por 300 mg de bromuro de potasio), en la región desde 4000 cm^{-1} hasta 400 cm^{-1} debe tener una correspondencia completa de las bandas de absorción con las bandas de absorción del espectro adjunto en cuanto al posicionamiento y la intensidad relativa de las bandas.

El espectro ultravioleta de una disolución al 0,025% de la preparación en una disolución 0,1 H de sosa cáustica en la región desde 200 hasta 370 nm tiene el hombro a 252 nm, el mínimo de absorción a 265 nm y el máximo de absorción no simétrico a 288 nm $\pm$ 1 nm.

El espectro de resonancia magnética protónica contiene las siguientes señales características, ppm: 10,4 y 10,2 (NH endocicl.), 8,36 (exocicl. NH), 7,4-7,8 (4H, Ar.), 4,72 (1 H, CH), 3,86 (3 H, OCH_3).

Los espectros especificados son idénticos de manera virtual para el compuesto de la invención y su dímero.

Cuando se fabrican preparaciones farmacológicas partiendo de la sustancia de la invención, pueden usarse diversas cargas, adyuvantes y transportadores farmacológicamente aceptables: metilcelulosa, oxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, almidón de maíz, talco, caolín, bentonitas, Aerosil, azúcar de remolacha, lactosa, cloruro de sodio, hidrocarbonato de sodio, óxido de aluminio, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezcla de glicéridos de ácidos grasos vegetales saturados, sales de zinc, dióxido de silicio coloidal, trisilicato de magnesio, cera, polietilenglicol, lanolina, etc.

La sustancia de la invención puede usarse por vía oral, por vía parenteral, a través del recto, por vía nasal, por vía lingual, por vía vaginal o por medio de implantes; la administración parenteral en este caso incluye administración por vía subdérmica, por vía intradérmica, por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía intraarticular, por vía intrasinovial, por vía intraesternal, en el líquido cefalorraquídeo, por vía intracraneal.

La aplicación tópica de preparaciones farmacológicas creadas partiendo de la invención se recomienda especialmente si el tratamiento es necesario para áreas del organismo que permiten la aplicación local de las preparaciones.

En preparaciones farmacológicas destinadas a la aplicación cutánea tópica, el principio activo debe combinarse con base de pomada adecuada que puede contener el principio activo en forma disuelta o como una suspensión. Dicha base de pomada puede incluir aceites minerales, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, una mezcla de polioxietileno y polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Las preparaciones farmacológicas destinadas al uso externo también pueden basarse en una loción o crema, que contiene la sustancia de la invención en forma de una disolución o suspensión. En este caso, pueden incorporarse cargas como un aceite mineral, monoestearato de sorbitano, polisorbato 60, cetil éteres, cera, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico, agua y otros componentes adecuados. Las preparaciones farmacológicas basadas en la sustancia de la invención también pueden usarse para los segmentos del recto en forma de supositorios rectales o cualquier otra forma adecuada de medicamento.

La sustancia de la invención también puede usarse para fabricar tales productos médicos para uso externo como esparadrapos, pulverizadores nasales o inhaladores. La fase líquida para disolver la sustancia de la invención puede

incorporarse como una disolución isotónica de cloruro de sodio (disolución fisiológica); un estabilizador puede incorporarse como alcohol bencílico o cualquier otra sustancia adecuada; un activador de la absorción puede incorporarse como fluorocarburos para aumentar la biodisponibilidad; pueden mejorarse la disolución y dispersión usando cualquier sustancia auxiliar conocida usada en la fabricación de tales productos farmacológicos.

La preparación médica fabricada partiendo de la sustancia de la invención puede usarse en las siguientes dosificaciones: aproximadamente desde 0,01 hasta 25 mg del principio activo por 1 kg del peso del paciente por 24 horas. Para prevenir y tratar infecciones virales y bacterianas, así como determinadas formas de cáncer, una dosificación diaria preferida es aproximadamente de desde 0,5 hasta 25 mg del principio activo por 1 kg de peso. Las preparaciones farmacológicas que parten de la invención pueden administrarse desde 1 hasta 5 veces por día o en forma de una infusión duradera.

Determinación del nivel de interferón inducido (IFN) después de la administración de la sustancia de la invención.

La evaluación cuantitativa del contenido de IFN en las muestras de referencia y experimentales se realizó según dos métodos:

1) Usando un sistema de prueba inmunoenzimométrico de IFN ProCon IF2 plus fabricado por la empresa “Proteinovyi kontur”, con conversión de los resultados obtenidos de contenido en peso del IFN en unidades internacionales (UI) de actividad de IFN.

2) Usando una técnica original de pruebas biológicas para el contenido de IFN, que consiste en lo siguiente: el IFN ralentiza el desarrollo del efecto citopático de virus, que se manifiesta en la destrucción de la monocapa de una línea de cultivo celular especialmente seleccionada. La determinación cuantitativa del contenido de IFN en la muestra se realiza por medio de análisis cuantitativo de la intensidad de destrucción de la monocapa celular después de la incubación previa con muestras que contienen IFN e incubación con el virus indicador.

Breve descripción de la técnica: se incuba una monocapa de cultivo de células de carcinoma de pulmón humano L-41 con muestras que contienen IFN valoradas en microplacas durante 24 horas en un termostato de CO_2 a 37ºC, después de lo cual se introduce una disolución del virus indicador en microplacas (un virus de estomatitis vesiculosa, cepa de Indiana, VEV), y luego se realiza la incubación durante 18 horas en un termostato de CO_2 a 37ºC. Luego se tiñen las microplacas por medio de violeta cristal para visualizar los resultados. Los excedentes de la tinción se lavan con agua destilada, se secan las microplacas, luego se extrae la tinción que está en contacto con las células vivas por medio de etanol al 30%, y se someten a fotometría las microplacas en un fotómetro automático como el dispositivo “Multiscan” para microplacas de 96 pocillos en el modo de barrido de pocillos múltiples a una longitud de onda de 590 nm. La cantidad obtenida de tinción puesta en contacto es directamente proporcional al contenido de IFN en la muestra sometida a prueba. El contenido cuantitativo de IFN en las muestras se determina después de la interpolación de los resultados dentro de los límites de dependencia del contenido de IFN en las muestras y la intensidad de destrucción de la monocapa celular. Esta dependencia se determina después de realizar la valoración en condiciones similares para una preparación de referencia convencional de IFN humano natural. Se usó una preparación de IFN humano natural estandarizado contra la actividad como preparación de referencia en cada experimento. Los resultados de los análisis se expresan UI de actividad de IFN por ml en este sistema de inducción que contiene 3·106 linfocitos/ml. Se examinaron los puntos experimentales y de referencia en 4 paralelos.

La actividad inductora de interferón de las preparaciones *in vivo* durante la administración intragástrica a ratones se muestra en la tabla 1.

Los datos de la tabla 1 muestran que la sustancia de la invención induce un aumento del nivel de interferón endógeno con una dinámica que difiere de aquella de la preparación usada para la comparación. El nivel de interferón endógeno después de la administración de las sustancias de la invención excede el del prototipo.

La actividad inductora de interferón de las preparaciones *in vivo* durante la administración oral a ratones se muestra en la tabla 2.

Los datos de la tabla 2 muestran que la sustancia de la invención, cuando se administra por vía oral, provoca la producción de interferón endógeno y es mucho más eficaz que el prototipo.

Concentración en plasma sanguíneo de los animales de experimentación durante la administración vaginal de la sustancia de la invención.

Los resultados de la medición de la concentración de la sustancia en plasma sanguíneo de conejos durante la administración vaginal en forma de “óvulos vaginales de 0,1 g” se muestra en el diagrama proporcionado en forma de las curvas farmacocinéticas promediadas (véase la figura 1). Después de insertar el óvulo, la sustancia comenzó a entrar en la circulación sanguínea general después de aproximadamente 15 minutos; después de 1 hora la concentración de la sustancia en la sangre alcanzó su máximo (aproximadamente 120 μg/ml); luego se excretó de manera gradual del organismo, y 24 horas después de su administración la presencia detectada de la sustancia en plasma sanguíneo fue mínima (aproximadamente 20 μg/ml). La dispersión de los valores individuales fue moderada: el coeficiente de variación CV ascendió al 13-22%.

Los resultados de los estudios realizados mostraron que la sustancia de la invención, cuando se administra por vía vaginal en forma de óvulos, entra en la sangre de los animales de experimentación.

Por tanto, se ha determinado que la sustancia de la invención tiene actividad inductora de interferón en diversos métodos de administración, y la actividad de la sustancia de la invención excede la del prototipo (Neovir) tanto durante la administración parenteral como oral. También se ha notificado una reducción significativa de los efectos adversos y las reacciones no deseadas con otros fármacos.

Aplicabilidad industrial

La invención puede implementarse por medio de materiales y equipos conocidos. En opinión del solicitante, esto permite concluir que la invención se ajusta al criterio de "Aplicabilidad industrial" (IA, por sus siglas en inglés).

Actividad inductora de interferón de las preparaciones *in vivo* durante la administración intragástrica a ratones (en UI)

Tabla 1

Preparación	Tiempo				
	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas	24 horas
Placebo	7-10*	20-25	7-10	7-10	7-10
Neovir	7-10	100-110	7-10	7-10	7-10
La sustancia de la invención, monómero	30	10	160	25-30	30
La misma, dímero	40	50	210	30-35	15-40

Las preparaciones se administraron en la cantidad de 1000 μg/ratón

*Valor previo de actividad de interferón - 7-10 unidades.

Actividad inductora de interferón de las preparaciones *in vivo* durante la administración oral a ratones (en UI)

Tabla 2

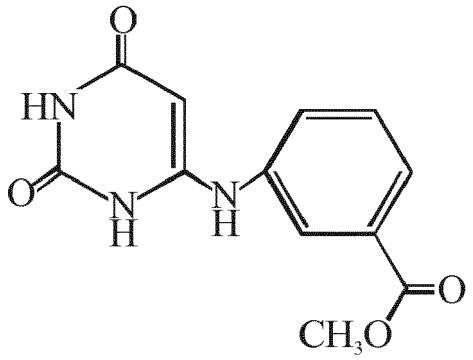
Preparación	Tiempo				
	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas	24 horas
Placebo	-	20-25	-	-	-
Neovir	7-10	40-60	10-12	7-10	7-10
La sustancia de la invención, monómero	18	120	20	40	100
La misma, dímero	12-25	150	30	30-50	120

Las preparaciones se administraron en la cantidad de 5,0 mg/ratón

* Valor previo de actividad de interferón - 7-10 unidades.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto 6-(3-metoxicarbonilfenil)-amino-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona con la fórmula suma del compuesto: $C_{12}H_{11}N_3O_4$ y con la fórmula estructural general del compuesto:



2. Compuesto según la reivindicación 1, para su uso como medicamento.

3. Compuesto según la reivindicación 2, para su uso en el tratamiento de infecciones virales y bacterianas.

4. Compuesto para su uso según la reivindicación 2 ó 3, en el que el compuesto se usa en una dosificación de desde 0,01 hasta 25 mg por 1 kg del peso del paciente por 24 horas.

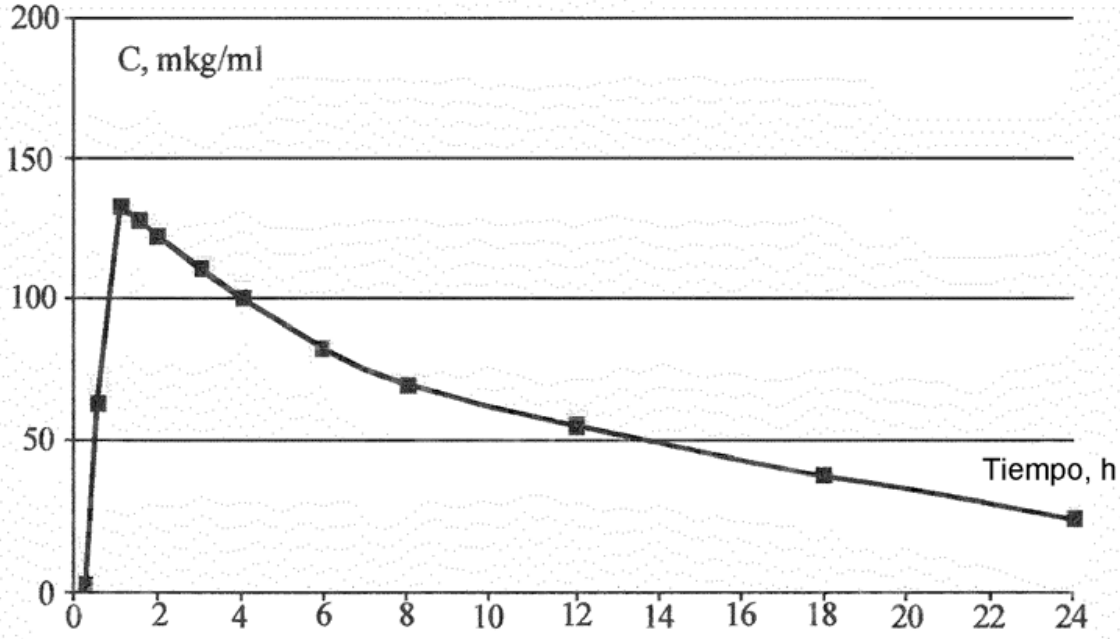


Fig. 1