

HUMIC ACID

**PROCESS FOR PREPARING SYNTHETIC SOIL-
EXTRACT MATERIALS AND MEDICAMENTS
BASED THEREON**

Mexico



***Laub BioChemicals Corporation
1401 Quail St., Suite 121
Newport Beach, CA 92660***

November 2005



TÍTULO DE PATENTE NO. 232512

Titular(es): LAUB BIOCHEMICALS CORPORATION
Domicilio(s): Suite 121, 1401 Quail Street, Newport Beach, California, 92660, E.U.A.
Denominación: PROCESO PARA PREPARAR MATERIALES SINTÉTICOS DE EXTRACTO DE SUELO Y MEDICAMENTOS A BASE DE LOS MISMOS.
Clasificación: Int.Cl.6: A61K31/35; A61K35/78; A61K39/385; A61K35/78
Inventor(es): RICHARD J. LAUB

IMPI	Número: PA/a/1999/007281	SOLICITUD	Fecha de presentación internacional: 06 de Febrero de 1998
	País: US	PRIORIDAD	Fecha: 10 de febrero de 1997
			Número: 08/798,329

ESTA PATENTE CONCEDE A SU TITULAR EL DERECHO EXCLUSIVO DE EXPLOTACIÓN DEL INVENTO RECLAMADO EN EL CAPÍTULO REIVINDICATORIO Y TIENE UNA VIGENCIA IMPRORRÓGABLE DE VEINTE AÑOS CONTADOS A PARTIR DE LA FECHA DE PRESENTACIÓN INTERNACIONAL DE LA SOLICITUD.

Fecha de expedición: 30 de noviembre de 2005

EL DIRECTOR DIVISIONAL DE PATENTES

QUÍM. FABIAN R. SALAZAR GARCÍA



PA/2006/69663

232512₁



PROCESO PARA PREPARAR MATERIALES SINTÉTICOS DE EXTRACTO DE SUELO Y MEDICAMENTOS A BASE DE LOS MISMOS

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

5

Campo de la Invención

Esta invención se refiere a sustancias sintéticas de extracto de suelo comprendidas de polímeros fenólicos, a los procedimientos para la preparación de los mismos, a los procesos para la purificación y el aislamiento como soluciones acuosas o polvos deshidratados de los materiales sintéticos, a las composiciones y métodos para emplear estos polímeros fenólicos sintéticos para reducir o eliminar la actividad viral en productos sanguíneos, composiciones antivirales para tratar o prevenir enfermedades virales de humanos o animales y composiciones antimicrobianas para tratar o prevenir enfermedades microbianas de humanos o animales.

Antecedentes de la Invención

Los materiales de extracto de suelo, particularmente las clases de sustancias conocidas colectivamente como "humus", "húmicos", "ácido(s) húmico(s)" o "humatos", por años se han usado ampliamente en diversas aplicaciones, según lo revisado por F. J. Stevenson, *Humus Chemistry. Genesis Composition Reactions*; Nueva York: Wiley, 1964; y, más recientemente, por



A. Piccolo, *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*; Nueva York: Elsevier, 1996.

Los extractos de suelo naturales y sintéticos ya se han usado ampliamente en la industria hortícola y relacionadas, particularmente como agentes de refuerzo del suelo, así como agentes de reparación del suelo. Además, se han empleado extractos de suelo naturales y sintéticos como aditivos en jardinería orgánica y diseño de jardines; y en acuarios de agua dulce. También se han declarado algunos beneficios medicinales para sustancias de extracto de suelo tanto sintéticas, como naturales.

R. H. Faust, en un documento presentado en la Conferencia de la Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Orgánica; Copenhague, Dinamarca: Octubre de 1996; P2, 20, ha documentado los beneficios de los humatos en la agricultura. En general, se ha encontrado que los materiales húmicos pueden estimular el crecimiento de las plantas, incluyendo la producción de la cosecha, alrededor de 10-30%.

Los extractos de suelo y el ácido húmico en particular, quelan una variedad de metales. Como resultado de ello, se han empleado materiales húmicos en la reparación del suelo para eliminar la contaminación de metales pesados, según lo reportado por M. A. Rashid, *Soil Sci.* 1971, 111, 298-306. El ácido húmico también se ha usado para mejorar la eliminación de hidrocarburos aromáticos de acuíferos contaminados con



productos de petróleo: H. Xu, S. Lesage, L. Durham y K. Novakowski, en *Proceedings of the Fourth Annual Symposium on Groundwater and Soil Remediation*; Calgary, Alberta: 21-23 de septiembre de **1994**; 635-646; S. Lesage, H. Xu, K. S. Novakowski, S. Brown y L. Durham, en *Proceedings of the Fifth Annual Symposium on Groundwater and Soil Remediation*; Toronto, Ontario: 2-6 de octubre de **1995**.

Se han usado materiales de humatos como aditivos para el alimento de aves de corral. La adición de materiales de humatos al forraje de pollos tiernos aumenta el volumen de la cosecha en promedio 5-7% y también proporciona una ganancia de 3-5% en la seguridad de las aves de corral: L. M. Stepchenko, L. V. Zhorina y L. V. Kravtsova, *Biol. Nauki* **1991**, *10*, 90-95.

T. A. Huck, N. Porter y M. E. Bushell, *J. Gen. Microbiol.* **1991**, *137*(10), 2321-2329, han reportado que los materiales aislados del suelo son aditivos de medios eficaces para la producción de antibióticos y que el punto de estimulación del crecimiento microbiano puede ser muy grande dependiendo de la especie, el medio de cultivo y el ambiente. El uso de lotes seleccionados de humato de lignito de suelo como medios de cultivo para aislar extractos termófilos de la especie *Campilobacter* también ha sido documentado por K. Weinrich, K. Winkler y E. Heberer, *DTW Dtsch. Tierarztl Wochenschr.* **1990**, *97*(12), 511-515. Además, B. Grunda,



Zentralbl. Bakteriolog. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. **1970**,
125(6), 584-593, ha descrito los efectos del ácido húmico en
el recuento de microorganismos del suelo en el cultivo

Los humatos se han usado por mucho tiempo como remedios
5 primitivos para una amplia variedad de enfermedades (F. K.
Achard, *Crells Chem. Ann.* **1786**, 11, 391-403), según lo
detallado por T. D. Lotosh, *Biol. Nauki* **1991**, 10, 99-103.

Los ácidos húmicos aislados de la turba presentaron
eficacia considerable para adhesiones cuando se probaron en
10 ratas del sexo femenino que tenían lesiones estandarizadas en
ambos cuernos uterinos y el peritoneo de la pared abdominal
anterior: M. Mesroglu, D. H. Maas, B. Mauss, S. Plogmann, W.
Ziechmann y J. Schneider, *Zentralbl. Gynakol.* **1991**, 113(10),
583-590.

15 La habilidad del ácido húmico natural de afectar la
sensibilización anafiláctica y la función secretoria de
mastocitos ha sido establecida por J. Wyczolkowska, T.
Michon, Z. Slusarczyk, B. Kolago y C. Maslinski, *Acta Pol.*
Pharm. **1993**, 50(6), 475-480. Las sustancias húmicas en dosis
20 de 20 y 50 miligramos por kilogramo de peso corporal
redujeron la liberación de histamina de mastocitos
peritoneales de ratón estimulados con anti-IgE o
concanavalina A in vitro.

Se sabe que las sustancias húmicas, incluyendo turbas y
25 humatos de sodio, presentan propiedades antiinflamatorias: M.



Kuhnert, V. Fuchs y S. Golbs, *Arch. Exp. Veterinarmed.* **1982**,
 36(2), 169-177; S. B. Ye, J. Y. Chen y Z. X. Zeng, *Ssu Chuan*
I Hsueh Yuan Hsueh Pao **1985**, 16(2), 127-129. Los estados
 inflamatorios de la cerviz, especialmente erosión cervical
 5 (conocida generalmente como cervicitis), pueden tratarse con
 preparaciones húmicas: J. Woyton, M. Gabrys, T. Bielanow, M.
 Zimmer, J. Sokalski, R. Geneja y M. Zborowski, *Arch. Immunol.*
Ther. Exp. (Warsz) **1993**, 41(1), 99-103.

Se ha sabido que las sustancias húmicas presentan
 10 propiedades antimicrobianas. Las especies para las cuales las
 sustancias húmicas naturales, así como sintéticas han
 mostrado ser inhibitorias, incluyen *C. albicans*, *Ent.*
cloacae, *Prot. vulgaris*, *Ps. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *St.*
aureus, *St. epidermidis*, *Str. pyogenes* (R. Ansohr y W.
 15 Rochus, *Arzneimittelforschung* **1978**, 28(12), 2195-2198; *E.*
coli y *Str. faecalis* no fueron afectados) y *Str. mutans*
(sobrinus) (Y. Nakamura, H. Kuwashima, S. Aoki y T. Masuhara,
Shika Kiso Igakkai Zasshi **1989**, 31(3), 329-332. En términos
 generales, las concentraciones en la gama de 50-2000 partes
 20 por millón (ppm) generalmente son eficaces, pero no
 citotóxicas: K. D. Thiel, B. Helbig, R. Klocking, P. Wutzler,
 M. Sprossig y H. Schweizer, *Pharmazie* **1981**, 36(1), 50-53.

Por mucho tiempo se ha sabido que las sustancias
 húmicas presentan propiedades antivirales (H. Schultz, *Dtsch.*
 25 *Tierarztl. Wochenschr.* **1962**, 69, 613; **1965**, 72(13), 294-297;



R. Klocking y M. Sprossig, *Experientia* 1972, 28(5), 607-608), particularmente retrovirus (G. Sydow, V. Wunderlich, R. Klocking y B. Helbig, *Pharmazie* 1986, 41(12), 865-868). Los patógenos virales para los cuales los materiales de extracto de suelo han demostrado ser eficaces incluyen en particular virus A9 de Coxsackie (Griggs-Baylor) (R. Klocking y M. Sprossig, *Experientia* 1972, 28(5), 607-608), virus de herpes simple tipo 1 (B. T. Rouse (Ed.), *Herpes Simplex Virus*; Berlin: Springer-Verlag, 1992; R. Klocking, K. D. Thiel, P. Wutzler, B. Helbig y P. Drabke, *Pharmazie* 1978, 33(8), 539; F. Schiller, R. Klocking, P. Wutzler y I. Farber, *Dermatol. Monatsschr.* 1979, 165(7), 505-509; B. Helbig, A. Sauerbrei, R. Klocking, P. Wutzler, N. Wicht, U. Wiedemann y G. Herrmann, *J. Med. Virol.* 1987, 23(3), 303-309; R. Klocking y B. Helbig, en *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment* {*Substancias Húmicas en el Ambiente Acuático y Terrestre*}; Berlin: Springer-Verlag, 1991; 407-412); y tipo 2 (anónimo *Zentralbl. Bakteriol [Orig. A]* 1976, 234(2), 159-169; K. D. Thiel, R. Klocking, H. Schweizer y M. Sprossig, *Zentralbl. Bakteriol [Orig. A]* 1977, 239(3), 304-321; K. D. Thiel, B. Helbig, R. Klocking, P. Wutzler, M. Sprossig y H. Schweizer, *Pharmazie* 1981, 36(1), 50-53; K. D. Thiel, B. Helbig, M. Sprossig, R. Klocking y P. Wutzler, *Acta Virol.* 1983, 27(3), 200-208; K. D. Thiel, P. Wutzler, B. Helbig, R. Klocking, M. Sprossig y H. Schweizer, *Pharmazie* 1984, 39(11),



7891-782); virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (M. Cushman, P. Wang, S. H. Chang, C. Wild, E. De Clercq, D. Schols, M. E. Goldman y J. A. Bowen, *J. Med. Chem.* **1991**, 34(1), 329-337; M. Cushman, S. Kanamathareddy, E. De Clercq, D. Schols, M. E. Goldman y J. A. Bowen, *J. Med. Chem.* **1991**, 34(1), 337-342; D. Schols, P. Wutzler, R. Klocking, B. Helbig y E. De Clercq, *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **1991**, 4(7), 677-685; S. Loya, R. Tal, A. Hizi, S. Issacs, Y. Kashman y Y. Loya, *J. Nat. Prod.* **1993**, 56(12), 2120-2125; J. Schneider, R. Weis, C. Manner, B. Kary, A. Werner, B. J. Seubert y U. N. Riede, *Virology* **1996**, 218(2), 389-395; virus de influenza tipo A (Krasnodar/101/59/H2N2) (R. Mentel, B. Helbig, R. Klocking, L. Dohner y M. Sprossig, *Biomed. Biochim. Acta* **1983**, 42(10), 1353-1356); y tipo B (J. Hils, A. May, M. Sperber, R. Klocking, B. Helbig y M. Sprossig, *Biomed. Biochim. Acta* **1986**, 45(9), 1173-1179; así como otros agentes infecciosos del sistema respiratorio (A. Jankowski, B. Nienartowicz, B. Polanska y A. Lewandowicz-Uszynska, *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)* **1993**, 41(1), 95-97).

Se ha estudiado con ciertos detalles el mecanismo por medio del cual las sustancias húmicas inhiben la citopaticidad de una cantidad de virus. Se cree que los materiales impiden la replicación viral absorbiendo la proteína de envoltura viral (gp120SU en el caso de VIH), bloqueando por lo tanto la absorción de las partículas



virales a las superficies celulares: K. D. Thiel, R. Klocking, H. Schweizer y M. Sprossig, *Zentralbl. Bakteriol. [Orig. A]* **1977**, 239(3), 304-321; D. Schols, P. Wutzler, R. Klocking, B. Helbig y E. De Clercq, *J. Acquir. Immune Def. Syndr.* **1991**, 4(7), 677-685; anónimo, *Fortschr. Med.* **1995**, 113(7), 10; J. Schneider, R. Weis, C. Manner, B. Kary, A. Werner, B. J. Seubert y U. N. Riede, *Virology* **1996**, 218(2), 389-395. La interceptación extracelular de patógenos por agentes químicos que se fijan a ellos es un procedimiento muy conocido de defensa inmunológica (D. M. Shankel, S. Kuo, C. Haines y L. A. Mitscher, en *Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanisms III*; G. Bronzetti, H. Hayatsu, S. De Flora, M. D. Waters y D. M. Shankel (Eds.); Nueva York: Plenum, **1993**; 65-74). Estos materiales podrían denominarse "despatógenos", siguiendo la terminología propuesta por T. Kada y K. Shimoi, *Bioessays* **1987**, 7, 113-116, con respecto a los "desmutágenos".

Se ha reportado que el tratamiento de calor de ácidos húmicos a 120 grados Centígrados durante 15 minutos no altera su efecto inhibitorio en los mutágenos: T. Sato, Y. Ose y H. Nagase, *Mutat. Res.* **1986**, 162(2), 173-178; T. Sato, Y. Ose, H. Nagase y K. Hayase, *Sci. Total Environ.* **1987**, 62(4), 305-310). Es decir, los ácidos húmicos pueden esterilizarse por autoclave.

Una comparación directa del ácido húmico enzimático con



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

el ácido húmico sintetizado no enzimático ha mostrado que el último es casi un factor de diez más efectivo que el primero para el tratamiento de herpes tipos 1 y 2: K. D. Thier, P. Wutzler, B. Helbig, R. Klocking, M. Sprossig y H. Schweizer, *Pharmazie* **1984**, 39(11), 781-782.

El hidroxiapatito de calcio de bovino implantado es altamente osteoconductor y sirve al tejido anfitrión como un "lineamiento" para la deposición de tejido óseo recién en desarrollo. Sin embargo, mientras que es bien tolerado, sólo es resorbido muy lentamente. La impregnación del hidroxiapatito de bovino con ácido húmico sintético estimula mensurablemente el proceso de resorción.

Hay un covalente extenso, así como un enlace de hidrógeno de sustancias húmicas a fibras de colágeno (también con degradación indudable), según lo determinado por el análisis de difracción de rayos X: U. N. Riede, I. Jonas, B. Kirn, U. H. Usener, W. Kreutz y W. Schlickewey, *Arch. Orthop. Trauma Surg.* **1992**, 111(5), 259-264. Por lo tanto la fuerza del tendón es aumentada tanto como el 75 por ciento.

Se ha encontrado que los ácidos húmicos naturales, así como sintéticos estimulan la actividad fagocítica y bactericida de granulocitos en humanos en niveles de dosis de 100-300 miligramos por día durante un período de prueba de 14 días: U. N. Riede, G. Zeck-Kapp, N. Freudenberg, H. U. Keller y B. Seubert, *Virchows Arch. B Cell Pathol. Incl. Mol.*



Pathol. **1991**, 60(1), 27-34; M. Kowalska, A. Denys y J. Bialek, *Acta Pol. Pharm.* **1993**, 50(4-5), 393-395. De interés adicional es el hallazgo de que los niveles de dosis de 600 miligramos al día causó sólo un aumento temporal e insignificante de propiedades fagocíticas y bactericidas de los granulocitos.

Se ha estudiado la influencia de los ácidos húmicos naturales, así como sintéticos en la hemostasis: H. P. Klocking, *Arch. Toxicol. Suppl.* **1991**, 14, 166-169; W. Buczko, B. Malinowska, M. H. Pietraszek, D. Pawlak y E. Chabielska, *Acta Pol. Pharm.* **1993**, 50(6), 507-511. Se encontró que el ácido húmico en niveles de dosis de 100-300 miligramos por kilogramo de peso corporal no tuvo ningún efecto en el tiempo de sangrado, tiempo de coagulación, tiempo de trombina, tiempo de protrombina, tiempo de caolín-cefalina, tiempo de lisis de euglobulina, la concentración de fibrinógeno, el recuento de plaquetas, o el agregado de plaquetas inducidas por ADP.

Se ha encontrado que varios ácidos húmicos sintéticos inhiben totalmente la actividad de la lipoxigenasa purificada de reticulocitos de conejo, considerando que la sintasa de prostaglandina H de la glándula vesicular de oveja sólo es apenas inhibida: C. Schewe, R. Klocking, B. Helbig y T. Schewe, *Biomed. Biochim. Acta* **1991**, 50(3), 299-305. Los ácidos húmicos más eficaces fueron aquellos derivados del



ácido cafeico, 2,5-dihidroxitolueno y 3,4-dihidroxitolueno.

Se ha examinado el efecto del ácido húmico natural en la respuesta regenerativa de tejido de hígado en ratas sometidas a dos tercios de hepatectomía. Se pensó que los resultados eran dobles por naturaleza. En primer lugar, la aplicación a corto plazo de ácido húmico en una dosis de 20 miligramos por kilogramo de peso corporal al día inhibió la actividad de decarboxilasa de ornitina, así como causó una disminución en la formación de espermidina y ADN y ARN, dando como resultado una disminución general en la restitución del hígado. En contraste, la aplicación a largo plazo de ácido húmico ocasionó el estímulo de decarboxilasa de ornitina, un aumento en la espermidina e histamina, así como los niveles de ARN y ADN y en el volumen general del hígado. Los efectos podrían deberse por lo menos en parte a la inhibición del ácido húmico de biosíntesis de poliamina: C. Maslinksi, W. A. Fogel y W. Andrzejewski, *Acta Pol. Pharm.* **1993**, 50(4-5), 413-416.

Se ha demostrado que los ácidos húmicos, así como fúlvicos extraídos de turba estimulan la respiración en la mitocondria de hígado de ratas cuando están presentes en concentraciones de 40-360 microgramos por mililitro. Las sustancias húmicas en concentraciones de 40-400 microgramos por mililitro también aumentaron la eficiencia de fosforilación oxidante en la mitocondria en vitro, particularmente después de períodos de contacto de más de



hora: S. A. Visser, *Sci. Total Environ.* **1987**, 62(4), 347-354.

Los ácidos húmicos naturales, sintéticos y comerciales tienen la habilidad de inhibir la actividad de plasmina

humana: F. J. Lu y Y. S. Lee, *Sci. Total Environ.* **1992**,

5 114(4), 135-139. De este modo, en una concentración de 20 microgramos por mililitro, cada uno ocasionó respectivamente actividades de plasmina residual de 70, 93 y 40 por ciento.

También se ha encontrado que los ácidos húmicos sintéticos fabricados de ácido cafeico y ácido 3,4-dihidroxifenilacético

10 provocan la actividad del activador de plasminógeno en preparaciones vasculares aisladas de oído de cerdo (H. P. Klocking, R. Klocking y B. Helbig, *Farmakol. Toksikol.* **1984**, 47(1), 93-95).

Se ha encontrado que los ácidos húmicos naturales
15 derivados de la turba inhiben la hidrólisis del éster de etilo de *N*-acetil-*L*-tirosina y éster de metilo de *N*-benzoil-*L*-leucina por alfaquimotripsina, así como por subtilisina: Sh. Zh. Zhorobekova y K. A. Kydralieva, *Biol. Nauki* **1991**, 10, 151-154.

20 Se ha encontrado que el humato de sodio aumenta el intervalo de vida de las ratas mestizas expuestas a dosis letales de radiación de ^{60}Co , según lo reportado por G. G. Pukhova, N. A. Druzhina, L. M. Stepchenko y E. E. Chebotarev, *Radiobiologiya* **1987**, 27(5), 650-653.

25 Se ha encontrado que las preparaciones de ácidos húmicos



que ocurren naturalmente pueden estimular la producción de citoquinas, incluyendo interferón gamma, interferón alfa y factor alfa de necrosis de tumores (A. D. Inglot, J. Zielinksa-Jencylik y E. Piasecki, *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)* **1993**, 41(1), 73-80; e interferón beta (Z. Blach-Olszewska, E. Zaczynksa, E. Broniarek y A. D. Inglot, *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, **1993**, 41(1), 81-85).

Los estudios histopatológicos y ultraestructurales han demostrado que los ácidos húmicos que ocurren naturalmente pueden causar cambios morfológicos característicos del estímulo de la actividad del timo: J. A. Madej, J. Kuryszko y T. Garbulinski, *Acta Pol. Pharm.* **1993**, 50(4-5), 397-404.

Se ha demostrado que la incubación de células endoteliales de la vena umbilical humana en cultivo ya sea con ácido húmico natural o sintético da como resultado una expresión mejorada de superficie celular de la actividad del factor de tejido. También hay cambios en los niveles de calcio divalente intracelular: H. L. Yang, F. J. Lu, S. L. Wung y H. C. Chiu, *Thromb. Haemost.* **1994**, 71(3), 325-330.

El ácido húmico natural administrado profilácticamente a ratas puede disminuir de manera considerable la cantidad de daño de mucosa gástrica inducido con etanol. El ácido húmico también acelera considerablemente el proceso de curación de úlceras gástricas y duodenales inducidas por experimentos: T. Brzozowski, A. Dembinski y S. Konturek, *Acta Pol. Pharm.*



Instituto
Mexicano
de Seguridad
Industrial

1994, 51(1), 103-107.

También se han empleado los ácidos húmicos como terapias de medicina veterinaria, como lo describe y discute M. Kuhnert, V. Fuchs, H. Knauf y U. Knoll, *Arch. Exp. Veterinarmed.* **1985**, 39(3), 344-349; y M. Kuhnert, V. Fuchs y S. Golb, *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* **1989**, 96(1), 3-10. Por ejemplo, H. Schultz, *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* **1962**, 69, 613; **1965**, 72(13), 294-297, empleó exitosamente mantillo de turba para prevenir la transmisión de enfermedades en patas y hocico de los cerdos.

J. Hampl, I. Herzig y J. Vlcek, *Vet. Med. (Praha)*, **1994**, 39(6), 305-313, ha estudiado ampliamente la farmacocinética del humato de sodio en pollos. Se administró a los pollos humato de sodio libre o encapsulado por liposomas por vía intracardíaca, oral, o subcutánea y después se determinaron diversos parámetros farmacocinéticos. La evacuación de sangre de humato de sodio encapsulado por liposomas fue más alta que la del humato de sodio libre sin considerar la vía de administración. Por otro lado, la vida media de eliminación fue más larga después de la administración extravascular que después de la administración intracardíaca. Los valores máximos de concentración de fármaco indicaron que la penetración de humato de sodio del sitio de inyección a la circulación sanguínea es muy lenta. La disponibilidad biológica del humato de sodio también dependió del método de



administración y forma de dosis. Aparte de la administración intracardíaca, la biodisponibilidad más alta se encontró después de la administración subcutánea del humato de sodio libre. Se ha encontrado que el ácido húmico sintético penetra la dermis muy rápidamente de una emulsión de 1% de agua/aceite y forma un depósito en la capa callosa: W. Wohlrab, B. Helbig, R. Klocking, y M. Sprossig, *Pharmazie* **1984**, 39(8), 562-564. También, alrededor de 30 minutos después de la aplicación externa, se logran concentraciones de 1-3% de la cantidad total aplicada, cuyo porcentaje permanece esencialmente sin alteraciones en lo sucesivo.

La toxicidad de los ácidos húmicos que ocurre naturalmente es notablemente baja (K. D. Thiel, B. Helbig, R. Klocking, P. Wutzler, M. Sprossig, y H. Schwaizer, *Pharmazie* **1981**, 36(1), 50-53; U. N. Riede, I. Jonas, b. Kim, U. H. Usener, W. Kreutz, y W. Schlickewey, *Arch Orthop. Trauma Surg.* **1992**, 111(5), 259-264; H. Czyzewska-Szafran, Z. Jastrzebski, D. Soltysis-Pawluczuk, M. Wutkiewicz, a. Hedrych, y M. Remiszewska, *Acta Pol. Pharm.* **1993**, 50(4-5), 373-377; H. L. Yang, F. J. Lu, S. L. Wung, y H. C. Chiu, *Thromb. Haemost.* **1994**, 71(3), 325-330). [Los efectos citotóxicos de sustancias antivirales, incluyendo ácidos fúmicos, generalmente se evalúan a través de métodos de prueba biológicos (de habilidad y alteraciones de morfología celular) y bioquímicos (liberación de ^{51}Cr), como lo describe



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

K. D. Thiel, U. Eichhorn, H. Schwaizer, y r. Klocking, *Arch. Toxicol. Suppl.* **1980**, *4*, 428-430]. Se encontró que la citotoxicidad (CD₅₀) de un ácido húmico que ocurre naturalmente para leucocitos periféricos de sangre humana (PBL) es de 1-9 miligramos por mililitro. Además, J. Schneider, R. Weis, C. Manner, B. Kary, A. Werner, B. J. Seubert, y U. N. Riede, *Virology* **1996**, *218(2)*, 389-395, reportaron que la citotoxicidad de un ácido húmico sintético preparado de hidroquinona para células MT-2 fue aproximadamente de 600 microgramos por mililitro. También se ha encontrado que los medicamentos preparados de ácidos húmicos aislados de materiales de suelo que ocurren naturalmente son carcinogénicos (prueba de transformación celular de embrión de hamster-Sirio: J. Koziorowska y E. Anuszevska, *Acta Pol. Pharm.* **1994**, *51(1)*, 101-102) ni mutagénicos (T. Sato, Y. Ose, y H. Hagase; *Mutat. Res.* **1986**, *162(2)*, 173-178; V.M. Sui, A. I. Kiung, y T. I. Veidebaum, *Vopr. Kurortol. Fiozioter. Lech. Fiz. Kult.* **1986**, *2(3-4)*, 34-37; J. Koziorowska, B. Chlopkiewicz, y E. Anuszevska, *Acta Pol. Pharm.* **1993**, *50(4-5)*, 379-382). Los efectos prenatales (S. Golbs, V. Fuchs, M. Kuhnert, y C. Polo, *Arch. Exp. Veterinarmed.* **1982**, *36(2)*, 179-185) y embriotóxicos y teratogénicos (T. Juskiewicz, M. Minta, B. Wlodarczyk, B. Biernacki, y J. Zmudzki, *Acta Pol. Pharm.* **1993**, *50(4-5)*, 383-388) tampoco se observan con preparaciones de ácido húmico en



niveles de dosis diarias de 5-50 miligramos por kilogramo de peso corporal. Las preparaciones locales son toleradas aún mejor (V. V. Soldatov y M. N. Cherepanova, *Vopr. Kurortol. Fizioter. Lech. Fiz. Kult.* **1970**, 35(3), 256-259; H. Czyzewska-Szafran, Z. Jastrzebski, D. Soltysiak-Pawluczuk, M. Wutkiewicz, A. Jedrych, y M. Remiszewska, *Acta Pol. Pharm.* **1993**, 50(4-5), 373-377) cuando se aplican dérmicamente en solución acuosa en cantidades tan altas como 10 por ciento de peso en volumen (K. Wiegleb, N. Lange, y M. Kuhnert, *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* **1993**, 100(10), 412-416).

Los extractos de suelo, incluyendo húmicos, son mezclas muy complejas de compuestos poliméricos orgánicos e inorgánicos cuya composición varía ampliamente dependiendo de la fuente de suelo y el método o métodos de extracción y tratamiento subsecuente: D. Vaughan y R. E. Malcolm, *Plant Soil Sci.* **1985**, 16, 1-443 (ver también N. Senesi, Y. Chen, y M. Schnitzer, *Soil Biol. Biochem.* **1977**, 9, 397-403).

Las técnicas usadas para la caracterización química de extractos de suelo, incluyendo húmicos, han icnluído la electrofóresis capilar (S. Pompe, K. Heise, y H. Nitsche, *J. Chromatogr. A*, **1996**, A723(1), 215-218), ultracentrifugación (R. S. Cameron, B. K. Thornton, R. S. Swift, y A. M. Posner, *J. Soil Sci.* **1972**, 23(4), 394-408; A. E. Wilkinson, J. J. Higgs, y M. N. Jones, *Biochem. Soc. Trans.* **1991**, 19(4), 414S), resonancia paramagnética electrónica y espectroscopia



con luz infrarroja (G. Tollin y C. Steelink, *Biochim. Biophys. Acta*, **1966**, 112(2), 377-379), varios solventes y otros métodos de fraccionación (R S. Cameron, B. K. Thornton, R. S. Swift, y A. M. Posner, *J. Soil Sci.* **1972**, 23(4), 394-408; C. E. Clapp, M. H. Hayes, y R. S. Swift, *Agricultural Research Service Report Number 0000042025*; M. H. Hayes, R. L. Malcolm, y C. E. Clapp, *Agricultural Research Service Report Number 0000042035*; I. Csiky, G. Marko-Varga, y J. A. Jonsson, *Anal Chim. Acta* **1985**, 178, 307-312; J. A. Amador, P. J. Milne, C. A. Moore, y R. G. Zika, *Mar. Chem.* **1990**, 29, 1-17), cromatografía de gas (I. Arsenie, H. Boren, y B. Allard, *Sci. Total Environ.* **1992**, 116(3), 213-220), espectrometría de masa por cromatografía de gas (H.-R. Schulten y M. Schnitzer, *Soil Sci.* **1992**, 153(3), 205-224; G. Chiavari, G. Torsi, D. Fabbri, y G.C. Galletti, *Analyst (London)* **1994**, 119(6), 1141-1150), cromatografía por permeación de gel (B. Kosinkiewicz, *Acta Microbiol. Pol.* **1977**, 26(4), 387-392; S. Mori, M. Hiraide, y A. Mizuike, *Anal. Chim. Acta* **1987**, 193, 231-238), cromatografía líquida de alto rendimiento (M. A. Curtis, A. F. Witt, S. B. Schram, y L. B. Rogers, *Anal. Chem.* **1981**, 53, 1195-1199; K. Ravichandran, J. J. Lewis, I.-H. Yin, M. Koenigbauer, C. R. Powley, P. Shah, y L. B. Rogers, *J. Chromatogr.* **1988**, 439, 213-226; J. Knuutinen, L. Virkki, P. Mannila, P. Mikkelsen, J. Paasivirta, y S. Herve, *Wat. Res.* **1988**, 22(8), 985-990, M. Susic y K. G. Boto, *J. Chromatogr.*



1989, 482(1), 175-187), espectrometría de masa (H.-R. Sechulten, G. Abbt-Braun, y F. H. Frimmel, *Environ. Sci. Technol.* **1987**, 21(4), 349-357; C. Sorge, R. Mueller, P. Leinweber, y H. R. Schultern, *Fresenius' J. Anal. Chem.* **1993**, 346(6-9), 697-703; M. Remmler, A. Georgi, y F.-D. Kopinke, *Eur. Mass Spectrom.* **1995**, 1(4), 403-407), resonancia magnética nuclear, (F. J. Vila, H. Lentz, y H. D. Ludemann, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1976**, 72(3), 1063-1070; G. Almendros, R. FRUND, F. J. Gonzalez-Vila, K. M. Haider, H. KNICKER, y H. D. Ludemann, *FEBS Lett.* **1991**, 282(1), 119-121), y electroforesis de gel de poliacrilamida (R. Klkocking, *J. Chromatogr.* **1973**, 78, 409-416; L. P. Glazkova, V. S. Ulashchik, y F. A. Puntus, *Vopr. Kurortol. Fizioter. Lech. Fiz. Kult.* **1984**, 2(2), 21-24).

15 Se han llevado a cabo muchos estudios sobre la caracterización estructural de extractos de suelo, incluyendo ácido húmico, por degradación reductiva, según lo revisado por L. B. Sonnenberg, pH.D. Thesis, Universidad de Carolina en Chapel Hill, **1989: Dissertation Services Order**
 20 No. 9007318. Los Modelos de estructura húmica basada en las propiedades fisicoquímicas de membranas también han sido desarrollados por R. L. Weershaw, *Environ. Health Perspect.* **1989**, 83(11), 191-203. R. R. Engebretson y R. Wandruszka, *Environ. Sci. Technol.* **1994**, 28, 1934, han descrito
 25 esfuerzos en la caracterización de la micro-organización de



ácidos húmicos disueltos en términos de su estructura secundaria, es decir, sobre la forma en la cual estas grandes moléculas se ordenan en tres dimensiones en la solución. Se cree que las moléculas son ramificadas, es decir estructuras fractales hiperramificadas que emanan un poco como los rayos de una rueda de automóvil desde un núcleo central y las cuales contienen un gran número de grupos terminales de carboxilo e hidroxilo: T. H. Mourey, S.R. Tuener, M. Rubinstein, J. M. J. Frechet, C. J. Hawker, y K. L. Wooley, *Macromolecules* **1992**, *25*, 2401-2406. Los conjuntos de racimo de ácido húmico tienen un diámetro promedio de 700-1700 Angstroms; los racimos grandes tienen una dimensión fragtal de 2.3: R. Osterberg y K. Mortensen, *Radiat. Environ. Biophys.* **1994**, *33*(3), 269-276.

Debido a que las sustancias húmicas no están bien definidas químicamente, la preparación de los ácidos húmicos sintéticos cuyas propiedades fisicoquímicas imitan a los materiales que ocurren naturalmente es muy difícil, según lo señalado por K. Murray y P. W. Linder, *J. Soil Sci.* **1983**, *34*, 511-523. No obstante, ha habido varios avances notables en esta área. En términos generales, se han desarrollado tres estrategias generales. Todas dependen de comenzar con moléculas bien definidas de peso molecular en el orden de ácido hidroxibenzoico y después haciendo que las moléculas se polimericen para formar moléculas más grandes. Los métodos



difieren en el factor causativo, el cual puede ser microbiano, químico o enzimático.

Los ácidos húmicos de origen microbiano han sido descritos y discutidos por M. Robert-Gero, C. Hardisson, L. Le Borgne, y G. Pignaud, *Ann. Inst. Pasteur (París)* **1966**, 111(6), 750-767; y por M. Robert-Gero, C. Hardisson, L. Le Borgne, y G. Vidal, *Ann. Inst. Pasteur (París)* **1967**, 113(6), 903-909.

La síntesis química de ácidos húmicos ha sido iniciada por R. Klocking, B. Helbig, y asociados: R. Klocking, B. Helbig, y P. Drabke, *Pharmazie* **1977**, 32, 297; R. Klocking, B. Helbig, K. D. Thiel, T. Blumohr, P. Wutzler, M. Sprossig, y F. Schiller, *Pharmazie* **1979**, 34(5-6), 293-294; R. Mentel, B. Helbig, R. Klocking, L. Dohner y M. Sprossig, *Biomed. Biochim. Acta* **1983**, 42(10), 1353-1356; H. P. Klocking, R. Klocking, y B. Helbig, *Farmakol. Toksikol.* **1984**, 47(1), 93-95; K. D. Thiel, P. Wutzler, B. Helbig, R. Klocking, M. Sprossig, and H. Schweizer, *Pharmazie* **1984**, 39(11), 781-782; J. Hils, A. May, M. Sperber, R. Klocking, B. Helbig, y M. Sprossig, *Biomed. Biochim. Acta* **1986**, 45(9), 1173-1179; B. Helbig, A. Sauerbrei, R. Klocking, P. Wutzler, N. Wicht, U. Wiedemann, y G. Herrmann, *J. Med. Virol.* **1987**, 23(3), 303-309; K. I. Hanninen, R. Klocking, y B. Helbig, *Sci. Total Environ.* **1987**, 62, 201-210; R. Klocking y B. Helbig, en *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial*



Environment; New York: Springer-Verlag, 1989, 407-412; C. Schewe, R. Klocking, B. Helbig, y T. Schewe, *Biomed. Biochim. Acta* 1991, 50(3), 299-305; D. Schols, P. Wutzler, R. Klocking, B. Helbig, y E. De Clercq, *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 1991, 4(7), 677-685. Normalmente, se disuelven 10 milimoles del compuesto fenólico de arranque de moléculas pequeñas en agua destilada, el pH es ajustado a 8.5 con hidróxido de sodio acuoso (NaOH), y después se agregan 2, 5 milimoles de periodato de sodio (NaIO₄). La solución es

10 calentada a 50°C durante 30 minutos y después se deja reposar durante toda la noche. Los productos poliméricos resultantes similares al ácido húmico son aislados por precipitación con nitrato de plomo(II) [Pb(NO₃)₂]. Los polímeros precipitados son redisolventes en hidróxido de sodio acuoso (pH 8.5) y

15 calentados con 8-hidroxiquinolina durante 30 minutos a 100°C. El precipitado formado es quelato de plomo(II), el cual es eliminado por filtración. La 8-hidroxiquinolina residual es extraída con cloroformo y el material polimérico deseado es después precipitado de la solución acuosa por la adición de

20 varias combinaciones de ácido acético, acetato de etilo y etanol. Los compuestos de arranque que se han usado para la síntesis de materiales similares al ácido húmico incluyen 4-[bis(p-hidroxifenil)metilen]-2,5-ciclohexadien-1-ona

(aurina), 4-[bis(3-carboxi-4-hidroxifenil)metilen]-2-carboxi-

25 2,5-ciclohexadien-1-ona (ácido aurinotricarboxílico), 3-(3,4-



dihidroxifenil)ácido propenoico (ácido cafeico), 1,2-
 dihidroxibenceno (catacol), 1,3,4,5-ácido
 tetrahidroxiciclohexanocarboxílico 3,4-
 dihidroxifenil)propionato (ácido clorogénico), 3,4-ácido
 5 dihidroxifenilacético (ácido homoprotocatequico), 1-(3,4-
 dihidroxifenil)-2-(N-metilamino)etanol (epinefrina), 3-(4-
 hidroxí-3-metoxifenil)-2-ácido propenoico (ácido ferúlico),
 3,4-5-ácido trihidroxibenzoico (ácido gálico), 2,5-ácido
 dihidroxibenzoico (ácido gentísico), 2,5-ácido
 10 dihidroxifenilacético, (ácido homogentísico), 3-(3,4-
 dihidroxifenil)ácido propiónico (ácido hidrocafeico), 1,4-
 dihidroxibenceno (hidroquinona), 2,3-dihidroxitolueno (3-
 metilcatecol), 3,4-dihidroxitolueno (4-metilcatecol), 2,5-
 dihidroxitolueno (2-metilhidroquinona), 4,4'-(2,3-
 15 dimetiltetrametileno)-di-(1,2-dihidroxibenceno) (ácido
 nordihidroguyarético), 1-(3,4-dihidroxifenil)-2-aminoetanol
 (norepinefrina), 3,4-ácido dihidroxibenzoico (ácido
 protocatequico), 1,2,3-trihidroxibenceno (pirogalol), 1,3-
 dihidroxibenceno (resorcinol), y 4-hidroxí-3-ácido
 20 metoxibenzoico (ácido vanílico). Otros esfuerzos notables
 sobre la síntesis química de sustancias similares al ácido
 húmico incluyen los estudios por De Clercq y colegas sobre el
 ácido aurintricarboxílico, sus derivados y compuestos
 relacionados: M. Cushman, P. Wang, S. H. Chang, C. Wild, E.
 25 De Clercq, D. Schols, M. E. Goldman, y J. A. Bowen, *J. Med.*



Chem. 1991, 34(1), 329-337; M. Cushman, S. Kanamathareddy, E. De Clercq, D. Schols, M. E. Goldman, y J. A. Bowen, *J. Med. Chem.* 1991, 34(1), 337-342. También se han reportado esfuerzos relacionados por M. Robert-Gero, C. Hardisson, L. Le Borne, y G. Vidal, *Ann. Inst. Pasteur (París)* 1967, 113(6), 903-909; M. Jakubiec, E. Miszczak, y J. Szczerkowska, *Acta Microbiol. Pol. [B]* 1971, 3(1), 63-55; R. Ansorg y W. Rochus, *Arzneimittelforschung* 1978, 28(12), 2195-2198; J. Pommeroy, M. Imbenotte, A. F. Urien, D. Marzin, y F. Erb, *Mutat. Res.* 1989, 223(2), 183-189; F. J. Lu y Y. S. Lee, *Sci. Total Environ.* 1992, 114, 135-139; K. Wiegleb, N. Lange, y M. Kuhnert, *DTW Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 1993, 100(10), 412-416; H. L. Yang, F.J. Lu, S. L. Wung, y H. C. Chiu, *Thromb. Haemost.* 1994, 71(3), 325-330; W. Seffner, F. Schiller, R. Heinze, y R. Breng, *Exp. Toxicol. Pathol.* 1995, 47(1), 63-70; y J. Schneider, R. Weis, C. Manner, B. Kary, A. Werner, B. J. Seubert, y U. N. Riede, *Virology* 1996, 218(2), 389-395.

La síntesis catalítica enzimática de ácidos húmicos data de 1961 con el trabajo de R. E. Hampton y R. W. Fulton, *Virology* 1961, 13, 44-52 (ver también R. E. Hampton, *Phitopathology* 1970, 60, 1677-1681), quien encontró que los fenoles enzimáticamente oxidados inactivan los virus fitopatogénicos (es decir, relacionados con las plantas). Normalmente, la oxidasa de o/difenol se ha empleado para la



síntesis enzimática de materiales similares al ácido húmico: anónimo, *Zentralbl. Bakteriol.* [Orig. A] 1976, 234(2), 159-169; R. Klocking, B. Helbig, y P. Drabke, *Pharmazie* 1977, 32(5), 297; K. D. Thiel, B. Helbig, R. Klocking, P. Wutzler, M. Sprossig, y H. Schweizer, *Pharmazie* 1981, 36(1), 50-53; K. D. Thiel, B. Helbig, M. Sprossig, R. Klocking, y P. Wutzler, *Acta Virol.* 1983, 27(3), 200-208; K. D. Thiel, P. Wutzler, B. Helbig, R. Klocking, M. Sprossig, y H. Klocking, y B. Helbig, *Pharmazie* 1986, 41(12), 865-868.

Una comparación directa de ácidos húmicos sintetizados de manera enzimática y no enzimática de ácidos cafeicos e hidrocatequicos ha demostrado que las dos rutas sintéticas producen materiales que difieren un poco en su eficacia para la supresión de los virus de herpes tipo 1 y 2 (hominis): K. D. Thiel, P. Wutzler, B. Helbig, R. Klocking, M. Sprossig, y H. Schweizer, *Pharmazie* 1984, 39(11), 781-782.

La Patente Alemana DE 3830333 C1 (15 de marzo de 1990) emitida a Wagner revela una composición farmacéutica que comprende en parte ácido húmico para el tratamiento local del salpullido vesicular provocado por el virus del herpes. El método de preparación del ácido húmico utilizado no se revela.

La Patente de los Estados Unidos 4,999,202 (12 de marzo de 1991) emitida a Cronje y otros, revela una composición que tiene propiedades bactericidas o



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

bacteriostáticas y que consta de ácido húmico derivado del carbón oxidado o una sal o su derivado como un ingrediente activo en un portador adecuado. El ingrediente activo es de preferencia una sal de metal alcalino de ácido húmico derivado del carbón y el portador de preferencia es agua. El método de preparación implica la recuperación del ácido húmico por precipitación, después de la acidificación con un ácido como ácido clorhídrico con un valor de pH de 2.

La Solicitud de Patente Europea 0537430A1 (21 de abril de 1993) de Riede, y otros, revela el uso de humatos de metal alcalino o amonio naturales o sintéticos, modificados o no modificados contra virus, especialmente contra retrovirus como VIH. Riede y otros revelan humatos que tienen poca toxicidad y no son mutágenos ni teratógenos. Riede y otros también revelan una preparación sintética específica de dichos humatos que requiere un tiempo de 10-15 días para completar la oxidación del material de arranque, durante dicho tiempo la temperatura de reacción se mantiene abajo de 40°C. La solución es acidificada a pH 4-5 después de la síntesis, después de lo cual se emplean métodos conocidos de purificación, como cromatografía de preparación, ultrafiltración, centrifugación, o electrodiálisis. No se emplean sales orgánicas distintas al oxidante o al material de arranque durante o después de la síntesis.



La solicitud de patente mundial 95/08335 (publicada el 30 de marzo de 1995) de Zanetti, la cual es equivalente a la solicitud de los Estados Unidos 08/310,675 (archivada el 22 de septiembre de 1994) revela un método para inhibir la infección del Virus de Inmunodeficiencia Humana que comprende leucocitos de contacto, células periféricas mononucleares de sangre y linfocitos de una persona infectada con dicho virus con una cantidad del virus de anti-inmunodeficiencia de una preparación natural disponible en el mercado de ácido húmico.

5 También se revelan las preparaciones de ácido húmico. El procedimiento sintético revelado no emplea sales inorgánicas que no sean periodato de sodio para la oxidación del material de arranque. El procedimiento sintético emplea la acidificación del producto de la síntesis con 6 M HCl con un

10 pH de menos de 1. Esta solución se deja reposar toda la noche. Se forma un precipitado del producto sintético el cual es lavado varias veces con 1M HCl. El paso final implica la deshidratación por congelación del precipitado.

Los polímeros fenólicos como el ácido húmico, cuando se exponen a ácido clorhídrico bajo las condiciones anteriores, así como las condiciones en Cronje '202, pueden ser clorados. Es decir, posiblemente se agregarán uno ó más átomos de cloro a los anillos aromáticos de los polímeros fenólicos: R. B. Wagner y H. D. Zook, *Synthetic Organic*

25 *Chemistry*, New York: J. Wiley & Sons, March 1963, 88-147.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial!

También pueden ocurrir otros cambios como la O-demetilación selectiva de productos de ácido húmico en la presencia del ácido clorhídrico: M. Fieser y L. F. Fieser, *Reagents For Organic Synthesis*, New York, Wiley-Interscience, Vol. 4, 1974, 250. Se ha reportado que la cloración acuosa de ácidos húmicos da como resultado la formación de compuestos con actividad mutagénica de acción directa en el ensayo de placa de Ames/Salmonella. Los ácidos húmicos no clorados no son mutagénicos: J. R. Meier, R. D. Lingg, R. J. Bull, *Mutat. Res.*, 1983, 118(1-2), 25-41. También se ha reportado que el ácido húmico clorado, es hidratado por congelación contiene agentes no volátiles, mutagénicos y/o alquilizantes de acción directa: S. C. Agarwal, J. Neton, *Sci. Totala Environ.*, 1989, 79(1), 68-83. Se ha realizado un estudio de toxicología subcrónico de 90 días con ácidos húmicos clorados y no clorados usando ratas Sprague-Dawley de sexo masculino. Se ha encontrado mayor incidencia y severidad de hematuria en el grupo de ácido húmico clorado 1.0-g/l: L. W. Condie, R.D. Lurie, J. P. Bercz, *J. Toxicol. Environ. Health*, 1985 15(2), 305-14. De este modo, los métodos sintéticos para la producción de ácidos húmicos que posiblemente pueden producir ácidos húmicos clorados deben ser evitados.

Otra área del arte relacionado pertinente a esta invención consta de composiciones de productos sanguíneos y métodos para tratar productos sanguíneos para reducir la



actividad viral y microbiana. Existe una variedad de productos sanguíneos de humano incluyendo plaquetas de sangre para satisfacer las necesidades terapéuticas médicas críticas. La seguridad viral depende de la selección y exploración del donante. Se ha comprobado que es imposible a la fecha seleccionar adecuadamente productos sanguíneos que proporcionen la garantía absoluta de que no están contaminados por virus. Estos productos sanguíneos pueden estar contaminados inadvertidamente con virus como el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), virus de Hepatitis, incluyendo Hepatitis A, B y C y otros virus. Existe una técnica de solvente/detergente (SD) para tratar productos sanguíneos incluyendo plaquetas de sangre, pero esta técnica principalmente está limitada a virus envueltos por lípidos y se sabe que es ineficaz para virus no envueltos como Hepatitis A y parvovirus B19 y picornavirus: P. M. Mannucci, y otros, *Ann. Intern. Med.*, 1994, 120(1), 1-7; y L. Gurtler, *Infusionsther. Transfusionsmed.*, 1994, 21(Complemento 1), 77-9. Además, es necesario separar los detergentes en el método SD del producto sanguíneo utilizando la extracción con soya o aceite de ricino y cromatografía en resina C18 insolubilizada: B. Hrowitz y otros, *Blood*, 1992, 79(3), 826-31; y Y. Piquet y otros, *Vox Sang.*, 1992, 63(4), 251-6.

Se ha desarrollado un proceso de pasteurización para tratar los productos sanguíneos. Este proceso implica el



tratamiento térmico de una solución de proteína acuosa esterilizada a 60°C durante 10 horas. Sin embargo, se ha encontrado el virus infeccioso residual de la Hepatitis A aún después de 10 horas de tratamiento térmico de la preparación esterilizada: J. Hilfenhaus y T. Nowak, *Vox Sang.*, 1994, 67(Complemento 1), 62-6. Ni el proceso de solvente/detergente (S/D) ni el proceso de pasteurización son adecuados para desactivar los virus que son totalmente resistentes al calor y a los solventes orgánicos. En este contexto, el parvovirus humano B19 y el virus de Hepatitis A son de interés particular: H. Schwinn y otros., *Arzneimittelforschung*, 1994, 44(2), 188-91.

Se ha desarrollado un excelente tratamiento térmico final (100°C durante 30 minutos) como un paso de desactivación adicional de virus para mejorar la seguridad del concentrado de factor VIII (FVIII) derivado del plasma ya tratado con el método de solvente/detergente (S/D) durante el proceso de fabricación. La eficiencia de este tratamiento térmico se demostró en la desactivación de dos virus envueltos no por lípidos (virus de Hepatitis A y virus de Polio 1). Sin embargo, la pérdida de actividad procoagulante FVIII durante este tratamiento térmico fue alrededor de 15%, estimada tanto por ensayo de coagulación, como por ensayo cromogénico: S. Arrghi y otros, *Thromb. Haemost.*, 1995, 74(3), 863-73.



Se ha desarrollado un método para tratar productos sanguíneos humanos empleando irradiación de luz ultravioleta (UVC) de longitud de onda corta para la desactivación de virus y la mejora de su compatibilidad con proteínas por 5 atenuadores de especie de oxígeno reactivo. Sin embargo, la recuperación de proteína de sangre normalmente fue sólo del 75%: S. Chin y otros, *Blood*, 1995, 86(11), 4331-6. Además, se ha reportado que los métodos de irradiación de luz ultravioleta no son aplicables a los productos de sangre 10 celular: C. M. Allen, *Photochem. Photobiol.*, 1995, 62(1), 184-9.

En resumen, permanece la necesidad de un método seguro, eficaz y simple para tratar todos los productos sanguíneos humanos para reducir o eliminar la actividad de 15 virus envueltos por lípidos y no envueltos sin pérdida de producto sanguíneo o actividad de producto sanguíneo.

Se ha documentado muy bien la diversidad de las características fisicoquímicas, así como la amplia variación en la actividad biológica y toxicidad de ácidos húmicos 20 extraídos o de otra manera derivados de suelos naturales. Esta diversidad y variación se debe a variaciones en los factores como la fuente del suelo, el método o métodos de extracción y/o aislamiento y la técnica o las técnicas empleadas para tratar el extracto una vez que ha sido 25 separado y aislado del suelo crudo. La consecuencia de



irreproducibilidad de las propiedades de sustancias extraídas en suelo natural es que el valor comercial de dichos materiales es minimizado. Además, se vuelven inadecuados como medicamentos. También, mientras que ya se han descrito

5 diversos procesos experimentales que tratan varios aspectos del aislamiento, síntesis y/o preparación de sustancias húmicas o materiales similares, no hay reportes de la preparación y el aislamiento de dichos ácidos húmicos puramente sintéticos o materiales similares mediante métodos

10 que sean adecuados para ampliación a escala directamente a niveles industriales, que proporcionen rendimientos económicamente aceptables y que optimicen los procedimientos de preparación desde el punto de vista de seguridad y eficacia del medicamento. Todos los métodos sintéticos

15 conocidos utilizan métodos de precipitación potencialmente tóxica (precipitación de nitrato de plomo (II)) seguidos por procedimientos complejos de aislamiento, precipitación de ácido clorhídrico produciendo compuesto potencialmente mutagénico o pasos sintéticos tan largos como de 10 días. La

20 solución es no inventar procedimientos sintéticos simples que produzcan materiales económicos, seguros cuyos atributos fisicoquímicos sean reproducibles y que por lo menos simulen los atributos de los extractos de suelo típicos disponibles en el mercado. Esta invención está dirigida a esta solución y



a composiciones y métodos que emplean materiales sintéticos preparados de acuerdo con el proceso de la invención compendio de la Invención

Un aspecto de la invención en un proceso para preparar materiales poliméricos fenólicos sintéticos cuyas propiedades fisicoquímicas y atributos son reproducibles, y los cuales simulan las propiedades fisicoquímicas y atributos de los ácidos húmicos naturales típicos disponibles en el mercado y otros extractos de suelo. Este proceso comprende los siguientes pasos:

- a) disolver uno o más compuestos orgánicos de arranque seleccionados el grupo que consta de los compuestos incluidos en el Cuadro 1 y Cuadro 2 en una solución acuosa que comprende agua destilada o hidróxido de sodio;
- b) ajustar el pH de la solución acuosa resultante del paso a) entre 8 y 11, si es necesario;
- c) agregar una sal de periodato alcalino o sal de periodato alcalinotérreo a la solución acuosa resultante del paso b);
- d) mantener la temperatura de la solución resultante del paso c) entre 35 y 80°C durante un período de 30 minutos a 100 horas;
- e) agregar uno ó más compuestos o sales seleccionados del grupo que consta de ácido bórico, sales de



borato, sales alcalinotérreas, sales de metales de transición, sulfuros alcalinos, sulfuros alcalinotérreos o sulfuros de metales de transición a la solución acuosa resultante del paso d);

- 5 f) dejar que la solución acuosa resultante del paso e) repose con o sin agitación a temperatura ambiente entre 2 y 48 horas;
- g) eliminar las moléculas de la solución resultante del paso f) abajo de 500 a 100 daltons;
- 10 h) concentrar la solución resultante del paso inciso g); e
- i) eliminar el agua de la solución resultante del paso h), si es necesario.

En una realización del proceso, el pH de la solución acuosa resultante del paso a) es ajustado a 8 y 11
15 agregando hidróxido de amonio acuoso, u otro óxido o hidróxido alcalino acuoso, u óxido o hidróxido alcalinotérreo acuoso, u óxido o hidróxido acuoso de metales de transición, o ácido clorhídrico u otro ácido inorgánico. En otra
20 realización del proceso, los sulfuros alcalinos o alcalinotérreos se agregan a la solución resultante del paso b). Alternativamente, los sulfuros alcalinos o alcalinotérreos se agregan a la solución resultante del paso c). En otra realización del proceso, se agregan sulfuros de
25 metales de transición a la solución resultante del paso b).



Alternativamente, se agregan sulfuros de metales de transición a la solución resultante del paso c) u otra realización del proceso, cualquier precipitado formado de la solución resultante del paso f) es eliminado por 5 centrifugación. En otra realización del proceso, el paso g) se realiza dializando la solución resultante del paso f) con un aparato de flujo que consta de una membrana tipo sandwich de corte de peso molecular de 500-10000 daltons hasta que la conductividad de la solución retenida ha caído a 200 10 microsiemens o menos. En otra realización del proceso después de la diálisis en el paso g), la solución resultante del paso g) es concentrada en el paso h) utilizando un aparato de diálisis de flujo que produce una solución retenida de tal manera que el volumen de la solución retenida en el aparato 15 de diálisis se deja caer. En otra realización del proceso, la solución resultante del paso g) es pasada a través de un filtro con tamaño de poro entre 0.2 y 0.4 micras para producir una solución estéril. En otra realización del proceso, la solución resultante del paso g) es esterilizada 20 por autoclave entre 100 y 150°C durante 5 a 60 minutos para producir una solución estéril. En otra realización del proceso, la solución resultante del paso h) es pasada a través de un filtro con tamaño de poro entre 0.2 y 0.4 micras para producir una solución estéril. En otra realización del 25 proceso, la solución resultante del paso h) es esterilizada



por autoclave entre 100 y 150°C durante 5 a 60 minutos para producir una solución estéril. En otra realización del proceso realización del proceso, se agrega manosa u otro material de reducción de electricidad estática a la solución

5 resultante del paso h) antes de eliminar el agua de dicha solución en el paso i). En otra realización del proceso, el paso i) se realiza por deshidratación por spray o evaporación inducida termalmente o vacío o deshidratación por congelación. En otra realización del proceso, el polvo

10 deshidratado del paso i) es esterilizado por autoclave entre 100 y 150°C durante 5 a 60 minutos para producir un polvo estéril. En otra realización del proceso, se usan membranas de diálisis tubulares, capilares, enrolladas, o planas en el

15 paso inciso g) para eliminar las moléculas de la solución resultante del paso f). En otra realización del proceso que emplea membranas de diálisis tubulares, capilares, enrolladas, o planas en el paso g), la solución resultante del paso g) es pasada a través de un filtro con tamaño de

20 poro entre 0.2 y 0.4 micras para producir una solución estéril. Alternativamente, la solución resultante del paso inciso g) que emplea membranas de diálisis tubulares, capilares, enrolladas, o planas es esterilizada por autoclave entre 100 y 150°C durante 5 a 60 minutos para producir una

25 solución estéril. En otra realización del proceso que emplea membranas de diálisis tubulares, capilares, enrolladas, o



planas en el paso g), la solución resultante del paso g) es concentrada el paso h) utilizando un aparato de diálisis de flujo que produce una solución retenida de tal manera que el volumen de la solución retenida en el aparato de diálisis se
5 deja caer. En otra realización del proceso de la invención, la solución resultante del paso g) es además dializada con un aparato de flujo que consta de una membrana de tipo sandwich de corte de peso molecular de 30,000-100,000 daltons para producir una solución acuosa de filtrado conteniendo
10 materiales poliméricos fenólicos sintéticos de peso molecular más bajo entre 500 y 10,000 daltons y peso molecular más alto entre 30,000 y 100,000 daltons. En otra realización del proceso previo que emplea diálisis, se usan membranas de diálisis tubulares, capilares, enrolladas, o planas para
15 dicha diálisis. En otra realización del proceso previo que emplea membranas de diálisis tubulares, capilares, enrolladas, o planas en el paso g), la solución resultante del paso g) es pasada a través de un filtro con tamaño de poro entre 0.2 y 0.4 micras para producir una solución
20 estéril. Alternativamente, la solución resultante del paso g) que empleó membranas de diálisis tubulares, capilares, enrolladas, o planas es esterilizada por autoclave entre 100 y 150°C durante 5 a 60 minutos para producir una solución estéril. En otra realización del proceso anterior que emplea
25 membranas de diálisis tubulares, capilares, enrolladas, o



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

planas en el paso g), la solución resultante del paso g) es concentrada en el paso h) utilizando un aparato de diálisis de flujo que produce una solución retenida de tal manera que el volumen de la solución retenida en el aparato de diálisis se deja caer.

En otro aspecto de la invención, se proporciona una composición de producto sanguíneo que comprende una cantidad antiviral de un material polimérico fenólico sintético producido por el proceso de la invención combinado con un producto sanguíneo. En una realización de la composición del producto sanguíneo, el producto sanguíneo es sangre humana completa. En otra realización de la composición del producto sanguíneo, el producto sanguíneo son plaquetas de sangre humana. En otra realización de la composición del producto sanguíneo de plaquetas de sangre humana, la cantidad antiviral es una cantidad suficiente para reducir la actividad del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). En otra realización de la composición de producto sanguíneo de plaquetas de sangre humana, la cantidad antiviral es una cantidad suficiente para reducir la actividad de virus no envueltos. De preferencia, el virus no envuelto es parvovirus o citomegalovirus. En otra realización de la composición de producto sanguíneo, el producto sanguíneo es suero de sangre humana. En otra realización de la composición del producto sanguíneo, el producto sanguíneo es una proteína de sangre



humana. De preferencia, la proteína de sangre humana es albúmina de suero humano o gama-clobulina de suero humano. En otra realización de la composición de producto sanguíneo, el producto sanguíneo es un factor de hemofilia humano. De preferencia, el factor de hemofilia humano es factor VIII o factor IX. En otra realización de la composición del producto sanguíneo en donde el producto sanguíneo es un factor de hemofilia humano, la cantidad antiviral es suficiente para reducir la actividad del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Alternativamente, la cantidad antiviral es suficiente para reducir la actividad del virus no envuelto. De preferencia, el virus no envuelto es parvovirus o citomegalovirus.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un método para reducir la cantidad de virus en un producto sanguíneo poniendo en contacto el producto sanguíneo con una cantidad antiviral de un material polimérico fenólico sintético producido por el proceso de la invención. En una realización del método para reducir la cantidad de virus en un producto sanguíneo, el contacto consta de la ruptura estéril de un sello en una trayectoria de conexión entre dos cámaras separadas, una de las cuales contiene el producto sanguíneo en forma estéril y la otra contiene la cantidad antiviral del material polimérico fenólico sintético en forma estéril. En otra realización del método antes mencionado, el



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

contacto consta de la inyección de una solución estéril que
contiene la cantidad antiviral al producto sanguíneo. En otra
realización del método anterior, el virus es de preferencia
el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). En otra
5 realización preferida del método anterior, el virus
mencionado es el virus de Hepatitis A, virus Hepatitis B,
virus Hepatitis C, parvovirus, o citomegalovirus. En otra
realización del método anterior, se emplean uno ó más métodos
adicionales de tratamiento de sangre para reducir la
10 actividad viral. De preferencia, el método adicional de
tratamiento de sangre es el método de solvente/detergente
(SD).

En otro aspecto de la invención, se proporciona una
composición para tratar o prevenir enfermedades de humanos o
15 animales causadas por un virus que comprende una cantidad
antiviral de un material polimérico fenólico sintético
producido por el proceso de la invención y por lo menos un
portador o excipiente fisiológicamente aceptable. De
preferencia, el virus es el virus de Inmunodeficiencia Humana
20 (VIH), el virus de Herpes Simple Tipo I o Tipo II, o es un
picornavirus. De preferencia el portador o excipiente
fisiológicamente aceptable es un excipiente de solución
inyectable, un excipiente de fórmula local, un excipiente
ingerible, un excipiente de spray nasal, un excipiente de
25 inhalador con dosis medida, un excipiente supositorio vaginal



o anal, o un excipiente adecuado para desinfección o conservación de un aparato médico.

Otro aspecto de la invención proporciona una composición para tratar o prevenir enfermedades de humanos o animales provocadas por microbios comprendiendo una cantidad antimicrobiana de un material polimérico fenólico sintético producido por el proceso de la invención y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable. De preferencia el portador o excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente de solución inyectable, un excipiente de fórmula local, un excipiente ingerible, un excipiente de spray nasal de inhalador con dosis medida, un excipiente supositorio vaginal o anal, o un excipiente adecuado para la desinfección o conservación de un aparato médico. De preferencia, el aparato médico es un lente de contacto, lente intraocular, prótesis dental, aparato médico que puede implantarse como una válvula del corazón o un instrumento médico el cual tiene contacto con el cuerpo, como un endoscopio o catéter.

Breve Descripción de los Dibujos

La Figura 1 muestra el trazo de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) obtenido para el producto de ácido húmico sintético obtenido del ácido 2,5-dihidroxifenilacético (ácido homogentísico), como se describe en los Ejemplos 10 y 11;

La Figura 2 muestra el trazo de cromatografía



líquida de alto rendimiento (HPLC) obtenido para un ácido húmico natural típico disponible en el mercado;

La Figura 3 muestra la expresión p24 de células positivas de VIH cultivadas 6 y 8 días después del tratamiento con ácidos húmicos sintéticos preparados como se describe en los Ejemplos 10 y 11. También se muestran para comparación los resultados obtenidos para el ácido húmico natural que ha sido dializado y el ácido húmico natural que ha sido dializado y deshidratado por congelación. C+ y C- son los controles positivo y negativo, respectivamente.

Descripción Detallada de la Realización Preferida

Un objetivo de la presente invención es proporcionar combinaciones nuevas y mejoradas de procesos químicos para la preparación de materiales poliméricos fenólicos sintéticos, también conocidos como ácidos húmicos sintéticos, cuyas propiedades fisicoquímicas y atributos son reproducibles y los cuales simulan las propiedades de los ácidos húmicos naturales típicos disponibles en el mercado y otros extractos de suelo, los cuales no contienen sales iónicas u otros compuestos de peso molecular menor que 500 daltons, los cuales tienen un peso molecular mínimo de 500 daltons y cuyos procesos serán adecuados para ampliación escala directamente a niveles industriales que proporcionan rendimientos económicamente aceptables.

Otro objetivo de la presente invención es



proporcionar composiciones de producto sanguíneo de humanos o animales que comprenden una cantidad antiviral de un ácido húmico sintético preparado de acuerdo con los procesos anteriores.

5 Otro objetivo de la presente invención es proporcionar métodos para reducir o eliminar la cantidad de virus en productos sanguíneos de humanos o animales poniendo en contacto los productos sanguíneos con una cantidad antiviral de un ácido húmico sintético preparado de acuerdo
10 con los procesos anteriores.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar composiciones para tratar o prevenir enfermedades virales de humanos o animales comprendiendo una cantidad antiviral de un ácido húmico sintético preparado de
15 acuerdo con los procesos anteriores.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar composiciones para tratar o prevenir enfermedades microbianas de humanos o animales comprendiendo una cantidad antimicrobiana de un ácido húmico sintético
20 preparado de acuerdo con los procesos anteriores.

De acuerdo con la presente invención, los compuestos de arranque usados en los procesos químicos empleados para la producción de ácidos húmicos sintéticos son materiales conocidos que están fácilmente disponibles en el
25 mercado.



En términos generales, los procesos químicos para la preparación de ácidos húmicos sintéticos de la invención se caracterizan por los siguientes pasos:

- 5 A. Disolver el compuestos orgánico de arranque o la mezcla de compuestos orgánicos en una solución acuosa comprendiendo agua destilada o hidróxido de sodio.
- B. Ajustar el pH de la solución acuosa resultante del paso A) entre 8 y 11, si es necesario.
- 10 C. Agregar una sal de periodato alcalina o sal de periodato alcalinoterrea a la solución acuosa resultante del paso B).
- D. Mantener la temperatura de la solución resultante del paso C) entre 35 y 80°C durante un período de
15 30 minutos a 100 horas.
- E. Agregar 1 o más compuestos o sales seleccionados del grupo que consta de ácido bórico, sales de borato, sales alcalinotérreas, sales de metales de transición, sulfuros alcalinos, sulfuros
20 alcalinotérreos o sulfuros de metales de transición a la solución acuosa resultante del paso D).
- F. Dejar que la solución acuosa resultante del paso E) repose con o sin agitación a temperatura ambiente entre 2 y 48 horas.
- 25 G. Eliminar moléculas de la solución resultante del



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

paso F) abajo de 500 a 10,000 daltons.

- H. Concentrar la solución resultante del paso G).
- I. Eliminar el agua de la solución resultante del paso H), si es necesario.

5 El compuesto orgánico de arranque en el paso A) anterior puede ser uno, ó más de uno en combinación, de diferentes compuestos tomados del grupo que consta de compuestos orgánicos de arranque ilustrados en los Cuadros 1 y 2. Los compuestos orgánicos de arranque ilustrados en el

10 Cuadro 1 comprenden un solo anillo de benceno con seis substituyentes R1-R6, en donde R1-R6 puede ser uno del átomo indicado o grupos funcionales, siempre y cuando por lo menos uno de R1-R6 sea un grupo funcional de hidroxí (-HO). De preferencia, por lo menos uno de R1 y R6 es un grupo

15 funcional de hidroxí (-HO) y por lo menos uno de los substituyentes restantes R1-R6 contiene un grupo funcional de ácido caboxílico. Más preferiblemente, dos de R1-R6 son grupos funcionales de hidroxí (-HO) y uno de los substituyentes restantes R1 y R6 contiene un grupo funcional

20 de ácido carboxílico. El ácido homogentísico, el cual es ácido 2,5-dihidroxifenilacético, es un compuesto orgánico de arranque particularmente preferido.

Pueden emplearse varias concentraciones iniciales de compuestos orgánicos y arranque en agua destilada y no se

25 requieren uniformemente límites más bajos o más altos.



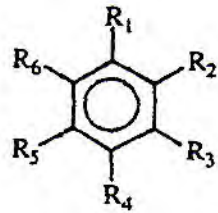
También puede emplearse una solución de concentración baja de hidróxido de sodio, como 0.1 Normal, como un diluyente para el compuesto orgánico de arranque.

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Cuadro



$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 =$

-H
 -CH₃
 -CH₂CH₃
 -(CH₂)₂CH₃
 -CH(CH₃)₂
 -OH
 -OCH₃
 -CHO
 -CO₂H
 -CO₂CH₃
 -CH₂OH
 -CH₂OCH₃
 -CH₂CHO
 -CH₂CO₂H
 -CH₂CO₂CH₃
 -(CH₂)₂OH
 -(CH₂)₂OCH₃
 -(CH₂)₂CHO
 -(CH₂)₂CO₂H
 -(CH₂)₂CO₂CH₃
 -CH(CH₃)OH
 -CH(CH₃)OCH₃
 -CH(CH₃)CHO
 -CH(CH₃)CO₂H

5

10

15

20



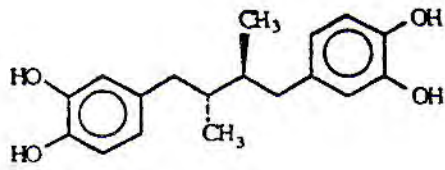
Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

CUADRO 1, CONTINUACIÓN

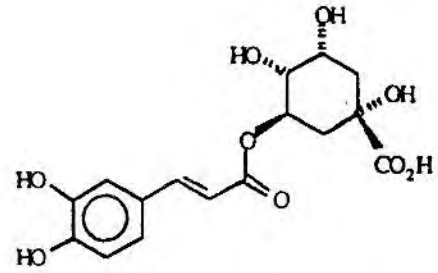
	-CH(CH ₃)CO ₂ CH ₃
	-CH(CH ₃)CH ₂ OH
	-CH(CH ₃)CH ₂ OCH ₃
	-CH(CH ₃)CH ₂ CHO
5	-CH(CH ₃)CH ₂ CO ₂ H
	-CH(CH ₃)CH ₂ CO ₂ CH ₃
	-CH(OH) ₂
	-CH(OH)OCH ₃
	-CH(OH)CHO
	-CH(OH)CO ₂ H
	-CH(OH)CO ₂ CH ₃
	-CH(OCH ₃)OH
	-CH(OCH ₃) ₂
10	-CH(OCH ₃)CHO
	-CH(OCH ₃)CO ₂ H
	-CH(OCH ₃)CO ₂ CH ₃
	-CH(OH)CH ₂ OH
	-CH(OH)CH ₂ OCH ₃
	-CH(OH)CH ₂ CHO
	-CH(OH)CH ₂ CO ₂ H
	-CH(OH)CH ₂ CO ₂ CH ₃
15	-CH(OCH ₃)CH ₂ OH
	-CH(OCH ₃)CH ₂ OCH ₃
	-CH(OCH ₃)CH ₂ CHO
	-CH(OCH ₃)CH ₂ CO ₂ H
	-CH(OCH ₃)CH ₂ CO ₂ CH ₃
	-(CH ₂) ₃ OH
	-(CH ₂) ₃ OCH ₃
	-(CH ₂) ₃ CHO
	-(CH ₂) ₃ CO ₂ H
20	-(CH ₂) ₃ CO ₂ CH ₃
	-CHCHOH (cis or trans)
	-CHCHOCH ₃ (cis or trans)
	-CHCHCHO (cis or trans)
	-CHCHCO ₂ H (cis or trans)
	-CHCHCO ₂ CH ₃ (cis or trans)
	-CH ₂ CHCHOH (cis or trans)
	-CH ₂ CHCHOCH ₃ (cis or trans)
	-CH ₂ CHCHCHO (cis or trans)
25	-CH ₂ CHCHCO ₂ H (cis or trans)
	-CH ₂ CHCHCO ₂ CH ₃ (cis or trans)

CUADRO 2

5

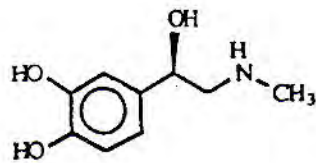


Ácido Nordihidroguayarético

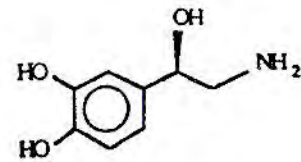


Ácido Clorogénico

10



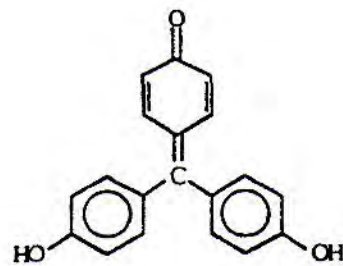
Epinefrina



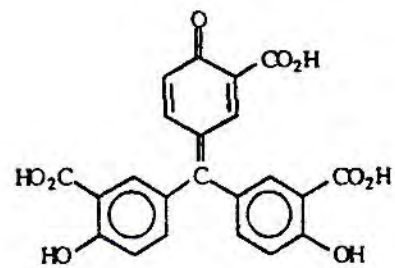
Norepinefrina

15

20



Aurino



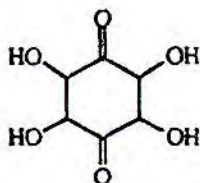
Ácido Aurintricarboxílico

25



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Cuadro 2, CONT.



Tetrahidrobenzoquinona

La concentración inicial adecuada del compuesto o compuestos
5 orgánicos de arranque es determinada por los requisitos de
rendimiento de síntesis y requisitos inherentes, tal como el
límite superior de solubilidad acuosa del compuesto o
compuestos orgánicos de arranque. Se emplean métodos
convencionales para determinar la concentración inicial
10 adecuada del compuesto o compuestos orgánicos de arranque.

El pH de la solución acuosa que contiene el
compuesto o compuestos orgánicos de arranque puede ajustarse
en el paso B) entre 8 y 11 agregando hidróxido de amonio
acuoso, u otro óxido o hidróxido alcalino acuoso, u óxido o
15 hidróxido alcalino térreo acuoso, u óxido o hidróxido
metálico acuoso de metales de transición. Además, si la
solución acuosa inicial contiene una concentración baja de



base, tal como 0.1 de hidróxido de sodio normal y el pH de la solución inicial es demasiado alto, podrá emplearse un ácido como el ácido clorhídrico para ajustar el pH al valor deseado. También podrán emplearse otros ácidos inorgánicos para el ajuste del pH. Note que si se emplea el ácido clorhídrico para ajustar el pH hacia abajo desde un valor alto inicial, debe tenerse cuidado para evitar que el pH descienda a 8. Las condiciones ácidas debajo de pH 7 deben evitarse en presencia de ácido clorhídrico para eliminar la posibilidad de formación de materiales de ácidos humicos clorados mutagénicos.

Podrá emplearse una sal de periodato alcalino o sal de periodato alcalino térreo como un oxidante o iniciador de polimerización del compuesto orgánico de arranque en el paso C). Particularmente se prefiere el periodato de sodio. La concentración de la sal de periodato alcalino o sal de periodato alcalinotérreo generalmente es entre el 10% y el 100% del compuesto o compuestos orgánicos de arranque en una base molar. De este modo, si se emplean 10 milimoles del compuesto orgánico de arranque, podrán emplearse de 1 a 10 milimoles de sal de periodato alcalino. De preferencia se emplea una concentración molar de periodato la cual es el 10%-50% de la concentración molar del compuesto o compuestos orgánicos de arranque. Más preferiblemente, se emplea una concentración molar de periodato la cual es el 25%-35% de la



concentración molar del compuesto o compuestos orgánicos de arranque. La concentración exacta que se usará puede determinarse mediante técnicas convencionales de optimización de rendimiento sintético.

5 Opcionalmente, pueden agregarse sulfuros alcalinos o alcalinotérreos o sulfuros de metales de transición a la solución acuosa inicial que contiene el compuesto o compuestos orgánicos de arranque siguiendo el paso B), e inmediatamente antes, al mismo tiempo o después de la adición
10 del periodato en el paso C). Los sulfuros contribuyen a la estructura polimérica fenólica, la estabilidad de la estructura y su actividad biológica. El nonahidrato del sulfuro de sodio es un sulfuro particularmente preferido.

 La concentración del sulfuro es generalmente entre
15 el 1% y el 20% del compuesto o compuestos orgánicos de arranque en una base molar. De este modo, se emplean 10 milimoles del compuesto orgánico de arranque, podrán emplearse de 0.1 a 2 milimoles de sulfuro. De preferencia, se emplea una concentración molar de sulfuro la cual es el 5%-
20 15% de la concentración molar del compuesto o compuestos orgánicos de arranque. Más preferiblemente, se emplea una concentración molar de sulfuro la cual es el 8% al 12% de la concentración molar del compuesto o compuestos orgánicos de arranque. La concentración exacta de sulfuro que se usará
25 puede determinarse mediante técnicas convencionales de



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

optimización de rendimiento sintético.

La solución acuosa con pH ajustado que contiene el compuesto orgánico de arranque, el periodato y el sulfuro opcional son colocados en un baño de agua u otro dispositivo de calentamiento con termostato entre 35°C y 80°C durante un período de 30 minutos a 100 horas en el paso D). Alternativamente, la solución acuosa misma puede ser termostatzada entre 35°C y 80°C durante un período de 30 minutos hasta 100 horas. La temperatura y el tiempo que se prefieren son 50° durante 30 minutos.

Después de este periodo, las sales son agregadas a la solución resultante del paso D) solas o en combinación en el paso E). Se prefieren las sales que contienen boro, calcio, y otros alcalinotérreos, hierro y otros metales de transición. Además, estas sales contribuyen a la estructura polimérica fenólica, su estabilidad y actividad biológica. Particularmente se prefieren las sales de ácido bórico o sales de borato conteniendo oro tal como el borato de sodio, como son las sales alcalinotérreas, tal como el dihidrato de sulfato de calcio y las sales de metales de transición, tal como el heptahidrato de sulfato ferroso. La concentración de cada una de las sales empleadas es generalmente entre el 0.1% y 20% del compuesto o compuestos orgánicos de arranque en una base molar. De preferencia, se emplea una concentración molar de sal la cual es el 0.2% al 10% de la concentración molar



del compuesto o compuestos orgánicos de arranque. Más preferiblemente, se emplea una concentración molar de sal la cual es el 0.2% al 2% de la concentración molar del compuesto o compuestos orgánicos de arranque. La concentración exacta que se usará puede determinarse mediante técnicas convencionales de optimización de rendimiento sintético.

La solución resultante del paso E) se deja reposar a temperatura ambiente con o sin agitación durante un período de 2 a 48 horas en el paso F). Cualquier precipitado formado en esta etapa es eliminado por centrifugación convencional.

Las moléculas son eliminadas de la solución resultante del paso F) abajo de 500 a 10,000 daltons en el paso G). Puede emplearse una variedad de técnicas convencionales conocidas tal como la cromatografía y preparación, ultrafiltración o diálisis. De preferencia las moléculas son eliminadas de la solución resultante del paso F) empleando la diálisis en el paso G) con aparato de flujo de canal abierto o membrana de criba que consta de una membrana tipo sandwich de corte de peso molecular inferior de 500-10,000 daltons hasta que la conductividad de la solución haya caído a 200 microsiemens o menos. Más preferiblemente, las moléculas son eliminadas de la solución resultante del paso F) empleando la diálisis en el paso G) hasta que la conductividad de la solución haya caído a 30 microsiemens o menos. Un dispositivo de flujo tangencial Pall Filtron



Ultrasette® o Mini-dispositivo de Flujo Tangencial
Ultrasette® usado con un sistema especializado de bomba y
depósito Pall Filtron Ultralab® se prefieren para el análisis
de la solución.

5 La conductividad de la solución procesada en el
paso G) puede ser supervisada de manera conveniente con un
medidor de flujo de conductividad y células de conductividad.
Alternativamente, puede emplearse un medidor simple combinado
de conductividad y células de conductividad, portátil,
10 económico (por ejemplo, un Nalcometer Modelo MLN).

 Antes de eliminar el agua de la solución en el paso
H) anterior, la solución resultante en el paso G) puede
además ser dializada con un aparato de flujo que consta de
una membrana de tipo sandwich de corte de peso molecular de
15 50,000 daltons. En este caso, la solución del filtrado, no la
solución retenida, es guardada para concentración y
procesamiento de acuerdo con los pasos H) y I). El producto
resultante tendrá una gama de peso molecular de 500-50,000
daltons.

20 Si la solución resultante de los pasos G) o H)
anteriores debe guardarse como una solución acuosa por
períodos prolongados para aplicación o uso posterior, por
ejemplo como una solución para tratamiento antiviral, terapia
antiviral, terapia antimicrobiana, y fertilizante en spray o
25 reparador de suelos, puede filtrarse a través de filtros



estándar de 0.2 a 0.4 micras para eliminar bacterias y virus, es decir, puede hacerse estéril por filtración.

Alternativamente, la solución acuosa de los pasos G) o H) puede esterilizarse por autoclave durante 5-60 minutos a 100-150°C para producir una solución estéril.

Un paso opcional final I) en el proceso de la presente invención implica la eliminación de agua de la solución resultante del paso H). Cuando se emplea la deshidratación por congelación como el método de eliminación de agua en el paso I), anterior, el producto resultante es un polvo ligero, suave, de color oscuro que está sujeto a efectos de electricidad estática. Para disminuir al mínimo estos efectos, puede agregarse una pequeña cantidad de manosa u otro azúcar a la solución resultante del paso H) justo antes de la deshidratación por congelación. La eliminación de agua del producto puede realizarse por otro medio distinto a la deshidratación por congelación en el paso I) anterior, tal como la evaporación de calor con o sin vacío, por evaporación giratoria, por deshidratación con rocío, o mediante alguna otra técnica de eliminación de solvente que sea conveniente, así como económica para las soluciones acuosas. El polvo deshidratado obtenido en el paso I) anterior puede ser esterilizado por autoclave durante 15-30 minutos a 100-120°C para producir un polvo estéril.

Los materiales de ácidos húmicos sintéticos



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

producidos de acuerdo con los procesos químicos y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención presentan las propiedades físicoquímicas y los atributos de los ácidos húmicos típicos que ocurren naturalmente y están disponibles en el mercado y otros extractos de suelo.

Un método fácil para examinar las características físicoquímicas del producto obtenido por los pasos del A) al H), o mediante modificaciones al mismo, es la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). El patrón dactiloscópico cromatográfico así obtenido del HPLC también ofrece un elemento conveniente para comparar un producto con otro, así como comparar cada uno de los productos sintéticos con los ácidos húmicos que ocurren naturalmente y otros materiales de extracto de suelo. El método de HPLC se usa por lo tanto para determinar la reproducibilidad de las propiedades físicoquímicas y los atributos de los materiales sintéticos poliméricos fenólicos, así como para determinar si las propiedades y los atributos antes mencionados simulan las propiedades físicoquímicas y los atributos de los ácidos húmicos típicos naturales disponibles en el mercado y otros extractos de suelo. La última determinación de simulación se realiza en forma convencional empleando HPLC; por ejemplo, comparando visual y cuantitativamente los patrones dactiloscópicos cromatográficos de HPLC de los materiales.



Los patrones dactiloscópicos de los dos materiales, uno sintético y uno natural, no tienen que ser 100% idénticos para concluir que las propiedades físicoquímicas y los atributos del material sintético polimérico fenólico simula las propiedades físicoquímicas y los atributos del ácido húmico natural. Una correspondencia aproximada entre los patrones dactiloscópicos de HPLC antes mencionados es todo lo que se requiere para concluir que el material sintético simula el material natural. En general, hasta un 75% de correspondencia visual en 2 patrones dactiloscópicos de HPLC es todo lo que se necesita para concluir que un material simula a otro. Un patrón dactiloscópico útil para materiales de extracto de suelo tanto naturales como sintéticos puede obtenerse como sigue. La columna consta de un polímero de obturación, normalmente de fase invertida PRP-1 (Hamilton Co.), con tamaño de partículas de 5 micras y teniendo 150 milímetros de longitud por 4.1 milímetros de diámetro interior. La fase móvil consta de tres soluciones. La solución A es 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso. La solución B es 0.05 Normal de amortiguador universal Prideaux, el cual se hace combinando 4.25 gramos de nitrato de sodio (NaNO_3), 12.37 gramos de ácido bórico (H_3BO_3), 23.06 gramos de ácido fosfórico (H_3PO_4), y 12.01 gramos de ácido acético ($\text{CH}_3\text{CHO}_2\text{H}$) con 4 litros de agua destilada. La solución C es 100% metanol (CH_2OH). La gradiente de fase móvil empleada



para una pasada de HPLC consta del 40% de la solución A más el 60% de la solución B al principio, cuya composición es cambiada de una manera lineal al 100% de la solución A después de 20 minutos. La fase móvil es después cambiada linealmente otra vez al 10% de la solución A más el 90% de la solución C durante los siguientes 5 minutos, cuya composición final se mantiene para el propósito de un lavado de columna durante los siguientes 35 minutos. La velocidad de flujo de la fase móvil es de 1 mililitro por minuto. El detector es visible por luz ultravioleta, el cual está ajustado en 340 nanómetros. La velocidad de diagrama normalmente es de 0.5 centímetros por minuto. El tamaño del bucle de muestra es de 5-20 microlitros. Las soluciones se preparan para análisis disolviendo 1-10 gramos de muestra deshidratada en 100 mililitros de 0.1 normal de hidróxido de sodio acuoso con pH de 8-10.

Los procesos químicos y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención son adecuados para la ampliación a escala directamente a niveles industriales que proporcionan rendimientos económicamente aceptables. Los procesos químicos y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención pueden producir rendimientos de producto sintético aproximándose al 100%. Pueden producirse aproximadamente 0.08 a 0.65 gramos de ácido húmico sintético de 10 milimoles de compuesto o



compuestos orgánicos de arranque en 300 ml. Estos procedimientos pueden ampliarse a escalas de producción farmacéutica empleando de 10,000 a 20,000 litros o más de la solución inicial que contiene el compuesto o compuestos orgánicos de arranque. Puede lograrse un rendimiento total de aproximadamente 2.7 y 21.7 kilogramos de ácido húmico sintético utilizando un tanque de acero inoxidable con revestimiento término de 10,000 litros y una concentración de compuesto orgánico de arranque de 10 milimoles por 300 ml. Un solo tratamiento antiviral puede emplear miligramos de ácido húmico sintético. 20 kilogramos de ácido húmico sintético representan 2 millones de unidades de producto antiviral en 10 mg por unidad. Incluso, en el costo de un tratamiento de \$0.10 por unidad, esto representa \$200,000 de ácido húmico sintético. Puesto que los compuestos orgánicos de arranque utilizados en la presente invención son relativamente económicos, los rendimientos de síntesis de los procesos químicos y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención son económicamente muy aceptables.

Los Ejemplos del 1 al 9 ilustran la variedad de compuestos orgánicos de arranque que pueden emplearse en el proceso de la presente invención. No se consideró necesario llevar a cabo todos los pasos del proceso de la presente invención para ilustrar la variedad de compuestos de arranque. Más particularmente, los Ejemplos del 1 al 9



ilustran todos los pasos del proceso de la invención con la excepción del paso E).

EJEMPLO 1

Preparación de un ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidroxibenzoico (ácido gentísico). En el Cuadro 1 se muestra el compuesto orgánico de arranque y consta de $R_1 = -CO_2H$, $R_2, R_5 = -OH$, y $R_3, R_4, R_6 = -H$. 1.55 gramos (10 milimoles) de ácido gentísico se disuelven en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El pH de la solución es ajustado a 8.5 con 6 Normal de HCl. 0.54 gramos de periodato de sodio ($NaIO_4$; 2.5 milimoles) se agregan y la solución se coloca en un baño de agua a 50°C durante 30 minutos. La solución se deja reposar a temperatura ambiente durante toda la noche. Cualquier precipitado es eliminado por centrifugación. La solución es dializada con un sistema de flujo de corte de canal abierto o membrana de criba de 3000 daltons (Pall Filtron: Dispositivo de Flujo Tangencial Ultrasette™ 7 o Mini-Dispositivo de Flujo Tangencial Ultrasette™ 7 Usado con un Sistema Especializado de Bomba y Depósito Pall Filtron Ultralab™ 7). A una conductividad de 30 microsiemens o menos contra el agua destilada. El aparato de diálisis después se usa para concentrar la solución a casi 200 mililitros. La solución puede guardarse en este punto para uso adicional como una solución acuosa; o puede deshidratarse por congelación a un



polvo. (Pueden agregarse 0.05-0.2 gramos de manosa u otro
 carbohidrato adecuado a la solución antes de la
 deshidratación por congelación para reducir los efectos de la
 electricidad estática asociados con el polvo deshidratado por
 5 congelación.) El rendimiento del extracto de suelo sintético
 es de 0.12 gramos.

Los siguientes ejemplos 2-9 emplean el
 procedimiento de síntesis del Ejemplo 1 comenzando con el
 ajuste de pH de la solución.

10 Ejemplo 2

Preparación de un ácido húmico sintético del ácido
 3,4-dihidroxifenilacético (ácido homoprotocatéuico). En el
 Cuadro 1 se muestra el compuesto orgánico de arranque, ácido
 de 3,4-dihidroxifenilacético, y consta de $R_1 = -CH_2CO_2H$, R_3 , R_4
 15 $= -OH$, y R_2 , R_5 , $R_6 = -H$. 1.68 gramos (10 milimoles) de ácido
 homoprotocateuico se disuelven en 300 mililitros de 0.1
 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El procedimiento
 restante es como sigue en el Ejemplo 1. El rendimiento del
 extracto de suelo sintético es de 0.24 gramos.

20 Ejemplo 3

Preparación de un ácido húmico sintético del ácido
 dl-(3,4-dihidroxifenil)hidroacético, (ácido dl-3,4-
 dihidromandélico). En el Cuadro 1 se muestra el compuesto
 orgánico de arranque, ácido dl-(3,4-dihidroxifenil)
 25 hidroxiacético, y consta de $R_1 = -CH(OH)CO_2H$, R_3 , $R_4 = -OH$, y



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

R₂, R₅, R₆ = -H. 1.84 gramos (10 milimoles) de ácido 3,4-dihidroximandélico se disuelven en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El procedimiento restante es como sigue en el Ejemplo 1. El rendimiento del extracto de suelo sintético es de 0.24 gramos.

Ejemplo 4

Preparación de un ácido húmico sintético del ácido aurintricarboxílico. La estructura química del compuesto orgánico de arranque se muestra en el Cuadro 2. 4.2 gramos (10 milimoles) de ácido aurintricarboxílico se disuelven en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El procedimiento restante es como sigue en el Ejemplo 1. El rendimiento del extracto de suelo sintético es de 4.7 gramos.

Ejemplo 5

Preparación de un ácido húmico sintético del ácido 3-(3,4-dihidroxifenil)propenóico (ácido caféico). En el Cuadro 1 se muestra el compuesto orgánico de arranque y consta de R₁ = -CHCHCO₂H, R₃, R₄ = -OH, y R₂, R₅, R₆ = -H. 1.80 gramos (10 milimoles) de ácido caféico se disuelven en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El procedimiento restante es como sigue en el Ejemplo 1. El rendimiento del extracto de suelo sintético es de 0.65 gramos.

Ejemplo 6



Preparación de un ácido húmico sintético de tetrahidroxibenzoquinona. La estructura química del compuesto orgánico de arranque se muestra en el Cuadro 2. 1.72 gramos (10 milimoles) de tetrahidroxibenzoquinona se disuelve en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El procedimiento restante es como sigue en el Ejemplo 1. El rendimiento del extracto de suelo sintético es de 0.16 gramos.

Ejemplo 7

Preparación de un ácido húmico sintético de 1,4-dihidroxibenceno (hidroquinona). En el Cuadro 1 se muestra el compuesto orgánico de arranque y consta de $R_1, R_4 = -OH$, y $R_2, R_3, R_5, R_6 = -H$. 1.10 gramos (10 milimoles) de hidroquinona se disuelven en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El procedimiento restante es como sigue en el Ejemplo 1. El rendimiento del extracto de suelo sintético es de 0.16 gramos.

Ejemplo 8

Preparación de un ácido húmico sintético del ácido 3,4,5-trihidroxibencenoico (ácido gálico). En el Cuadro 1 se muestra el compuesto orgánico de arranque y consta de $R_1 = -CH_2CO_2H$, $R_3, R_4, R_5 = -OH$, y $R_2, R_6 = -H$. 1.70 gramos (10 milimoles) de ácido gálico se disuelven en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El procedimiento restante es como sigue en el Ejemplo 1. El



rendimiento del extracto de suelo sintético es de 0.10 gramos.

Ejemplo 9

Preparación de un ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidroxifenilacético, (ácido homogentísico). En el Cuadro 1 se muestra el compuesto orgánico de arranque y consta de $R_1 = -CH_2CO_2H$, $R_2, R_5 = -OH$, y $R_3, R_4, R_6 = -H$. 1.68 gramos (10 milimoles) de ácido homogentísico se disuelven en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El procedimiento restante es como sigue en el Ejemplo 1. El rendimiento del extracto de suelo sintético es de 0.20 gramos.

Los siguientes Ejemplos del 10 al 13 ilustran todo el proceso de la presente invención incluyendo el paso E). Los Ejemplos 10-13 ilustran que los materiales de ácidos húmicos producidos de acuerdo con los procesos químicos y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención exhiben las propiedades fisicoquímicas y los atributos de los ácidos húmicos típicos que ocurren naturalmente y están disponibles en el mercado y otros extractos de suelo. Los Ejemplos 10-13 también ilustran que las indicaciones terapéuticas de los ácidos húmicos sintéticos producidos de acuerdo con los procesos químicos y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención son las indicaciones de los extractos de suelo y



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

ácidos húmicos en general, es decir para trastornos virales y enfermedades de origen inflamatorio, microbiano u otro.

Ejemplo 10

Preparación de otro ácido húmico sintético del ácido 3,5-dihidroxifenilacético, (ácido homogentísico). En el Cuadro 1 se muestra el compuesto orgánico de arranque y consta de $R_1 = -CH_2CO_2H$, $R_2, R_5 = -OH$, y $R_3, R_4, R_6 = -H$. 1.0 gramo (6 milimoles) de ácido homogentísico se disuelve en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El pH de la solución es ajustado a 8.5 con 6 Normal de HCl. 0.32 gramos de periodato de sodio ($NaIO_4$; 1.5 milimoles) y 0.12 gramos de nonahidrato de sulfuro de sodio ($Na_2S \cdot 9H_2O$; 0.5 milimoles) se agregan, y la solución se coloca en un baño de agua a $50^\circ C$ durante toda la noche. 0.001 gramos de ácido bórico (H_3BO_3 ; 0.016 milimoles), 0.021 gramos de heptahidrato de sulfato ferroso ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$; 0.075 milimoles) y 0.006 gramos de dihidrato de sulfato de calcio ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$; 0.035 milimoles) se agregan y la solución se agita durante 2 horas a temperatura ambiente. Cualquier precipitado es eliminado por centrifugación. La solución es dializada con un sistema de flujo de corte de canal abierto o membrana de criba de 3000 daltons (Pall Filtron: Dispositivo de Flujo Tangencial Ultrasette® 7 o Mini-Dispositivo de Flujo Tangencial Ultrasette® 7 Usado con un Sistema Especializado de Bomba y Depósito Pall Filtron Ultralab® 7). A una conductividad de 30



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

microsiemens o menos contra el agua destilada. El aparato de
diálisis después se usa para concentrar la solución a casi
200 mililitros. La solución puede guardarse en este punto
para uso adicional como una solución acuosa; o puede
5 deshidratarse por congelación a un polvo. (0.05-0.2 gramos de
manosa u otro carbohidrato adecuado pueden agregarse a la
solución antes de la deshidratación por congelación para
reducir los efectos de la electricidad estática asociados con
el polvo deshidratado por congelación.) El rendimiento del
10 extracto de suelo sintético es de 0.23 gramos. El trazo de
HPLC del extracto de sodio sintético obtenido en este ejemplo
se ilustra en la Figura 1. Los picos 1-6 son producidos por
este ejemplo. El pico 5 está abajo del punto de infección del
pico 4 y no está abiertamente aparente. Un primer derivado
15 matemático de la señal del detector contra el tiempo puede
mostrar más claramente el pico 5. La Figura 2 muestra el
trazo de HPLC de un ácido húmico natural típico disponible en
el mercado. El pico 6 en las Figuras 1 y 2 es producido por
un lavado de columna con 90-100% v/v de metanol y también
20 contiene ácido húmico sintético. Puede verse que con la
excepción de las cantidades relativas de material en los
picos 2, 4 y 6, el resto de los trazos de HPLC en las Figuras
1 y 2 son esencialmente equivalentes. De este modo, el
procedimiento sintético de la presente invención produjo un
25 material de ácido húmico con características fisicoquímicas



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

que son esencialmente equivalentes a las características de un extracto de suelo disponible en el mercado.

EJEMPLO 11

Preparación de otro ácido humico sintético del ácido 2,5-dihidroxifenilacetico (ácido homogentísico). En el Cuadro 1, se muestra el compuesto orgánico de arranque y consta de $R_1 = -CH_2CO_2H$, $R_2, R_5 = -OH$, y $R_3, R_4, R_6 = -H$. 1.68 gramos (10 milimoles) de ácido homogentísico se disuelven en 300 mililitros de 0.1 Normal de hidróxido de sodio acuoso (NaOH). El pH de la solución se ajustó a 8.5 con 6 Normal de HCl. 0.75 gramos de periodato de sodio ($NaIO_4$; 3.5 milimoles) y 0.24 gramos de nonahidrato de sulfuro de sodio ($Na_2S \cdot 9H_2O$; 1 milimol) se agregan, y la solución se coloca en un baño de agua a 50°C durante toda la noche. 0.006 gramos de ácido bórico (H_3BO_3 ; 0.1 milimol), 0.28 gramos de heptahidrato de sulfato ferroso ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$; 1 milimol), y 0.017 gramos de dihidrato de sulfato de calcio ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$; 0.1 milimol) se agregan y la solución se agita durante 48 horas a temperatura ambiente. Cualquier precipitado es eliminado por centrifugación. La solución es dializada con un sistema de flujo de corte de canal abierto o membrana de criba de 3000 daltons (Pall Filtron: Dispositivo de Flujo Tangencial Ultrasette™ 7 o Mini-Dispositivo de Flujo Tangencial Ultrasette™ 7 Usado con un Sistema Especializado de Bomba y Depósito Pall Filtron Ultralab™ 7). El aparato de diálisis



después se usa para concentrar la solución a un caso 200
mililitros. La solución puede guardarse en este punto para
uso adicional como una solución acuosa; o puede deshidratarse
por congelación a un polvo. (Pueden agregarse 0.05-0.2 gramos
5 de manosa u otro carbohidrato adecuado a la solución antes de
la deshidratación por congelación para reducir los efectos de
la electricidad estática asociados con el polvo deshidratado
por congelación.) El rendimiento del extracto de suelo
sintético es de 0.47 gramos. El trazo de HPLC del extracto de
10 suelo sintético obtenido en este Ejemplo es idéntico el que
se describe en el Ejemplo 10 y se ilustra en la Figura 1.

EJEMPLO 12

Propiedades antivirales del ácido húmico sintético
preparado de acuerdo con los Ejemplos 10 y 11. Varios cientos
15 de miligramos de ácido húmico sintético se preparan de
acuerdo con los procedimientos de los Ejemplos 10 y 11. Las
propiedades antivirales de estos materiales se valoraron de
acuerdo con los siguientes métodos:

Las células Jurkat obtenidas de la Recolección de
20 Cultivo Tipo Americano (Rockville, Maryland) son
subcultivadas cada quinto día usando un medio RPMI-1640
complementado con 2 milimolares de L-glutamina y 15% en
volumen de suero de bovino fetal (FBS). Los recuentos de
células son determinados con un contador de partículas
25 Coulter (Coulter Corporation, Hialeah, Florida). Las células



son infectadas con una construcción de plasmido de VIH-1, pNL4-3 (A. Adachi, H. E. Gendleman, S. Koenig, T. Folks, R. Willey, A. Rabson, y M.A. Martin, J. Virol. 1986, 59, 284-291; los cultivos de células por lo tanto tratados producen altos niveles de VIH-1, aproximadamente 1×10^7 partículas por mililitro, medido por microscopia electrónica). Las células infectadas son después cultivadas en un medio completo comprendido de RPMI-1640 complementado con 2 milimolares de L-glutamina, 15% en volumen de suero de becerro fetal y 1% en volumen de Pen-Strep (100 Unidades de Penicilina y 100 miligramos de Estreptomicina por mililitro). Las células son supervisadas por aproximadamente cuatro semanas antes de su uso con el fin de asegurar una producción estable de VIH-1.

Antes de probar la eficacia antiviral del ácido húmico sintético, primero se prueba la materia flotante del cultivo de células Jurkat para producción de VIH-1 p24 a fin de establecer una línea de base pretratamiento. Después de confirmar el nivel de producción de virus, el medio de crecimiento es cambiado y el número de células es ajustado a 1.5×10^6 células por mililitro. Después, dos días antes de administrar el ácido húmico sintético que se probará, se mezclan volúmenes iguales de células transfectadas con células normales, no tratadas para llevar el nivel de producción de virus dentro de la gama del inmunoensayo de



VIH-1 p24. Después de 24 horas, se agrega una cantidad conocida de ácido húmico sintético a la mezcla de células. La determinación de la expresión de VIH-1 p24 después de un número determinado de días posteriores a la administración de ácido húmico sintético se realiza con un ensayo de fase sólida diseñado para antígenos de VIH-1 (HIVAG-1; Abbott Laboratories, Diagnostic Division, Abbott Park, Illinois; elector ELISA Quantum II de Abbott y módulo de reducción de datos 1.21).

La Figura 3 muestra el efecto del ácido húmico sintético preparado como se describe en los Ejemplos 10 y 11 en la expresión p24 de las células positivas de VIH según lo medido de acuerdo con los procedimientos del Ejemplo 12. El Ejemplo 11a en la Figura 3 se preparó exactamente de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 11. El Ejemplo 11b en la Figura 3 se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 11 con el paso adicional de deshidratación por congelación de la solución final. Se muestran para comparación los resultados obtenidos con ácido húmico natural que se sometió a diálisis como se describe en los Ejemplos 1-11; y ácido húmico natural que se sometió a diálisis con deshidratación por congelación subsecuente como se describe en los Ejemplos 1-11. Los resultados muestran reducciones considerables en la expresión p24 para todas las muestras. Además, en el día 12, no se detectó ninguna expresión p24



dentro del error experimental del método (ninguno mayor que el control C-).

EJEMPLO 13

Toxicidad del ácido húmico sintético preparado de acuerdo con el Ejemplo 10. Varios cientos de miligramos de ácido húmico sintético se preparan de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 10.

Cinco unidades de 450 mililitros cada una de sangre humana completa son recolectadas en sistemas CP2D/AS-3 Leukotrap RC-PL. la sangre se deja reposar durante 3 horas a temperatura ambiente. Cada muestra es pesada y después centrifugada a 2820 revoluciones por minuto (2312 gravedades) durante 3 minutos, 44 segundos. Las muestras de sangre son después expresadas a través de filtros ATS-LPL en bolsas de almacenamiento de plaquetas. El tiempo de filtración es anotado. El LR-PRP es centrifugado a 3600 revoluciones por minuto (3768 gravedades) durante 7 minutos. Casi 55 gramos de plasma deficiente de plaquetas son eliminados de cada muestra. Los concentrados en plaquetas se dejan reposar durante 90 minutos a temperatura ambiente y después son pesados y colocados en una incubadora de plaquetas. Los filtros RCM1 son cebados con solución AS-3. Las bolsas primarias son colgadas a una altura de 60 pulgadas arriba de las bolsas AS-3 vacías, de tal manera que ocurra la filtración por gravedad. El tiempo de filtración es anotado y



los sistemas LR-RCC, son cerrados herméticamente 3 pulgadas
abajo de los de los filtros RCM1. Cada filtro RCM1 junto con
6 pulgadas de tubería y el LR-RCC, incluyendo el segmento de
tubo de identificación del donante, son pesados. Las muestras
5 son tomadas en este punto para prueba posterior a la
filtración (LR-RCC). En el día 1, se agrega ácido húmico
sintético suficiente a cada concentrado de plaquetas para
hacer que su concentración sea de 25 microgramos por
mililitro. Los concentrados de plaquetas tratados son después
10 incubados en una incubadora de plaquetas durante 1 hora,
después de lo cual las muestras de cada concentrado de
plaquetas son tomadas para prueba. También se toman muestras
subsecuentes en el día 5 para pruebas posteriores.

El Cuadro 3 muestra el efecto del ácido húmico
15 sintético preparado como se describe en el Ejemplo 10, en la
viabilidad de los concentrados de plaquetas según lo medido
de acuerdo con los procedimientos de este Ejemplo. Los
resultados son nominales, es decir, el ácido húmico sintético
no tiene ningún efecto en la viabilidad de las plaquetas (es
20 decir, no es tóxico). Estos resultados son particularmente
dignos de mención, ya que se sabe que en las plaquetas
sanguíneas son sensibles a una variedad de agentes químicos.
Es por esta razón que están disponibles pocos tratamientos
seguros antivirales para las plaquetas sanguíneas.



Los Ejemplos 12 y 13 ilustran que los ácidos húmicos sintéticos preparados de acuerdo con los procesos y procedimientos de separación y aislamiento anteriores de la presente invención pueden combinarse en cantidades antivirales con productos sanguíneos para formar composiciones de productos sanguíneos. Pueden agregarse ácidos húmicos sintéticos en cantidades antivirales a productos sanguíneos de humanos o animales, tal como sangre completa, plasma de sangre, plaquetas sanguíneas u otros productos sanguíneos conteniendo fracciones de sangre, como el factor VIII de hemofilia, factores IX y V, de hemofilia, albúmina, IgG, IgM u otras proteínas de sangre o materiales de sangre para reducir o eliminar la actividad viral. Pueden agregarse ácidos húmicos sintéticos en cantidades antivirales a productos de sangre tanto líquidos, como sólidos. El ácido húmico sintético tendrá aplicación a materiales de sangre incluyendo todos los materiales de sangre donde se aplica el tratamiento de solvente/detergente (SD). En contraste directo con el tratamiento SD, el cual es el eficaz para virus no envueltos, el ácido húmico sintético preparado de acuerdo con la presente invención tiene actividad antiviral contra virus de lípidos envueltos y no envueltos y de este modo tiene aplicación más amplia. Con respecto a las cantidades antivirales de ácidos húmicos, se sabe, a partir del arte anterior, que una cantidad antiviral de ácido húmico



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

sintético es una cantidad que es útil para reducir o eliminar la actividad viral. Generalmente, una cantidad antiviral útil en las composiciones de productos sanguíneos para reducir o eliminar la actividad viral en composiciones líquidas de productos sanguíneos es una concentración de ácido húmico sintético entre 5 y 1000 microgramos por mililitro de composición líquida de producto sanguíneo. Esta misma gama de concentración se aplica a composiciones sólidas de productos sanguíneos que contienen ácido húmico sintético deshidratado al disolver la solución antes del uso. La cantidad exacta que se utilizará para reducir o eliminar la actividad viral depende del virus en particular y el producto sanguíneo y puede determinarse con procedimientos de prueba antivirales convencionales conocidos en el arte. La sangre completa, el plasma de sangre u otros productos sanguíneos supuestamente contaminados o contaminados con VIH o virus de hepatitis pueden ser modificados, por ejemplo, con la adición de 10 a 200 microgramos por mililitro de ácido húmico sintético. Los Ejemplos 14 y 15 ilustran las composiciones de productos sanguíneos que contienen cantidades antivirales de ácido húmico sintético preparado de acuerdo con los procesos y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención.



Tabla 3

No. de Unidad	pH a 22°C		pCO ₂ , mm Hg		pO ₂ , mm Hg		HCO ₃ , mmol/L		MPV, fl	
	Día 1	Día 5	Día 1	Día 5	Día 1	Día 5	Día 1	Día 5	Día 1	Día 5
1	7.466	7.394	19.3	12.8	33.5	44.4	16.8	9.5	7.0	6.6
2	7.321	7.215	21.6	14.3	9.9	22.2	13.8	7.3	6.7	6.3
3	7.320	7.276	24.4	16.6	10.3	21.3	15.6	9.7	6.7	6.5
4	7.368	7.308	20.7	14.3	13.4	22.2	14.6	8.9	6.5	6.3
5	7.457	7.454	20.1	13.8	23.7	29.0	17.1	11.6	7.7	7.4
Media	7.386	7.329	21.2	14.4	18.2	27.8	15.6	9.4	6.9	6.6
Desviación Estándar	0.071	0.095	2.0	1.4	10.2	9.8	1.4	1.5	0.5	0.6

10 No. de Unidad	Producción de WBC, x 10 ⁵ Día 1		Producción de Plaquetas, x 10 ¹⁰ Día 1		Flujo Día 1		%ESC Día 1		%HRS Día 1		Lactato, mmol/L Día 1	
	Día 1	Día 5	Día 1	Día 5	Día 1	Día 5	Día 1	Día 5	Día 1	Día 5	Día 1	Día 5
1	0.1	8.3	9.0	3	3	24.2	16.9	78.0	64.0	5.1	12.1	
2	0.2	14.5	14.2	3	3	27.5	20.3	81.7	71.5	6.6	13.4	
3	0.4	13.3	13.4	3	3	28.7	26.3	81.7	79.4	6.3	12.4	
4	0.3	11.7	12.3	3	3	22.1	19.2	81.7	77.1	6.6	13.1	
5	0.3	8.9	9.1	3	3	19.1	14.4	74.7	70.2	4.5	9.7	
Media	0.3	11.3	11.6	3.0	2.8	24.3	19.4	79.5	72.4	5.8	12.1	
Desviación Estándar	0.1	2.7	2.4	0.0	0.4	3.9	4.5	3.1	6.1	1.0	1.4	

5



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Ejemplo 14

Composición de sangre humana completa conteniendo 25 ug/mililitro de un ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidroxifenilacético (ácido homogentísico). La composición de producto sanguíneo es como sigue:

Sangre humana completa: 1 litro

Ácido húmico sintético: 25 mg

Ejemplo 15

Composición de factor VIII de hemofilia humana conteniendo un ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidroxifenilacético (ácido homogentísico). La composición de producto sanguíneo es como sigue:

Factor VIII de hemofilia humana: vial* de 1-5 ml

Ácido húmico sintético: 125 ug

*Nota: Este es un vial que contiene concentrado estéril de factor VIII liofilizado altamente purificado propuesto para dilución con 5ml de solución salina inyectable estéril y conteniendo 3900 unidades (IU) de factor VIII en una concentración de 100 IU/mg de proteína.

Los ácidos húmicos sintéticos preparados de acuerdo con los procesos anteriores y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención pueden utilizarse en cantidades antivirales como se define anteriormente en métodos para reducir o eliminar la cantidad



de virus en productos sanguíneos de humanos o animales. Generalmente, estos métodos implican de alguna manera el contacto del producto sanguíneo con una cantidad antiviral de ácido húmico sintético. Pueden emplearse varios elementos de contacto, como la inyección directa de una solución estéril 5 conteniendo la cantidad antiviral al producto sanguíneo. Un método particularmente preferido implica el uso de la llamada tecnología "bolsa dual" para soluciones intravenosas. Este método emplea una bolsa de plástico con dos cámaras separadas 10 y una trayectoria de conexión entre ellas. Las dos cámaras pueden variar en volumen y la relación de volumen entre ellas. Las dos cámaras pueden contener dos fármacos diferentes o con el propósito de emplear la presente invención, un producto sanguíneo en una cámara y el ácido 15 húmico sintético en la otra cámara. La trayectoria de conexión está cerrada hasta que el producto está listo para usarse. La trayectoria puede abrirse con un conjunto de válvulas o rompiendo un sello entre las dos cámaras. El sello normalmente se rompe sin comprometer la esterilidad de los 20 productos en ambas cámaras. La tecnología de bolsa dual para solución estéril está disponible por Abbott Laboratories en Illinois, McGaw en California y otras compañías. Alternativamente, puede ponerse en contacto un producto sanguíneo con una cantidad antiviral de ácido húmico 25 sintético durante el procesamiento del producto sanguíneo



antes del paso de procesamiento final o incluyendo el mismo en donde el producto sanguíneo es colocado dentro de su recipiente definitivo para uso del paciente. Debido a la naturaleza no tóxica del ácido húmico sintético según lo
5 preparado en el presente, no es necesario separar el ácido húmico del producto sanguíneo antes del uso del producto sanguíneo. Ya se ha revelado en el presente que es necesario separar los detergentes en el método de tratamiento de sangre de solvente/detergente (SD) del producto sanguíneo utilizando
10 extracción con soya o aceite de ricino y cromatografía en resina C18. Los métodos para reducir o eliminar la cantidad de virus en los productos sanguíneos de humanos empleando ácido húmico sintético tienen una ventaja adicional sobre los métodos SD en que a diferencia de los métodos SD, pueden
15 desactivarse los virus tanto envueltos por lípidos, como no envueltos. Además, a diferencia de varios tratamientos térmicos o la irradiación de luz ultravioleta de productos sanguíneos, esencialmente no se observa ninguna pérdida de producto sanguíneo con los métodos y tratamiento de ácido
20 húmico sintético. Los métodos para reducir o eliminar la cantidad de virus en productos sanguíneos empleando ácido húmico sintético pueden combinarse con el método de tratamiento de sangre de solvente/detergente (SD) u otros métodos de tratamiento de sangre, incluyendo tratamientos
25 térmicos, irradiación de luz ultravioleta de otros métodos.



Uno o más de los métodos de tratamiento de sangre antes mencionados pueden combinarse con el método de tratamiento del ácido húmico.

El Ejemplo 16 ilustra que los ácidos húmicos sintéticos preparados de acuerdo con los procesos anteriores y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención pueden utilizarse en cantidades antivirales en los métodos para reducir la cantidad de virus en productos sanguíneos de humanos.

10 Ejemplo 16

Método para la reducción de la cantidad de virus en bolsas de sangre humana con el uso del ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidrofénilacético (ácido homogentísico). Las propiedades antivirales del material de ácido húmico sintético preparado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 10 se valoran de acuerdo con los siguientes métodos: En este Ejemplo, el Virus de Diarrea Viral de Bovino (BVDV) se utiliza como un virus indicador para la actividad antiviral. BVDV es un virus envuelto por lípidos y se sabe que es un excelente virus indicador para la actividad antiviral, incluyendo la actividad del Virus de Inmunodeficiencia Antihumana. Se prepara un extracto de virus valorado de BVDV en un TCID 50 de $10E-7$. Se obtienen doce bolsas de sangre conteniendo plaquetas de sangre (una para cada concentración de ácido húmico, 0,10,50 y 100 ug/ml, en



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

triplicado). El método para la reducción de la cantidad de virus en las bolsas de sangre humana con el uso de ácido húmico sintético implica una adición simple de una cantidad volumétrica estéril de ácido húmico sintético de solución acuosa a cada bolsa de sangre. Específicamente, una alícuota líquida y estéril de una concentración de 100 ug/ml de ácido húmico sintético en agua destilada se agrega a cada bolsa de sangre conteniendo entre 40 y 60 ml de producto sanguíneo, de tal manera que la concentración final de ácido húmico sea de 10, 50 ó 100 ug/ml. Se toman muestras de las bolsas en los siguientes intervalos: T0 horas como un control previo a la inoculación; T1 hora después de la inoculación con el extracto de virus (en T1 hora posterior a la inoculación, se agrega el ácido húmico); en T2 horas después de la inoculación, se extrae otra muestra. Se extraen muestras adicionales en T24 horas, T72 horas y T120 horas. Se preparan cultivos de virus cuantitativos de las muestras extraídas y se determinan los TCID 50s y reducciones de registros resultantes para cada concentración de ácido húmico. Los resultados de la prueba muestran que el ácido húmico sintético preparado de acuerdo con la presente invención puede usarse satisfactoriamente en los métodos para reducir la cantidad de virus en los productos sanguíneos de humanos.

El ácido húmico sintético preparado de acuerdo con los procesos anteriores y los procedimientos de separación y



aislamiento de la presente invención puede utilizarse en cantidades antivirales en composiciones para tratar o prevenir enfermedades virales de humanos o animales. Las composiciones que contienen ácido húmico sintético son adecuadas para tratar o prevenir enfermedades virales de humanos o animales por las cuales se ha demostrado que los materiales de ácido húmico natural son útiles. De este modo, las composiciones de ácido húmico sintético son adecuadas para tratar o prevenir enfermedades humanas causadas por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH); virus de Herpes Simple y otros virus humanos. Las composiciones de ácido húmico sintético también son adecuadas para tratar o prevenir enfermedades causadas por toda la familia de picornavirus incluyendo los cinco géneros de virus conocidos actuales: (1) aftovirus, (2) cardiovirus, (3) hepatovirus (previamente clasificados como enterovirus), (4) reñterovirus (los cuales principalmente constituyen una combinación de los rinovirus y enterovirus anteriores), y (5) un nuevo género, con un solo representante a la fecha, el ecovirus 22. Pueden prepararse composiciones adecuadas para varias vías de administración y enfermedades virales en particular. Puede determinarse una cantidad antiviral de ácido húmico sintético para una enfermedad viral en particular a partir de la cantidad antiviral conocida del ácido húmico natural la cual se sabe que es útil para la misma enfermedad viral en particular.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Puede prepararse una variedad de composiciones comprendiendo un cantidad antiviral de ácido húmico sintético y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable. Pueden prepararse con excipientes y métodos conocidos composiciones que comprendan excipientes fisiológicamente aceptables adecuados para inyección intravenosa, inyección intramuscular, aplicación local, ingestión oral, administración nasal por spray, administración por inhalación de dosis medida y administración vaginal y anal por medio de supositorios. Los Ejemplos 17-21 ilustran las composiciones anteriores.

EJEMPLO 17

Composición de solución inyectable para tratar la infección del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) conteniendo una cantidad antiviral de ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidroxifenilacético (ácido homogentísico) y excipientes de solución inyectable:

Cloruro de sodio	9.00 gramos
Ácido húmico sintético	500 miligramos
Agua destilada	cantidad suficiente a 1 litro

El pH de la solución anterior puede además ajustarse a 7.4 con 1 Normal de hidróxido de sodio antes de agregar toda el agua. Esta composición de solución inyectable puede prepararse mediante métodos convencionales para preparar soluciones estériles inyectables.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

EJEMPLO 18

Composición de unguento local para tratar la infección por el virus humano de herpes simple (HSV-I o HSV-II) conteniendo una cantidad antiviral de ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidroxifenilacético (ácido homogentísico) y excipientes de fórmula local:

Ácido húmico sintético	3.0 gramos
Alcohol de cetostearilo	27 gramos
Parafina líquida	20 gramos
Parafina suave blanca	50 gramos

EJEMPLO 19

Composición de crema local para tratar la infección por el virus humano de herpes simple (HSV-I o HSV-II) conteniendo una cantidad antiviral de ácido húmico sintético de 2,5-dihidroxifenilacético (ácido homogentísico) y excipientes de fórmula local:

Ácido húmico sintético	2.4 gramos
Alcohol de cetostearilo	5 gramos
Parafina líquida	50 gramos
Agua destilada	agregar a 100 gramos

EJEMPLO 20

Composición de solución local para tratar la infección por el virus humano de herpes simple (HSV-I o HSV-II) conteniendo una cantidad antiviral de ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidroxifenilacético (ácido



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

homogentísico) y excipientes de fórmula local:

	Ácido húmico sintético	2.4 gramos
	Sulfuro de sodio	1.0 gramos
	Azufre coloidal	1.4 gramos
5	Cloruro de sodio	2.2 gramos
	Sorbato de potasio	0.2 gramos
	Agua destilada	cantidad suficiente a 100 ml

Note que la composición anterior contiene la misma cantidad de ácido húmico revelado por Wagner en la patente alemana DE 3830333

EJEMPLO 21

Composición de tableta ingerible para tratar la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) conteniendo una cantidad antiviral de ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidroxifenilacético (ácido homogentísico) y excipientes de tableta ingerible:

	Ácido húmico sintético	500 mg
	Mentol	3.6 mg
	Cloruro de cetilpiridinio	1.4 mg
20	Sabor cereza	100 mg
	Glucosa	500 mg
	Sacarosa	500 mg

También pueden agregarse otros excipientes a la composición anterior. Pueden usarse colorantes como Rojo N° 33 D&C, Rojo N° 40 FD&C y otros colorantes. También pueden utilizarse



otros agentes saborizantes en fórmulas de tabletas así como conservadores distintos al cloruro de cetilpiridinio. Los excipientes antes mencionados así como otros excipientes no mencionados se conocen en el arte y pueden emplearse en cantidades previamente usadas en fórmulas para tabletas. La composición del Ejemplo 21 también es útil para tratar el resfriado común, el cual es causado por miembros de la familia de rinovirus. Las composiciones nasales en spray que contienen ácido húmico sintético también son particularmente útiles para tratar el resfriado común.

Pueden prepararse con excipientes y métodos conocidos composiciones que comprendan excipientes fisiológicamente aceptables adecuados para desinfección y conservación de aparatos médicos. Una variedad de aparatos médicos que tienen contacto con el cuerpo pueden desinfectarse o conservarse con composiciones que contienen ácido húmico sintético. Estos aparatos médicos pueden desinfectarse o conservarse antes o después del contacto corporal para evitar infecciones virales. Los lentes de contacto, lentes intraoculares, prótesis dentales, aparatos médicos que pueden implantarse, como válvulas del corazón e instrumentos médicos los cuales tienen contacto con el cuerpo, como endoscopios y catéteres, pueden desinfectarse o conservarse con composiciones que contienen ácido húmico sintético.



El ácido húmico sintético preparado de acuerdo con los procesos anteriores y los procedimientos de separación y aislamiento de la presente invención pueden utilizarse en cantidades antimicrobianas en composiciones para tratar o prevenir enfermedades microbianas de humanos o animales. Con respecto a las cantidades antimicrobianas de ácidos húmicos, se sabe que una cantidad antimicrobiana de ácido húmico sintético es una cantidad que, a partir del arte previo mencionado en el presente, es útil en la reducción o eliminación de la actividad microbiana. Generalmente, una cantidad antimicrobiana útil en las composiciones para reducir o eliminar la actividad microbiana en composiciones de productos líquidos es una concentración de ácido húmico sintético entre 50 y 2000 microgramos por mililitro de composición del producto líquido. Esta misma gama de concentración se aplica a composiciones de productos sólidos conteniendo ácido húmico sintético deshidratado en la disolución en la solución antes del uso. Cronje y otros, Estados Unidos 4,999,202, revela composiciones bactericidas o bacteriostáticas comprendiendo ácido húmico con concentraciones más altas. Las concentraciones empleadas por Cronje y otros también pueden emplearse en el presente. La cantidad exacta que se utilizará para reducir o eliminar la actividad microbiana depende del microorganismo en particular y el producto y puede determinarse con procedimientos de



prueba antimicrobianos convencionales conocidos en el arte. Los ácidos húmicos sintéticos de la presente invención tienen actividad antimicrobiana comparable con la actividad de los ácidos húmicos naturales y otros ácidos húmicos sintéticos mencionados en el presente. De este modo, los ácidos húmicos sintéticos de la presente invención tendrán actividad contra *cryptosporidium species*, *C.albicans*, *Ent. cloacae*, *Prot. vulgaris*, *Ps. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *St. aureus*, *St. epidermidis*, *Str. pyrogenes*, *Str. Mutans*, *E. coli* y otros organismos. Puede prepararse una variedad de composiciones comprendiendo una cantidad antimicrobiana de ácido húmico sintético y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable. Pueden prepararse con excipientes y métodos conocidos composiciones que comprendan excipientes fisiológicamente aceptables adecuados para inyección intravenosa, inyección intramuscular, aplicación local, ingestión oral, administración nasal por spray, administración por inhalación de dosis medida y administración vaginal y anal con supositorios. Las composiciones locales de los Ejemplos 18-20 también tienen actividad antimicrobiana e ilustran las composiciones antimicrobianas. Con excipientes y métodos conocidos pueden prepararse composiciones que comprenden excipientes fisiológicamente aceptables adecuados para la desinfección y conservación de aparatos médicos, tal como lentes de



contacto. Una variedad de aparatos médicos que tienen
contacto con el cuerpo pueden desinfectarse o conservarse con
composiciones que contienen ácido húmico sintético. Estos
aparatos médicos pueden ser desinfectados o conservados antes
5 o después del contacto corporal para evitar infecciones
microbianas. Los lentes de contacto, lentes intraoculares,
prótesis dentales, aparatos médicos que pueden implantarse
tal como válvulas del corazón e instrumentos médicos que
tienen contacto con el cuerpo tal como endoscopios y
10 catéteres pueden desinfectarse o conservarse con
composiciones que contienen ácido húmico sintético. El
Ejemplo 22 el cual sigue es una ilustración de una
composición adecuada para la desinfección y conservación de
lentes de contacto. El Ejemplo 22 ilustra una botella con
15 solución de uso múltiple para desinfectar, conservar
(almacenar), limpiar, enjuagar y rehumedecer lentes de
contacto. Esta solución proporciona la actividad de
desinfección antibacteriana requerida por los lineamientos de
eficacia de desinfección de la Fondo de Ahorros de los
20 Estados Unidos para soluciones de lentes de contacto. Esta
solución es no tóxica y es extremadamente cómoda para el ojo
y por lo tanto puede colocarse en forma directa en el ojo del
usuario sin tener que enjuagar con solución salina por
separado. La solución puede usarse con todos los lentes de
25 contacto, tal como lentes convencionales, duros, blandos,



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

rígidos, permeables al gas y de silicona, pero de preferencia se emplea con lentes blandos, como los que se conocen comúnmente como lentes de hidrogel preparados de monómeros como hidroxietilmetacrilato, vinilpirrolidona, glicerolmetacrilato, ácido metacrílico o ésteres ácidos y similares. Las enzimas proteolíticas usadas para limpiar lentes de contacto, tal como se revela en la Patente de los Estados Unidos N° 5,356,555, también pueden combinarse con soluciones de uso múltiple para lentes de contacto conteniendo ácido húmico sintético preparado de acuerdo con los métodos de la presente invención. Los métodos para combinar las enzimas proteolíticas con ácido húmico sintético conteniendo soluciones de uso múltiple y las cantidades de enzima y excipientes que se emplearán son los mismos como se revela en la Patente de los Estados Unidos N° 5,356,555 la cual se incorpora en el presente como referencia. Generalmente, para los propósitos de la presente invención, una solución acuosa conteniendo de 0.0010 w/v% a menos de o igual a 0.0100 w/v% del agente desinfectante a base de ácido húmico sintético, puede usarse como una solución de uso múltiple para lentes de contacto. Las soluciones de uso múltiple para lentes de contacto que contienen ácido húmico sintético preparado de acuerdo con los métodos de la presente invención tienen ventajas sobre las soluciones de uso múltiple para lentes de contacto del arte anterior que



contienen otros agentes desinfectantes. Las soluciones de uso múltiple que contienen ácido húmico sintético logran una eficacia de desinfección igual o mayor, proporcionando al mismo tiempo mayor comodidad para el usuario de los lentes de contacto. Esto es un resultado de la citotoxicidad o toxicidad inherentemente más baja de los agentes desinfectantes que contienen ácido húmico sintético en comparación con los agentes desinfectantes del arte anterior los cuales actualmente se usan para soluciones de uso múltiple para lentes de contacto. Las ventajas del ácido húmico sintético para aplicaciones de lentes de contacto también son un resultado de su naturaleza aniónica y polimérica neutral. Las soluciones de uso múltiple actuales para lentes de contacto contienen agentes desinfectantes poliméricos catiónicos, tal como polihexametilenbiguanida (PHMB) y policuaternio 1 los cuales tienen una afinidad mucho más alta para los polímeros inherentemente neutrales a aniónicos de lentes de contacto. Sin embargo, el ácido húmico sintético preparado de acuerdo con la presente invención es un material de color. Las soluciones en una concentración de 0.0025% w/v% son de color café muy claro. De este modo. Por razones cosméticas, no todas las soluciones pueden ser aceptables. Sin embargo, debido a que son polímeros neutrales a aniónicos, el ácido húmico sintético tendrá una afinidad baja para materiales plásticos y por lo tanto los materiales



no serán detenidos si las composiciones de ácido húmico sintético están formuladas de manera correcta.

EJEMPLO 22

Una botella de solución de uso múltiple para desinfectar, conservar (almacenar), limpiar, enjuagar y rehumedecer lentes de contacto conteniendo una cantidad antimicrobiana de ácido húmico sintético del ácido 2,5-dihidroxifenilacético (ácido homogentísico).

La solución acuosa tiene la siguiente composición:

Ingrediente	w/v%
Ácido húmico sintético	0.0025
Disodio de edetato, USP	0.050
Hidroxipropilmetilcelulos	0.20
Ácido bórico, NF	0.39
Decahidrato de borato de sodio, NF	0.20
Cloruro de sodio, USP	0.40
Plurónico F-127	0.10
pH ajustado con NaOH o HCl	7.4

mientras que esta invención se ha descrito total y completamente con énfasis especial en varios ejemplos, debe entenderse que dentro del alcance de las Reivindicaciones adjuntas, esta invención puede ser practicada de otra manera como se describe antes específicamente.



Reivindicaciones

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

1. Un proceso para preparar materiales poliméricos fenólicos sintéticos cuyos atributos y propiedades fisiológicas son reproducibles, y que simulan los atributos y propiedades fisiológicas de ácidos húmicos naturales típicos disponibles comercialmente y otros extractos de suelo, dicho proceso comprende las siguientes etapas:
- a) disolver un compuesto orgánicos de arranque que comprende un grupo hidroxilo y un grupo carbonilo o dos grupos hidroxilo sobre una estructura aromática, en una solución acuosa que comprende agua destilada o hidróxido de sodio;
 - b) ajustar el pH de la solución acuosa resultante del paso a) entre 8 y 11, si es necesario;
 - c) agregar una sal de periodato alcalino o sal de periodato alcalinotérreo a la solución acuosa resultante del paso b);
 - d) mantener la temperatura de la solución resultante del paso c) entre 35 y 80°C durante un período de 30 minutos a 100 horas;



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

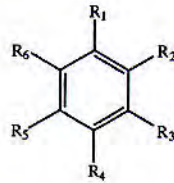
- e) agregar uno ó más compuestos o sales seleccionados del grupo que consta de ácido bórico, sales de borato, sales alcalinotérreas, sales de metales de transición, sulfuros alcalinos, sulfuros alcalinotérreos o sulfuros de metales de transición a la solución acuosa resultante del paso d);
- 5
- f) dejar que la solución acuosa resultante del paso e) repose con o sin agitación a temperatura ambiente entre 2 y 48 horas;
- 10
- g) eliminar las moléculas de la solución resultante del paso f) abajo de 500 a 100 daltons;
- 15
- h) concentrar la solución resultante del paso inciso g); e
- i) eliminar el agua de la solución resultante del paso h), si es necesario

donde el compuesto orgánico de comienzo se selecciona del grupo que consiste en un compuesto representado por la fórmula I:

20



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 y R_6 es un sustituyente
seleccionado del grupo que consiste en H, CH_3 , CH_2CH_3 ,
 $(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, OH, $-\text{OCH}_3$, CHO, CO_2H , CO_2CH_3 , CH_2OH , CH_2OCH_3 ,
5 CH_2CHO , $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, $(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$, $(\text{CH}_2)_2\text{CHO}$,
 $(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$, $(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CHO}$,
 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OCH}_3$,
 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})_2$,
 $\text{CH}(\text{OH})\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{OH}$,
10 $\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3$,
 $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$,
 $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{CHO}$,
 $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{OCH}_3$,
 $(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$, $(\text{CH}_2)_3\text{CO}_2\text{H}$, $(\text{CH}_2)_3\text{CO}_2\text{CH}_3$, CHCHOH (cis o trans),
15 CHCHOCH_3 (cis o trans), CHCHCHO (cis o trans), CHCHCO_2H (cis o
trans), $\text{CHCHCO}_2\text{CH}_3$ (cis o trans), CH_2CHCHOH (cis o trans),
 $\text{CH}_2\text{CHCHOCH}_3$ (cis o trans), $\text{CH}_2\text{CHCHCHO}$ (cis o trans),
 $\text{CH}_2\text{CHCHCO}_2\text{H}$ (cis o trans) y $\text{CH}_2\text{CHCHCO}_2\text{CH}_3$ (cis o trans);

y un compuesto orgánico seleccionado del grupo que
20 consiste en ácido nordihidroguayarático, ácido clorogénico,



epinefrina, norepinefrina, aurina, ácido aurintricarboxílico y tetrahidroxibenzoquinona;

en presencia de uno o más compuestos solubles en agua o sales seleccionadas del grupo que consiste en ácido bórico, sales de borato, sales alcalinotérreas, sales metálicas de transición, sulfuros alcalinos, sulfuros alcalinotérreos y sulfuros metálicos de transición; y un portador o excipiente aceptable fisiológicamente.

2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la etapa c) comprende añadir una sal de periodato alcalina o sal de periodato alcalinotérrea a la solución acuosa que resulte de la etapa b).

3. Una composición de producto sanguíneo que comprende una cantidad antiviral de un material polimérico fenólico sintético que se obtiene por el proceso de la reivindicación 1, combinado con un producto sanguíneo, donde el producto sanguíneo está fuera del cuerpo humano y/o animal.

4. La composición de la reivindicación 3, en donde el producto sanguíneo es sangre humana completa.

5. La composición de la reivindicación 3, en donde el producto sanguíneo son plaquetas de sangre humana.



6. La composición de la reivindicación 5, en donde la cantidad antiviral es una cantidad suficiente para reducir la actividad del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH).

7. La composición de la reivindicación 6, en donde la cantidad antiviral es una cantidad suficiente para reducir la actividad del virus no envuelto.

8. La composición de la reivindicación 7, en donde el virus no envuelto es parvovirus.

9. La composición de la reivindicación 7, en donde el virus no envuelto es citomegalovirus.

10. La composición de la reivindicación 3, en donde el producto sanguíneo es suero de sangre humana.

11. La composición de la reivindicación 3, en donde el producto sanguíneo es una proteína de sangre humana.

12. La composición de la reivindicación 11, en donde la proteína de sangre humana es albúmina de suero humano o gammaglobulina de suero humano.

13. La composición de la reivindicación 3, en donde el producto sanguíneo es un factor de hemofilia humano.

14. La composición de la reivindicación 13, en donde el factor de hemofilia humano es factor VIII.



15. La composición de la reivindicación 13, en donde el factor de hemofilia humano es factor IX.

16. La composición de la reivindicación 13, en donde la cantidad antiviral es una cantidad suficiente para reducir la actividad del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH).

17. La composición de la reivindicación 13, en donde la cantidad antiviral es una cantidad suficiente para reducir la actividad del virus no envuelto.

18. La composición de la reivindicación 17, en donde el virus no envuelto es parvovirus.

19. La composición de la reivindicación 17, en donde el virus no envuelto es citomegalovirus.

20. Un método para reducir la cantidad de virus en un producto sanguíneo poniendo en contacto el producto sanguíneo con una cantidad antiviral de un material polimérico fenólico sintético producido por el proceso de la reivindicación 1, donde el producto sanguíneo está fuera del cuerpo humano y/o animal.

21. El método de la reivindicación 20, en donde el contacto consta de la ruptura estéril de un sello en una trayectoria de conexión entre dos cámaras separadas, una de las cuales contiene el producto sanguíneo en forma estéril y



la otra contiene la cantidad antiviral del material polimérico fenólico sintético en forma estéril.

22. El método de la reivindicación 20, en donde el contacto consta de la inyección de una solución estéril
5 conteniendo la cantidad antiviral al producto sanguíneo.

23. El método de la reivindicación 20, en donde el virus es el virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH).

24. El método de la reivindicación 20, en donde el virus es el virus de la Hepatitis A.

10 25. El método de la reivindicación 20, en donde el virus es el virus de la Hepatitis B.

26. El método de la reivindicación 20, en donde el virus es el virus de la Hepatitis C.

15 27. El método de la reivindicación 20, en donde el virus es parvovirus.

28. El método de la reivindicación 20, en donde el virus es citomegalovirus.

29. El método de la reivindicación 20, en donde se emplean uno ó más métodos adicionales de tratamiento de
20 sangre para reducir la actividad viral.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

30. El método de la reivindicación 29, en donde el método adicional de tratamiento de sangre es el método de solvente/detergente (SD).

31. Una composición para tratar o prevenir enfermedades de humanos o animales causadas por un virus que comprende una cantidad antiviral de un material polimérico fenólico sintético que se obtiene por el proceso de la reivindicación 1, y por lo menos un portador o excipiente fisiológicamente aceptable.

32. La composición de la reivindicación 31, en donde el virus es el virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH).

33. La composición de la reivindicación 31, en donde el virus es el virus de Herpes Simple Tipo I o Tipo II.

34. La composición de la reivindicación 34, en donde el virus es un picornavirus.

35. La composición de la reivindicación 31, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente de solución inyectable.

36. La composición de la reivindicación 31, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente de fórmula local.



37. La composición de la reivindicación 31, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente ingerible.

38. La composición de la reivindicación 31, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente de spray nasal.

39. La composición de la reivindicación 31, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente de inhalador con dosis medida.

40. La composición de la reivindicación 31, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente supositorio vaginal o anal.

41. La composición de la reivindicación 31, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es adecuado para desinfección o conservación de un aparato médico.

42. Composiciones para tratar o prevenir enfermedades de humanos o animales provocadas por microbios comprendiendo una cantidad antimicrobiana de un material polimérico fenólico sintético que se obtiene por el proceso de la reivindicación 1, y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable.



43. La composición de la reivindicación 42, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente de solución inyectable.

5 44. La composición de la reivindicación 42, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente de fórmula local.

45. La composición de la reivindicación 42, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente ingerible.

10 46. La composición de la reivindicación 42, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente de spray nasal.

15 47. La composición de la reivindicación 42, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente de inhalador con dosis medida.

48. La composición de la reivindicación 42, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es un excipiente supositorio vaginal o anal.

20 49. La composición de la reivindicación 42, en donde el excipiente fisiológicamente aceptable es adecuado para la desinfección o conservación de un aparato médico.



50. La composición de la reivindicación 49, en donde el aparato médico es un lente de contacto.

51. Uso de un material fenólico sintético que se ha preparado mediante las siguientes etapas:

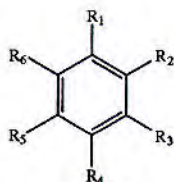
- 5 a) disolver un compuesto orgánicos de arranque que comprende un grupo hidroxilo y un grupo carbonilo o dos grupos hidroxilo sobre una estructura aromática, en una solución acuosa que comprende agua destilada o hidróxido de sodio;
- 10 b) ajustar el pH de la solución acuosa resultante del paso a) entre 8 y 11, si es necesario;
- c) agregar una sal de periodato alcalino o sal de periodato alcalinotérreo a la solución acuosa resultante del paso b);
- 15 d) mantener la temperatura de la solución resultante del paso c) entre 35 y 80°C durante un período de 30 minutos a 100 horas;
- 20 e) agregar uno ó más compuestos o sales seleccionados del grupo que consta de ácido bórico, sales de borato, sales alcalinotérreas, sales de metales de transición, sulfuros alcalinos, sulfuros alcalinotérreos o sulfuros de metales de transición a la solución acuosa resultante del paso d);



- f) dejar que la solución acuosa resultante del paso e) repose con o sin agitación a temperatura ambiente entre 2 y 48 horas;
- g) eliminar las moléculas de la solución resultante del paso f) abajo de 500 a 100 daltons;
- h) concentrar la solución resultante del paso inciso g);
- e
- i) eliminar el agua de la solución resultante del paso h), si es necesario
- donde el pH de las soluciones de las etapas a) a f) es por encima de 7

en la manufactura de un medicamento para inhibir y/o tratar las infecciones por el virus de inmunodeficiencia humana en un mamífero,

- donde el compuesto orgánico de comienzo se selecciona del grupo que consiste en un compuesto representado por la fórmula I:



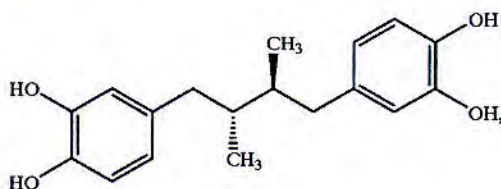
(I)

- en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 y R_6 es un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en H, CH_3 , CH_2CH_3 ,



- $(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, OH , OCH_3 , CHO , CO_2H , CO_2CH_3 , CH_2OH , CH_2OCH_3 ,
 CH_2CHO , $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, $(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$, $(\text{CH}_2)_2\text{CHO}$,
 $(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$, $(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CHO}$,
 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OCH}_3$,
5 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})_2$,
 $\text{CH}(\text{OH})\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{OH}$,
 $\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3$,
 $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$,
 $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{CHO}$,
10 $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, $(\text{CH}_2)_3\text{OCH}_3$,
 $(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$, $(\text{CH}_2)_3\text{CO}_2\text{H}$, $(\text{CH}_2)_3\text{CO}_2\text{CH}_3$, CHCHOH (cis o trans),
 CHCHOCH_3 (cis o trans), CHCHCHO (cis o trans), CHCHCO_2H (cis o
trans), $\text{CHCHCO}_2\text{CH}_3$ (cis o trans), CH_2CHCHOH (cis o trans),
 $\text{CH}_2\text{CHCHOCH}_3$ (cis o trans), $\text{CH}_2\text{CHCHCHO}$ (cis o trans),
15 $\text{CH}_2\text{CHCHCO}_2\text{H}$ (cis o trans) y $\text{CH}_2\text{CHCHCO}_2\text{CH}_3$ (cis o trans),

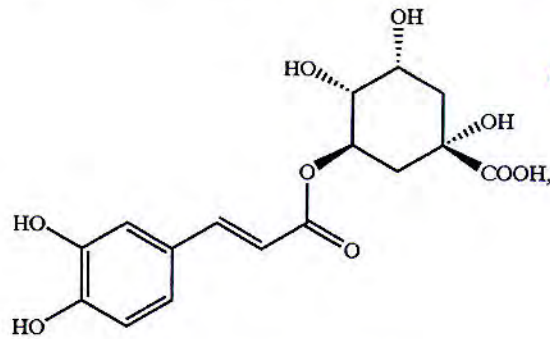
donde el compuesto orgánico de comienzo es seleccionado del grupo que consiste en:



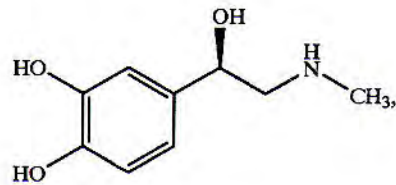


Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Ácido nordihidroguayarético

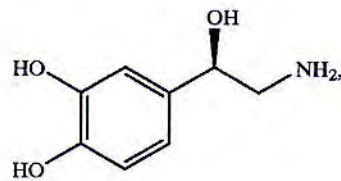


Ácido clorogénico

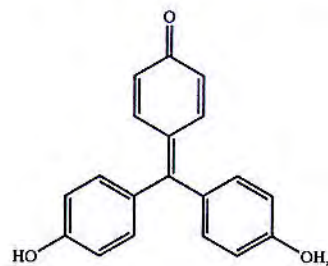


5

Epinefrina



Norepinefrina

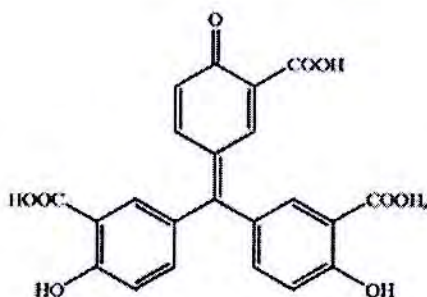


10

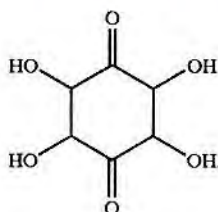


Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Aurina



Ácido aurintricarboxílico



5 Tetrahidroxibenzoquinona.

52. El uso de acuerdo con la reivindicación 51, en donde el compuesto comprende un grupo hidroxilo y un grupo ácido carboxílico.

53 El uso de acuerdo con la reivindicación 51, en donde
10 la solución acuosa en la etapa a) comprende hidróxido de sodio.

54. El uso de acuerdo con la reivindicación 51, en donde la infección por el virus de inmunodeficiencia humana es efectuado mediante un virus seleccionado del grupo que
15 consiste en HIV-1 y HIV-2.

55. El uso de acuerdo con la reivindicación 51, en donde el medicamento es administrable sistémicamente.



56. El uso de acuerdo con la reivindicación 51, en donde el medicamento es administrable tópicamente.

57. Uso de un material fenólico sintético que ha sido preparado mediante las siguientes etapas:

- 5 a) disolver en una solución acuosa un compuesto orgánico de comienzo que comprende un grupo hidroxilo y un grupo carbonilo o dos grupos hidroxilo sobre una estructura aromática;
- 10 b) ajustar el pH de la solución acuosa que resulte de la etapa a) entre 8 y 11;
- c) oxidar la una solución de compuesto orgánico de comienzo que resulte de la etapa b);
- d) polimerizar el compuesto oxidado que resulte de la etapa c);
- 15 e) agregar un compuesto soluble en agua o sal seleccionada del grupo que consiste en ácido bórico, sales de borato, sales alcalinotérreas, sales metálicas de transición, sulfuros alcalinos, sulfuros alcalinotérreos o sulfuros metálicos de
20 transición a la solución acuosa que resulte de la etapa d); y



- f) remover las moléculas de la solución que resulte de la etapa e) que estén por debajo de 500 a 10,000 daltons.

En donde el pH de las soluciones de las etapas a) a f) está por encima de 7

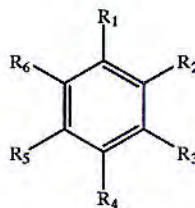
En la manufactura de un medicamento para inhibir la unión del virus de inmunodeficiencia humana a células huésped en un mamífero.

58. Uso de un material fenólico sintético que ha sido preparado mediante las siguientes etapas:

- a) disolver un compuesto orgánicos de arranque que comprende un grupo hidroxilo y un grupo carbonilo o dos grupos hidroxilo sobre una estructura aromática, en una solución acuosa que comprende agua destilada o hidróxido de sodio;
- b) ajustar el pH de la solución acuosa resultante del paso a) entre 8 y 11, si es necesario;
- c) agregar una sal de periodato alcalino o sal de periodato alcalinotérreo a la solución acuosa resultante del paso b);
- d) mantener la temperatura de la solución resultante del paso c) entre 35 y 80°C durante un período de 30 minutos a 100 horas;



- e) agregar uno ó más compuestos o sales seleccionados del grupo que consta de ácido bórico, sales de borato, sales alcalinotérreas, sales de metales de transición, sulfuros alcalinos, sulfuros alcalinotérreos o sulfuros de metales de transición a la solución acuosa resultante del paso d);
- f) dejar que la solución acuosa resultante del paso e) repose con o sin agitación a temperatura ambiente entre 2 y 48 horas;
- g) eliminar las moléculas de la solución resultante del paso f) abajo de 500 a 100 daltons;
- h) concentrar la solución resultante del paso inciso g);
- e
- i) eliminar el agua de la solución resultante del paso h), si es necesario
- en la manufactura de un medicamento para inhibir y/o tratar infecciones del virus del herpes en un mamífero, donde el compuesto orgánico de comienzo se selecciona del grupo que consiste en un compuesto representado por la fórmula I:

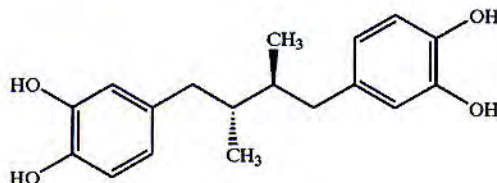




Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

en donde R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 y R_6 es un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en H, CH_3 , CH_2CH_3 , $(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, OH, OCH_3 , CHO, CO_2H , CO_2CH_3 , CH_2OH , CH_2OCH_3 , CH_2CHO , $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, $(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$, $(\text{CH}_2)_2\text{CHO}$, $(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$, $(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})_2$, $\text{CH}(\text{OH})\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{OH}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{CHO}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, $(\text{CH}_2)_3\text{OCH}_3$, $(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$, $(\text{CH}_2)_3\text{CO}_2\text{H}$, $(\text{CH}_2)_3\text{CO}_2\text{CH}_3$, CHCHOH (cis o trans), CHCHOCH_3 (cis o trans), CHCHCHO (cis o trans), CHCHCO_2H (cis o trans), $\text{CHCHCO}_2\text{CH}_3$ (cis o trans), CH_2CHCHOH (cis o trans), $\text{CH}_2\text{CHCHOCH}_3$ (cis o trans), $\text{CH}_2\text{CHCHCHO}$ (cis o trans), $\text{CH}_2\text{CHCHCO}_2\text{H}$ (cis o trans) y $\text{CH}_2\text{CHCHCO}_2\text{CH}_3$ (cis o trans);

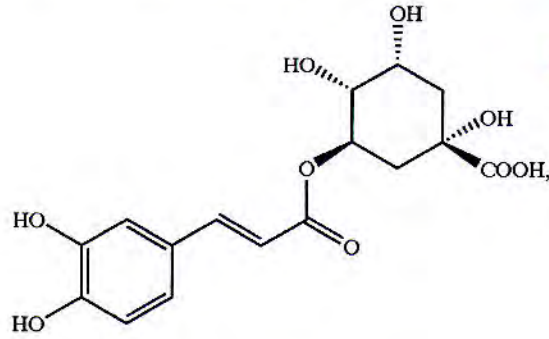
donde el compuesto orgánico de comienzo es seleccionado del grupo que consiste en:



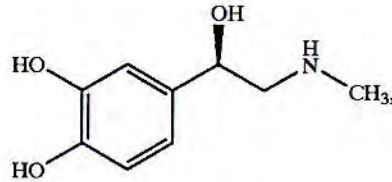


Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Ácido nordihidroguayarático

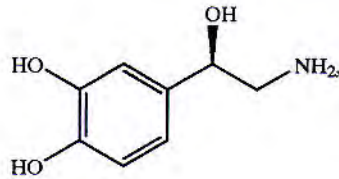


Ácido clorogénico

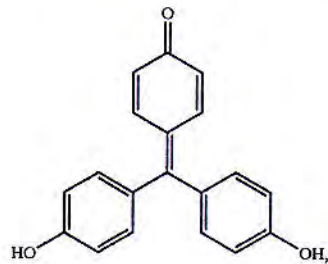


5

Epinefrina



Norepinefrina

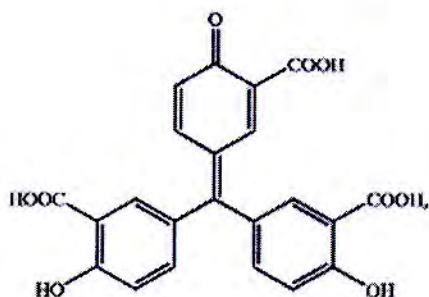


10

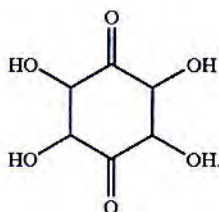


Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Aurina



Ácido aurintricarboxílico



5 Tetrahidroxibenzoquinona.

59. El uso de acuerdo con la reivindicación 58, en donde el compuesto comprende un grupo hidroxilo y un grupo ácido carboxílico.

60. El uso de acuerdo con la reivindicación 58, en donde
10 la solución acuosa en la etapa a) comprende hidróxido de sodio.

61. El uso de acuerdo con la reivindicación 58, en donde la infección por el virus del herpes es efectuado mediante un virus seleccionado del grupo que consiste en virus simple del
15 herpes tipo 1 (HSV-1), virus simple del herpes tipo 2 (HSV-



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

2), virus de la Varicela Zoster (VZV), citomegalovirus humano (HCMV) y virus Epstein-Barr (EBV).

62. El uso de acuerdo con la reivindicación 58, en donde la administración de la cantidad efectiva de material polimérico fenólico sintético se lleva a cabo sistémicamente.

63. El uso de acuerdo con la reivindicación 58, en donde el medicamento es administrable a través de la piel.

64. Uso de un material fenólico sintético habiéndose preparado mediante las siguientes etapas:

- 10 a) disolver un compuesto orgánicos de arranque que comprende un grupo hidroxilo y un grupo carbonilo o dos grupos hidroxilo sobre una estructura aromática, en una solución acuosa que comprende agua destilada o hidróxido de sodio;
- 15 b) ajustar el pH de la solución acuosa resultante del paso a) entre 8 y 11, si es necesario;
- c) agregar una sal de periodato alcalino o sal de periodato alcalinotérreo a la solución acuosa resultante del paso b);
- 20 d) mantener la temperatura de la solución resultante del paso c) entre 35 y 80°C durante un período de 30 minutos a 100 horas;



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

- e) agregar uno ó más compuestos o sales seleccionados del grupo que consta de ácido bórico, sales de borato, sales alcalinotérreas, sales de metales de transición, sulfuros alcalinos, sulfuros alcalinotérreos o sulfuros de metales de transición a la solución acuosa resultante del paso d);
- f) dejar que la solución acuosa resultante del paso e) repose con o sin agitación a temperatura ambiente entre 2 y 48 horas;
- g) eliminar las moléculas de la solución resultante del paso f) abajo de 500 a 100 daltons;
- h) concentrar la solución resultante del paso inciso g);
- e
- i) eliminar el agua de la solución resultante del paso h), si es necesario
- en la manufactura de un medicamento que inhibe la unión del virus del herpes a células huésped en un mamífero.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

RESUMEN

Se preparan polímeros fenólicos disolviendo uno o más fenoles orgánicos junto con periodato de sodio en una base acuosa con pH de 8-11 y dejando las mezclas reposar 5 entre 35 y 80°C por un periodo de 30 minutos a 100 horas. Uno o más compuestos inorgánicos o sales se agregan y la solución se deja reposar a temperatura ambiente entre 2 y 48 horas. Las moléculas de sal, así como los compuestos de arranque y 10 otros materiales con peso molecular bajo de 500 a 10,000 daltons son eliminados de las soluciones del producto. Se preparan polímeros fenólicos purificados en forma de solución acuosa concentrada o en forma de polvo deshidratado, en un paso final, si es necesario. Los polímeros fenólicos 15 resultantes exhiben propiedades fisicoquímicas que se parecen mucho a las propiedades de los extractos de suelo naturales típicos disponibles en el mercado. Los materiales son agentes activos antivirales y antimicrobianos y son efectivos en cantidades antivirales en composiciones de productos 20 sanguíneos, en métodos para reducir o eliminar virus en productos sanguíneos y en composiciones antivirales y antimicrobianas para tratar o prevenir enfermedades virales o microbianas de humanos o animales.

FIG. 1

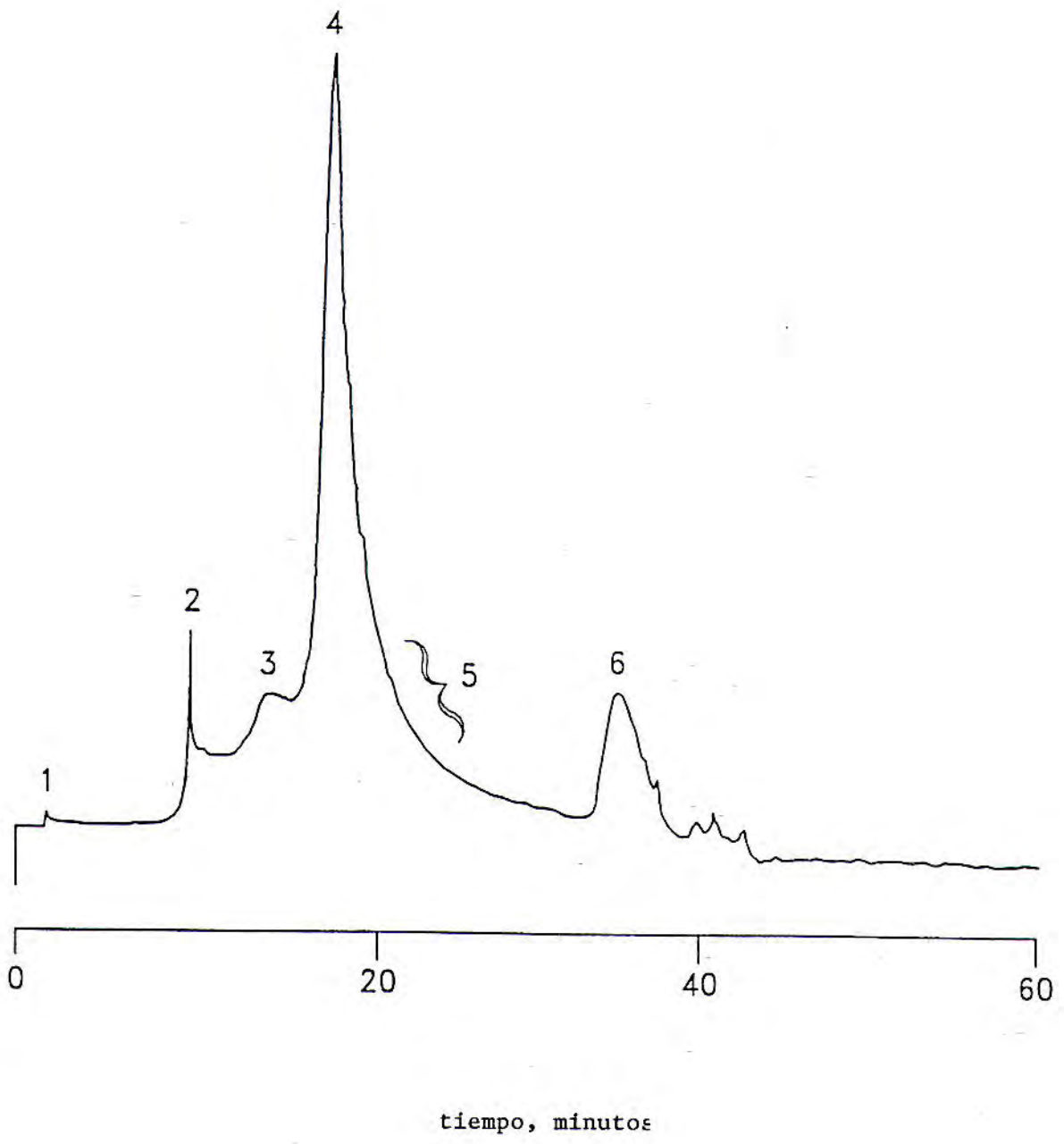


FIG. 2

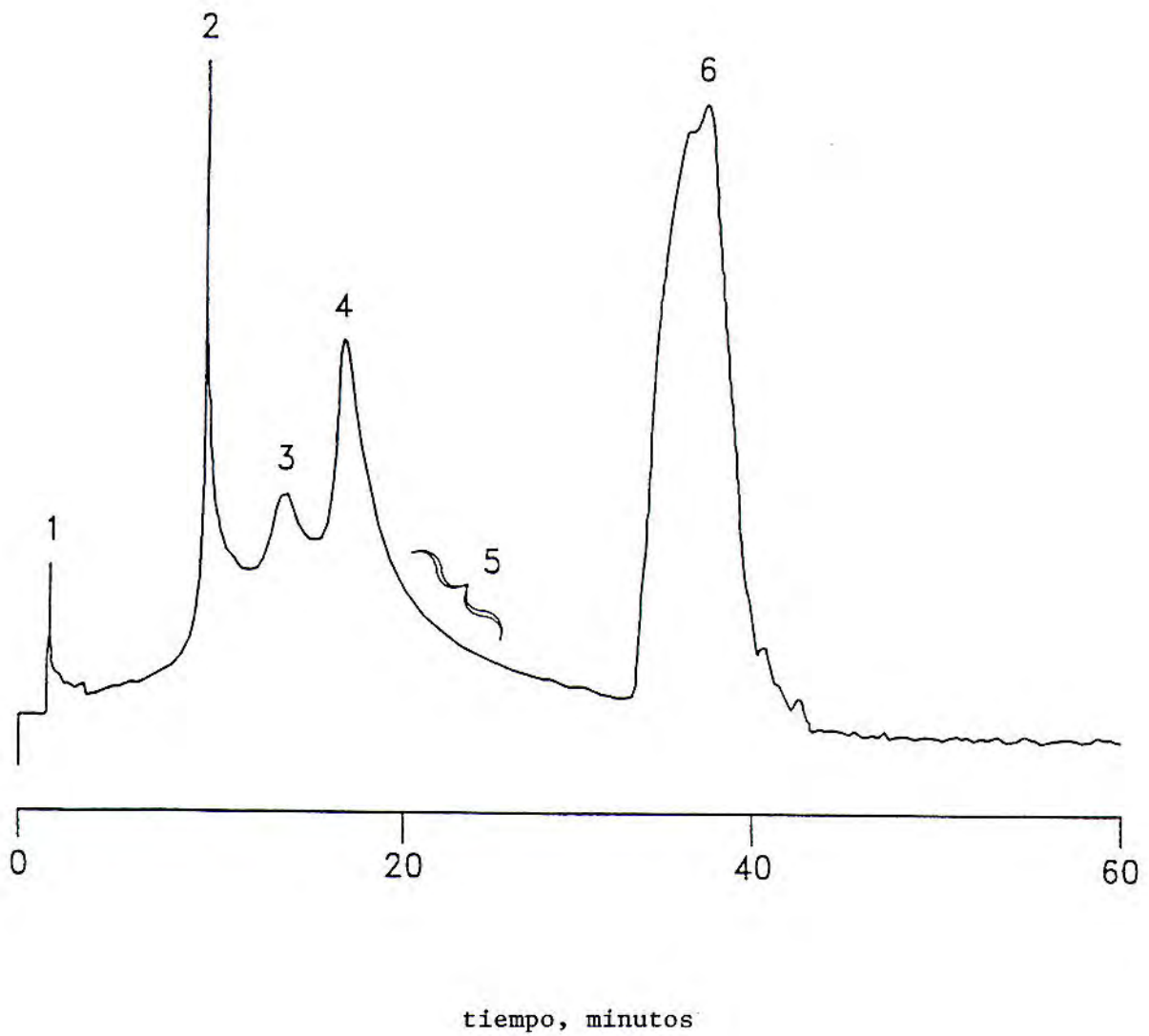


FIG. 3

