Composición farmacéutica que contiene triterpenoides pentacíclicos.

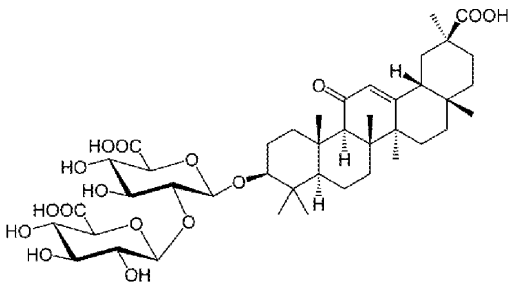
Derechos de propiedad industrial reservados

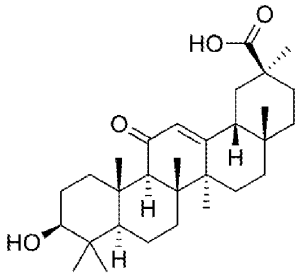
Una parte de la descripción de esta solicitud contiene material sujeto a protección de derechos de propiedad industrial. El propietario de dichos derechos no tiene objeción a la reproducción mediante facsímil del documento de la patente o de la descripción de la solicitud por cualquier persona, como aparece en el archivo o registros de patente en la Oficina de Patentes y Marcas, pero de otra manera, se reserva todos los derechos de propiedad industrial.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención trata de composiciones farmacéuticas que contienen triterpenoides pentacíclicos como principios activos, en especial al ácido glicirrícico y al ácido 18-β glicirretínico. Dichas composiciones se caracterizan por estar en combinación con excipientes farmacéuticamente aceptables y adaptadas para ser administrables en seres humanos. Dichas composiciones son adecuadas para ser administrables por las vías oral, nasal, cutánea, inyectable intravenosa o inhalada y para usarse en el tratamiento de enfermedades respiratorias, en especial enfermedades infecciosas virales. Las presentes formulaciones son especialmente efectivas para usarse en la prevención, tratamiento y postratamiento de infecciones respiratorias, particularmente aquellas cuyo contagio es a través del mecanismo por interacción con enzima convertidora de angiotensina 2, ACE2, tal como ocurre, entre otros, con virus como el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave, SARS-CoV y el tipo 2, SARS-CoV2.

Es importante señalar que existen diversas referencias relacionadas con triterpenoides pentacíclicos y en específico a los componentes ácido glicirrícico, (también señalado como AG) y al ácido 18-β glicirretínico, (también señalado como enoxolona o EN). Dichas referencias indican diferentes nombres comunes para cada uno de dichos componentes; en el presente escrito, los componentes señalados corresponden a las siguientes estructuras:





Ácido glicirrícico, (AG) **Ácido 18-β glicirretínico, (EN)**

Breve descripción de la invención

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen como principios activos combinaciones de triterpenoides pentacíclicos y señala que algunas combinaciones específicas entre este tipo fármacos resultan en efectos sorprendentes para impedir o inhibir infecciones virales y/o respiratorias. Las composiciones se encuentran en cantidades y proporciones específicas que mejoran las propiedades farmacológicas de los compuestos, mejorando su biodisponibilidad, farmacocinética y disminuyendo efectos toxicológicos y de irritabilidad, en especial en la zona de las vías respiratorias y los pulmones.

Las composiciones aquí descritas se encuentran adaptadas para ser administrables por las vías intravenosa, cutánea, oral,

nasal o inhalada en seres humanos. Las composiciones pueden ser aplicadas por una o más de estas vías, con el fin de mejorar la biodisponibilidad de los principios activos y lograr una concentración local elevada en las vías respiratorias (fosas nasales, faringe, laringe, tráquea, bronquios y bronquiolos) y los pulmones, donde se es especialmente vulnerable a la infección por agentes virales.

Las diferentes propiedades antivirales, antioxidantes, antibacterianas, analgésicas, antiinflamatorias, regenerativas e inmunomoduladoras de los principios activos utilizados en la presente composición, actúan en conjunto para combatir las infecciones de las vías respiratorias, disminuir la severidad de los síntomas asociados a las mismas, aminorar y aliviar las secuelas posteriores a la infección. La combinación de las propiedades farmacológicas de la presente invención hace a las composiciones especialmente útiles para usarse en la prevención, tratamiento y recuperación de pacientes que padecen o padecieron infecciones virales, en especial aquellas causadas por contagio vía interacción virus con la enzima convertidora de angiotensina 2, (*ACE2*).

Dentro de los triterpenoides pentacíclicos preferidos, se encuentra el ácido 18-β glicirretínico, (EN), que pertenece al sistema de bioclasificación II presentando baja polaridad, alta hidrofobicidad y permeabilidad moderada, por lo que se puede mencionar que, el paso limitante para la absorción a torrente sanguíneo es la disolución del fármaco, para posteriormente absorberse y distribuirse a diferentes órganos o al sitio blanco.

Otro de los triterpenoides pentacíclicos preferidos, se trata del ácido glicirrícico, (AG), del cual se puede mencionar que, a pesar de ser soluble en agua, presenta una reducida permeabilidad (pertenece al sistema de bioclasificación III),

por lo que, su absorción está en función de los excipientes y procesos de manufactura.

Por otra parte, la selección de excipientes y forma farmacéutica definen la absorción del fármaco y con ello la potencialización del efecto terapéutico deseado. Para el caso específico de formas farmacéuticas inhaladas, podemos mencionar que éstas son empleadas cuando el sitio de acción está focalizado en las vías aéreas superiores (cavidad nasal, garganta, boca, y laringe) e inferiores (tráquea, bronquios, bronquiolos y pulmones) y en donde la forma farmacéutica a administrar no necesariamente requiere ser absorbida, puesto que la mayor proporción del fármaco ha sido puesto en contacto con el sitio de acción. Cabe destacar que la absorción del fármaco promoverá una distribución homogénea en el órgano blanco y en el sistema circulatorio, que conlleva a la potencialización del efecto terapéutico del fármaco a administrar, así mismo esta absorción puede llevarse a cabo tanto en las vías aéreas como en el tracto gastrointestinal, absorbiéndose la porción que no fue absorbida en vías aéreas superiores y que es resultado de la ingesta de líquidos u alimentos.

La promoción de la absorción del fármaco en el sitio de acción potencializa el efecto terapéutico y se estima que reduce efectos sistémicos ocasionados por el padecimiento a tratar (daños colaterales), para el caso específico de EN, adicional a su efectividad antiviral, su absorción y distribución puede promover efectos tales como: antinflamatorios, antioxidantes, antimicrobianos, inmunomoduladores, reepitelizantes, anti-fibróticos, además de tener la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica.

Antecedentes

Las infecciones de las vías respiratorias son de las enfermedades más frecuentes que afectan globalmente a todos los grupos poblacionales. Aunque los orígenes de estas pueden deberse a diversos agentes, las de etiología viral pertenecen al campo técnico de esta solicitud. Los virus que comúnmente son responsables de dichas enfermedades pertenecen a las familias orthomyxoviridae, paramyxoviridae, picornaviridae, coronavirus, y adenovirus.

Las enfermedades respiratorias tienen un impacto en términos de salud, calidad de vida y socioeconómicos, por ello es importante contar con tratamientos y vacunas para su control y prevención. Los fármacos comúnmente utilizados para tratar las infecciones virales incluyen entre otros a los adamantanos (amantadina y rimantadina), inhibidores de la neuraminidasa (zanamivir y oseltamivir), la ribavirina, el cidofovir y pleconaril. El problema con estos fármacos es que causan efectos secundarios severos, pueden ser muy costosos o pueden ser obsoletos ante las nuevas variantes virales. Otros tratamientos de las infecciones virales incluyen el uso de plasma de personas convalecientes de infecciones virales, anticuerpos monoclonales, oligonucleótidos antisentido, péptidos, esteroides e interferones. Sin embargo, para muchos de estos tratamientos aún se necesitan estudios adicionales para comprobar su eficacia y seguridad.

Aunque en la mayoría de las infecciones virales, basta con administrar alguno de los fármacos conocidos, o bien con la aplicación de tratamientos paliativos; la carencia de fármacos antivirales es especialmente crítica ante el surgimiento repentino de cepas virales con potencial pandémico, pues ante la ausencia de tratamientos efectivos es difícil contener brotes epidémicos. Se citan de manera breve y como ejemplos, el brote

del virus de la influenza H1N1 de 1918 provocó de entre 40 a 100 millones de muertes. Entre los años 2002-2003, surgió una nueva forma grave de neumonía causada por un coronavirus (SARS-CoV) que dejo un saldo de 8096 casos y 744 muertes en 29 países de los 5 continentes. En 2009 una nueva variante de la influenza A-H1N1, causo una pandemia con un estimado de 100,000 a 400,000 muertes a nivel global. Esto denota que periódicamente surgen epidemias virales con un impacto severo y dependiente de la virulencia de la cepa con la que se trate.

A finales del año 2019, con el surgimiento repentino de la cepa del coronavirus SARS-CoV2, se tienen registros del año 2020 y durante el curso de los primeros meses de 2021, de más de 2,500,000 decesos a nivel mundial. Con respecto a este virus, se tiene que, aunque un 80% de los infectados no evoluciona a un cuadro clínico grave, el 20% restante presenta síntomas severos y de entre un 3 a un 10% pueden tener un desenlace fatal. Además de los síntomas presentes durante el transcurso de la infección se ha observado que, en algunos casos, quienes padecieron la infección por coronavirus sufren de secuelas como daño en el tejido de órganos como el corazón, pulmones, sistema nervioso y el cerebro, daños en la salud mental, fatiga crónica y coágulos sanguíneos y/o problemas del sistema circulatorio. Muchos de estos efectos e impacto a largo plazo, son aún desconocidos.

En cuanto a ejemplos específicos, si bien la tasa de mortalidad de SARS-CoV2 es relativamente baja, su alta infecciosidad provoca que gran parte de las poblaciones se infecten simultáneamente, saturando y colapsando los sistemas de salud, provocando con ello una atención inadecuada de la enfermedad y por lo tanto aumentando las muertes causadas por la misma. Además de ello, la saturación de los sistemas de salud provoca la desatención de otros padecimientos, situación que aumenta su mortalidad. Dada esta situación de emergencia, la búsqueda de

tratamientos farmacológicos para tratar el COVID 19, enfermedad causada por el SARS-CoV2 ha sido prioritaria.

Para combatir la enfermedad de COVID-19 se ha recurrido al uso de fármacos conocidos. Fármacos como la cloroquina, hidroxicloroquina, azitromicina, remdesivir, lopinavir-ritonavir, favipiravir, inhibidores de la vía de la IL-6, ivermectina, corticosteroides, plasma de convalecencia, heparina, vitamina C, entre otros, han sido probados como tratamiento. Si bien se han reportado casos en los que estos medicamentos han demostrado ayudar a tratar la enfermedad, ninguno de ellos ha resultado ser efectivo hasta el momento.

Antecedentes en el campo técnico

La raíz de *Glycyrrhiza uralensis* contiene numerosos compuestos con actividad farmacológica, entre los que se encuentran flavonoides, fenoles con substituciones isoprenoides, isoflavonoides, saponinas y diversos compuestos volátiles. Entre estos compuestos, son de especial interés, las saponinas triterpénicas, principalmente el ácido glicirrícico (AG) y el ácido 18-β glicirretínico (EN), presentes en el regaliz en forma de mezcla de sales potásicas y cálcicas de los mismos. El ácido glicirrícico (AG) y el ácido 18-β glicirretínico (EN) son triterpenoides pentacíclicos del tipo de los oleananos. Se han identificado estos dos como unos de los principales compuestos bioactivos del extracto de *Glycyrrhiza uralensis*. A estos se les han atribuido diversas propiedades farmacológicas.

Diferentes estudios apuntan al uso de los triterpenoides pentacíclicos como una alternativa en la prevención, tratamiento y postratamiento de enfermedades infecciosas del sistema respiratorio, ello por sus diferentes características fisicoquímicas y farmacológicas.

J. Cinatl, et al, reportó en 2003 al AG como inhibidor del SARS-CoV, impidiendo la replicación del virus en células de cultivo.

Harald Murck (28/MAY/2020) menciona que el AG puede funcionar como bloqueador estérico de la proteína ACE2, que es el punto de entrada del SARS-CoV2 a la célula, inhibe la expresión de la proteína TMPRSS2, importante para la infección viral y en general que el AG y sus derivados tienen propiedades antivirales.

Luo Pan, et al, (29/ABR/2020) describe las perpectivas farmacologicas del AG, destacando su papel como inmunorregulador de citoquinas, como promotor de interferones con actividad antiviral y como inhibidor de la proteína trombina, importante en la generación de cuagulos que se ven en la enfermedad.

El documento US5128149A SHANBROM (07/JUL/1992), describe un tratamiento de células y fluidos biológicos de mamíferos con compuestos a los que se hace referencia aquí como compuestos glicirrícicos […] para inactivar virus y para mejorar los contenedores para proporcionar dicho tratamiento. Adicionalmente se refiere al tratamiento de sangre completa para inactivar o destruir virus infecciosos que se encuentran en fluidos y células animales, tales como el citomegalovirus que es responsable de agravar infecciones en receptores de transfusiones de sangre.

El documento US2011052727A1 POLANSKY (03/MAR/2011), describe métodos para prevenir o tratar una infección por un virus de la influenza. En una realización preferida, los métodos incluyen la administración a un sujeto de una dosis eficaz de un suplemento nutricional, en donde uno de los componentes del suplemento es ácido glicirrícico.

Dados estos antecedentes, existen diversas fuentes que señalan el uso de AG para el tratamiento, prevención y postratamiento de padecimientos virales. Uno de los problemas con el AG es el rápido metabolismo que este sufre al ser administrado en seres humanos por medios orales o inyectados. Debido a este rápido metabolismo, se ha sugerido que la administración oral o inyectada del AG puede no alcanzar las concentraciones locales necesarias para tener un efecto terapéutico. Además de ello, las concentraciones necesarias para observar un efecto terapéutico antiviral son muy altas para ser considerado un fármaco completamente útil. Otros problemas reportados, son la irritabilidad y toxicidad cuando se aplica AG o EN por separado en concentraciones relativamente altas, como se verá más adelante.

Existen referencias donde se señala que, un paso crítico de la infección es cuando el virus ingresa a las células hospedadoras humanas, lo cual es habilitado por la interacción entre la proteína SARS-CoV-2 Spike (S) en la superficie de la partícula viral y la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) en la superficie de las células humanas.

La presente invención subsana estas limitaciones, proporcionando composiciones farmacéuticas adaptadas para ser administrables a un sujeto que comprenden una combinación sinérgica de al menos dos triterpenoides pentacíclicos, principalmente por la vía inhalada.

La invención se caracteriza por usar proporciones óptimas con más de un triterpenoide pentacíclico en combinación con excipientes farmacéuticamente aceptables, para bloquear la interacción entre la proteína Spike(S) y ACE2 como un blanco terapéutico para el tratamiento preventivo de enfermedades pulmonares, reducir la irritabilidad y toxicidad de los

componentes individuales y prolongar la exposición sistémica de los triterpenoides pentacíclicos por la sinergia entre sus componentes. Dados los antecedentes y reportes existentes sobre la interacción del fármaco ácido glicirrícico (AG) con las proteínas ACE2 y Spike, se decidió probar el efecto de la combinación de este último y su derivado el ácido 18β-glicirretínico (EN) en la inhibición de esta interacción.

Las formulaciones resultantes se tratan de composiciones sinérgicas cuyas proporciones están diseñadas para disminuir efectos toxicológicos, irritabilidad y proveer una farmacocinética efectiva en comparación con la aplicación de los mismos componentes de manera individual.

Las formas farmacéuticas de acuerdo con los desarrollos experimentales son listadas a continuación: las formas preferidas son soluciones, suspensiones y emulsiones, así como los polvos y liofilizados para preparar los mismos, que son aplicados por medio de nebulizaciones, vaporizaciones y espray. Aunque hay diversas formas de clasificarlas, en la presente solicitud se señalan considerando la ruta de administración.

- De administración oral: Soluciones, suspensiones y emulsiones de administración oral, así como sólidos que incluyen tabletas, tabletas recubiertas, tabletas de liberación modificada, tabletas masticables, capsulas, capsulas blandas, capsulas duras.

- De administración cutánea: Soluciones, suspensiones, espumas, pastas, polvos espray (polvos, soluciones y suspensiones administradas por medio de espray), geles, cremas, ungüentos, parches e implantes intradérmicos.

- De administración nasal: Gotas formadas por soluciones, suspensiones y emulsiones. Espray de tipo solución,

emulsiones y suspensiones. Polvos nasales, geles de administración y ungüentos nasales.

- Inyectables: Soluciones, suspensiones y emulsiones inyectables. Polvos para preparar soluciones, suspensiones y emulsiones inyectables. Liofilizados para preparar soluciones, suspensiones y emulsiones inyectables.

- Tracto respiratorio: Líquidos como soluciones, suspensiones y emulsiones para ser nebulizados. Líquidos como soluciones, suspensiones y emulsiones para ser vaporizados. Sólidos como polvos y liofilizados para ser administrados por las vías orofaríngeas.

Descripción de las figuras

Figura 1. Esquema del ensayo COVID-19 Spike-ACE2: Complejo Spike - ACE2. Si hay interacción entre la proteína ACE2 (II) y la proteína SPIKE (I), el anticuerpo anti SPIKE (IV) acoplado a la enzima HRP (III) se unirá a la proteína spike (I). Este complejo generará un cambio de color en el ensayo de ELISA (placa V) que puede ser cuantificado.

Figura 2. Esquema del ensayo COVID-19 Spike-ACE2:Inhibición del complejo SPIKE – ACE2. En la presencia de una molécula inhibidora (VI) como el ácido glicirricínico o la enoxolona, se interrumpe la interacción entre la proteína SPIKE (I) y la proteína ACE2 (II).

Figura 3. Esquema del ensayo COVID-19 Spike-ACE2: Ante la presencia de un inhibidor (VI) no hay formación del complejo SPIKE-ACE2, y por lo tanto no hay acoplamiento del anticuerpo conjugado a la enzima HRP (III), por lo que no hay un cambio de coloración cuantificable en la prueba de ELISA (placa V).

Figura 4. Gráfico de ensayo ELISA para la cuantificación de la inhibición (o porcentaje de actividad) de la proteína ACE2 con la proteína SPIKE.

Figura 5. Resultados de la inhibición de la formación del complejo ACE2 – Spike, derivado de la exposición de la proteína ACE2 a los fármacos AG, EN y la combinación de ambos.

Figura 6. Imágenes de cortes histopatológicos de tejido de tracto respiratorio de murinos con aplicación de composiciones con AG, EN y combinación de AG – EN.

Figura 7. Tabla normalizada de evaluación de toxicidad e irritabilidad de tejido de tracto respiratorio de murinos con aplicación de composiciones con AG, EN y combinación de AG – EN.

Figuras 8 y 9. Gráficas de farmacocinética de EN en suspensión, correspondientes a 24 y a 96 horas.

Figuras 10 y 11. Gráficas de farmacocinética de EN en solución, correspondientes a 24 y a 96 horas.

Figura 12. Gráfica comparativa de farmacocinética de EN en suspensión vs solución, correspondientes a 24 horas.

Figuras 13 y 14. Gráficas de farmacocinética de AG correspondientes a 24 y a 96 horas

Figuras 15 y 16. Gráficas de farmacocinética para la combinación 30 mg AG y 2 mg EN (proporción 15:1) (037COV21), correspondientes a 24 y a 96 horas.

Figura 17. Gráfica de comportamiento farmacocinético de la formulación en combinación AG-EN (037COV21) contra la administración individual de los fármacos (038COV21 y 039COV21).

Figuras 18 y 19. Gráficas de farmacocinética para la combinación 60 mg AG y 3 mg EN (proporción 20:1) (036COV21), correspondientes a 24 y a 96 horas.

Figura 20. Gráfica de farmacocinética para diferentes formulaciones correspondientes a 24 horas.

Figura 21. Gráfica de farmacocinética para diferentes formulaciones correspondientes a 24 horas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que son adaptadas para ser administrables por vía nasal, cutánea, oral, inyectada o inhalada para ser usadas en la prevención, tratamiento y postratamiento de enfermedades de las vías respiratorias. Estas composiciones se componen de combinaciones sinérgicas de triterpenoides pentacíclicos en conjunto con excipientes adecuados y farmacéuticamente aceptables para las diferentes rutas de administración. Las presentes composiciones farmacéuticas se basan en el inesperado efecto sinérgico de algunas combinaciones de proporciones específicas de triterpenoides pentacíclicos. Las composiciones aquí descritas son especialmente efectivas en el tratamiento de infecciones virales, en especial aquellas causadas por contagio vía interacción del virus con la enzima convertidora de angiotensina 2, (*ACE2*).

Las distintas composiciones de la presente invención contienen al menos dos triterpenoides pentacíclicos. Específicamente se

refiere a triterpenoides glicirrícicos como al grupo de moléculas seleccionado del grupo que comprende al ácido glicirrícico (también señalado como AG), su aglicona, el ácido 18β-glicirretínico (también señalado como EN) y derivados de los mismos, en forma de ácidos, sales, ésteres y otros derivados. Sobre el grupo de triterpenoides glicirrícicos de la presente formulación, se usa preferentemente la combinación de ácido glicirrícico (AG) y al ácido 18β-glicirretínico (EN) por su efecto inhibitorio en la vía interacción entre la proteína Spike (S) del virus con la enzima convertidora de angiotensina 2, (*ACE2*).

Los experimentos realizados consistieron en probar el kit de ELISA RayBio COVID-19 Spike-ACE2 *binding assay* kit (Número de catálogo: CoV-SACE2-1), descrito como ensayo para la detección de anticuerpos y fármacos contra la enfermedad COVID-19. Este ensayo tiene como función cuantificar la formación del complejo ACE2 – Spike y cómo éste es afectado por la presencia de un fármaco.

El ensayo se describe mediante las figuras 1 a 3 que señalan el esquema del ensayo COVID-19 Spike-ACE2, en la figura 1, se expone el complejo Spike - ACE2 que se forma cuando no hay un inhibidor; en la figura 2, se muestra como en la presencia de una molécula inhibitoria (VI) se bloquea la formación del complejo Spike-ACE2; mientras que, en la figura 3 se muestra que, si el fármaco de interés afecta la formación del complejo Spike-ACE2, no se formará el complejo de interacciones como se muestra en la figura, y por lo tanto no habrá cambio de color cuantificable. Por el contrario, si el fármaco no inhibe la interacción del complejo, se obtendrá una señal intensa de coloración.

En la figura 4 se puede apreciar el comportamiento de la composición probada en ensayos ELISA para la cuantificación de

la inhibición (Porcentaje de actividad) de la proteína ACE2 con la proteína SPIKE a diferentes concentraciones de ácido glicirrícico (AG) solo, el ácido 18β-glicirretínico (EN) solo, un blanco (P) y la combinación de AG-EN en proporciones dentro del intervalo de 1:3 a 1:25, preferentemente, dentro del intervalo de 1:5 a 1:20. La combinación de los triterpenoides resulta ser más efectiva que el uso de los principios activos por separado. Ello deriva en la ventaja técnica de que, el uso de una menor concentración de ambos fármacos resulta en la obtención de una mejora relacionada con el efecto terapéutico.

En la figura 5 se muestran los resultados de la inhibición de la formación del complejo ACE2 – Spike, derivado de la exposición de la proteína ACE2 a los fármacos AG, EN y la combinación de ambos. Resulta importante hacer notar que el eje X muestra dos escalas distintas, correspondientes a la concentración en micro moles (µM) de los compuestos AG y EN. Es importante apreciar que la combinación de AG-EN en proporciones dentro del intervalo de 1:3 a 1:25, preferentemente, dentro del intervalo de 1:5 a 1:20 resulta ser evidentemente más efectiva que el uso de los principios activos por separado.

La gráfica de la figura 5 muestra las diferentes concentraciones de ambos fármacos (ácido glicirrícico (AG) y ácido 18β-glicirretínico (EN)) y el porcentaje de unión del complejo Spike – ACE2 que se detecta a esas concentraciones. La gráfica muestra las 3 formulaciones con el principio activo. La línea de puntos con cuadros (F-EN) muestra el comportamiento de la formulación con EN, la línea continua con círculos (F-AG) la formulación con AG y la línea discontinua con triángulos muestra la formulación con ambos compuestos. En la parte inferior se muestran las concentraciones en unidades de micro moles (µM) de ambos fármacos, válidas para las tres formulaciones (concentraciones de AG válidas para F-AG y F-EN, concentraciones de EN válidas

para F-EN y F-AG-EN). Es importante resaltar que la concentración de AG respecto a la de EN está en proporción ~5.7 : 1, (cuando hay aproximadamente un 88% de inhibición) en términos molares, mientras que esta proporción es de 10 a 1 (AG respecto a enoxolona (EN)) en términos de masa, logrando una inhibición significativa a menores dosis aplicadas.

Las formulaciones aquí descritas, además de los triterpenoides glicirrícicos, contienen excipientes farmacéuticamente aceptables que proveen a las formulaciones propiedades farmacológicas necesarias para ser administrables en seres humanos. En específico la presente invención contiene componentes tales como solubilizantes iónicos, surfactantes, solubilizantes no iónicos, disolventes, reguladores de pH, reguladores de osmóticos, agentes quelantes, antioxidantes y conservadores.

En la presente invención se define a los solubilizantes iónicos al grupo seleccionado de propilen glicol, glicerina/PEG, poloxamer, derivados de polioxilgliceridos (Labrasol), gliceril isoestearato / gliceril monoestearato, derivados del glicerol, polietilenglicol 660 12-hidroxiestearato, aceite de ricino y sus derivados. La invención define a los surfactantes que incluyen, pero no se limitan a polisorbato, monoestearato de sorbitan, esteres de sorbitol, polisorbato 20,60,80 (derivados de esteres de ácidos grasos de sorbitan y polioxietileno). La invención define a los solubilizantes no iónicos al grupo seleccionado del dietilenglicol monoetileter; así como a los disolventes al grupo seleccionado de etanol y agua.

Opcionalmente, las formulaciones pueden ser sujetas al ajuste de pH con HCl, NaOH o cualquier sal y su mezcla que formen un buffer indicado. Para ajustar el pH entre las formulaciones también pueden incluir un ajustador de osmolaridad, como NaCl, dextrosa,

manitol y sorbitol. Las formulaciones también pueden contener elementos conservadores como cloruro de benzalconio, etanol, propilenglicol, alcohol bencílico, cloro butanol, derivados de parabeno. Las composiciones pueden incluir agentes quelantes por ejemplo EDTA y derivados, ácido cítrico y derivados, ácido oxálico y derivados, ácido ascórbico y derivados. Las composiciones pueden incluir componentes para ajustar la viscosidad, por ejemplo, poloxamero en sus diferentes grados de polimerización, celulosa microcristalina y derivados; así como la inclusión de antioxidantes como L-cisteina, butilhidroxitolueno, butilhidroxianisol.

En una modalidad preferida, la formulación utiliza una combinación de AG y EN, en concentraciones para el AG del 0.1 % a 20% (m/m) y de 0.01 % al 4% m/m para EN, preferentemente AG del 0.1 % a 10% (m/m) y de 0.01 % al 2% m/m para EN. En esta modalidad, la formulación utiliza como solubilizante iónico propilen glicol en concentraciones del 70% al 80% (m/m), polisorbato como surfactante en concentraciones del 0.1 al 7% (m/m), dietilenglicol monoetileter como solubilizante no iónico en concentraciones del 1% al 6% (m/m) y agua como disolvente en un intervalo del 10% al 20% (m/m). En esta modalidad el pH se ajusta en valores del 4.0 a 9.0, preferentemente entre 4.5 a 6.5 utilizando uno o más de los elementos mencionados anteriormente.

Expuesto lo anterior, la composición farmacéutica que ahora se divulga comprende: una combinación sinérgica de al menos dos triterpenoides pentacíclicos en una proporción en el intervalo de 1:3 a 1:25 para usarse en el tratamiento de infecciones virales.

En otras modalidades, las infecciones virales son infecciones virales respiratorias.

En otras modalidades, la composición comprende al menos un aditivo farmacéuticamente aceptable, en donde los triterpenoides pentacíclicos son el ácido glicirricínico y ácido 18β-glicirretínico, y se encuentran en una proporción preferentemente en el intervalo de 1:5 a 1:20.

En otras modalidades, la composición farmacéutica tiene un contenido de ácido glicirricínico de 0.1% a 20% y un contenido de ácido 18β-glicirretínico es de 0.01 a 4%, preferentemente AG del 0.1 % a 10% (m/m) y de 0.01 % al 2% m/m para EN.

En otras modalidades, la composición farmacéutica tiene un contenido de la combinación sinérgica dentro de la composición, que se encuentra en el intervalo de mayor a 0.0% al 30%, preferentemente del intervalo de 0.01% a 10%.
En otras modalidades, los aditivos farmacéuticamente aceptables comprenden solubilizantes iónicos y no iónicos, surfactantes y disolventes; en donde, los solubilizantes iónicos se seleccionan del grupo que comprende: propilen glicol, glicerina / PEG, poloxamer, derivados de polioxilgliceridos (Labrasol), gliceril isoestearato / gliceril monoestearato, derivados del glicerol, polietilenglicol 660 12-hidroxiestearato, aceite de ricino y sus derivados, y se encuentran en una concentración del 70% al 80% m/m.

En otras modalidades, la composición farmacéutica comprende surfactantes que se seleccionan del grupo que comprende polisorbato, monoestearato de sorbitan, esteres de sorbitol, polisorbato 20,60,80 y se encuentran en concentraciones del 0.1% al 7%.

En otras modalidades, la composición farmacéutica comprende como solubilizante no iónico al dietilenglicol monoetileter en una

concentración del 1% al 6% y como disolvente agua, en el intervalo del 10% al 20%.

Ejemplos: En ensayos realizados se probaron las siguientes formulaciones:

- Formulación 1: Solución nebulizable AG 2.8%
- Formulación 2: Solución nebulizable EN 0.28%
- Formulación 3: Solución nebulizable AG- EN 2.8% – 0.28%.
- Formulación 4: Solución nebulizable excipientes o blanco.

Las respectivas formulaciones además de contener los principios activos (AG Y EN) contienen:

- Propilen glicol de 70 a 80%; preferentemente 73 a 77 % m/m.
- Polisorbato de 0.1% al 7%; preferentemente 4 a 6 % m/m.
- Dietilenglicol monoetileter de 1% al 6%; preferentemente 3 a 5% m/m.
- Agua, balance al 100% m/m.

Las diferentes formulaciones fueron probadas en 4 diluciones distintas, partiendo de las concentraciones originales y realizando 3 diluciones adicionales 1:1. Las concentraciones utilizadas en el estudio se muestran en la siguiente tabla:

Dilución	Formulación 1 (AG µg)	Formulación 2 (EN µg)	Formulación 3 (AG – EN µg)	Formulación 4 (Excipientes)
1	5.6	0.56	5.6 – 0.56	1 (UR)
2	2.8	0.28	2.8 – 0.28	0.5
3	1.4	0.14	1.4 – 0.14	0.25
4	0.7	0.07	0.7 – 0.07	0.125

Tabla 1.

Formulación	Componente	Composición (%) m/m	Proporción AG:EN
Formulación 1	AG	2.8 %	1:0
	EN	0 %	
	Polietilenglicol	73 – 77 %	
	Polisorbato	4 – 6 %	
	Dietilenglicol	3 - 5 %	
	Agua	Balance	
Formulación 2	AG	0 %	0:1
	EN	0.28 %	
	Polietilenglicol	73 - 77 %	
	Polisorbato	4 – 6 %	
	Dietilenglicol	3 - 5 %	
	Agua	Balance	
Formulación 3	AG	2.8%	**10:1**
	EN	0.28 %	
	Polietilenglicol	73.62 %	
	Polisorbato	5 %	
	Dietilenglicol	4.3 %	
	Agua	14 %	
Formulación 4	AG	0 %	0:0
	EN	0 %	
	Polietilenglicol	73 - 77 %	
	Polisorbato	4 - 6 %	
	Dietilenglicol	3 - 5 %	
	Agua	Balance	

Tabla 2.

En las tablas 1 y 2, se muestran formulaciones comparativas que contienen AG y EN de manera individual y específicamente en la formulación 3, se indica una proporción 1:10 entre EN-AG para ensayo de inhibición de la proteína SPIKE-ACE2.

Resultados: Como resultado del experimento se obtuvieron los siguientes valores en términos de porcentaje de inhibición del complejo Spike – ACE2.

Formulación	EN µg	EN µM	AG µg	AG µM	Dilución	% Unión	% Inhibición
F-AG	0	0.00	5.6	6.80	1	0.69	99.31
F-AG	0	0.00	2.8	3.40	0.5	45.77	54.23
F-AG	0	0.00	1.4	1.70	0.25	62.81	37.19
F-AG	0	0.00	0.7	0.85	0.125	96.28	3.72
F-AG	0	0.00	0	0.00	0	100	0
F-EN	0.56	1.19	0	0.00	1	33.02	66.98
F-EN	0.28	0.59	0	0.00	0.5	53.63	46.37
F-EN	0.14	0.30	0	0.00	0.25	58.73	41.27
F-EN	0.07	0.15	0	0.00	0.125	90.37	9.63
F-EN	0	0.00	0	0.00	0	100	0
F-AG-EN	0.56	1.19	5.6	6.80	1	0.49	99.51
F-AG-EN	0.28	0.59	2.8	3.40	0.5	12.01	87.99
F-AG-EN	0.14	0.30	1.4	1.70	0.25	44.56	55.44
F-AG-EN	0.07	0.15	0.7	0.85	0.125	92.69	7.31
F-AG-EN	0	0.00	0	0.00	0	100	0
EX	0	0.00	0	0.00	1	49.24	50.76
EX	0	0.00	0	0.00	0.5	33.85	66.15
EX	0	0.00	0	0.00	0.25	63.5	36.5
EX	0	0.00	0	0.00	0.125	82.84	17.16
EX	0	0.00	0	0.00	0	100	0

Tabla 3.

Uno de los problemas con el AG es el rápido metabolismo que este sufre al ser administrado en seres humanos por medios orales o inyectados. Dado este rápido metabolismo se ha sugerido que la administración oral o inyectada del AG puede no alcanzar las concentraciones locales necesarias para tener un efecto terapéutico. Además de ello las concentraciones necesarias para observar un efecto terapéutico antiviral son muy altas para ser considerado un fármaco. La presente solicitud describe, por tanto, las características de la invención, evaluando los

efectos toxicológicos y de irritabilidad local en el uso de la composición sinérgica por la vía inhalada en murinos.

En las tablas 4 y 5, se muestran formulaciones comparativas que contienen AG y EN de manera individual y AG-EN para ensayo de irritabilidad y toxicidad en murinos.

	Control	AG		AG – EN		EN	
Tipo de dosis	No aplica	Baja	Alta	Baja	Alta	Baja	Alta
Concentración fármacos	No se administró	4 mg/mL	10 mg/mL	4 mg/mL AG + 0.4 mg/mL EN	10 mg/mL AG + 1 g/mL EN	0.4 mg/mL	1 mg/mL

Tabla 4.

Formulación	Componente	Composición (%) m/m	Proporción AG:EN
AG baja	AG	0.4 %	1:0
	EN	0 %	
	Polietilenglicol	73 - 77 %	
	Polisorbato	4 – 6 %	
	Dietilenglicol	3 - 5 %	
	Agua	Balance	
AG alta	AG	1 %	1:0
	EN	0.0 %	
	Polietilenglicol	73 - 77 %	
	Polisorbato	4 – 6 %	
	Dietilenglicol	3 - 5 %	
	Agua	Balance	
EN baja	AG	0 %	0:1
	EN	0.04 %	
	Polietilenglicol	73 - 77 %	
	Polisorbato	4 – 6 %	
	Dietilenglicol	3 - 5 %	
	Agua	Balance	
EN alta	AG	0 %	0:1
	EN	0.1%	
	Polietilenglicol	73 - 77 %	
	Polisorbato	4 – 6 %	
	Dietilenglicol	3 - 5 %	
	Agua	Balance	

AG – EN baja	AG	0.4 %	**10:1**
	EN	0.04 %	
	Polietilen glicol	76.26 %	
	Polisorbato	5 %	
	Dietilenglicol	4.3 %	
	Agua	14 %	
AG-EN alta	AG	1 %	**10:1**
	EN	0.1 %	
	Polietilen glicol	75.6 %	
	Polisorbato	5 %	
	Dietilen glicol	4.3 %	
	Agua	14 %	

Tabla 5.

Estas formulaciones fueron administradas a grupos de murinos durante 10 minutos al día por 14 días consecutivos. A cada grupo se le administró solo un tipo de dosis durante toda la duración del tratamiento. Al finalizar el tratamiento los animales fueron sacrificados y se recuperó tejido del tracto respiratorio de los mismos. Para cada grupo se recuperó el tejido pulmonar y la tráquea de un murino. Dicho tejido fue sometido a un análisis histopatológico, donde se evaluó el daño en el tejido de dichas muestras como se cita a continuación:

"Las alteraciones observadas entre los diferentes grupos se clasifican en la tabla 4 con una puntuación subjetiva de 0 a 5, donde 0 es ausencia de lesión y 5 corresponde a lesión severa." Ver figuras 6 y 7.

Se examinaron los cortes mostrados en la Figura 6 y se les asignó una calificación de daño según su criterio. La evaluación mencionada se encuentra en la tabla 6:

		AG		AG - EN		EN	
Lesión	Control	Baja	Alta	Baja	Alta	Baja	Alta
Vascular							
Congestión	2	2	2	2	2	2	2
Hemorragia	3	3	2	1	2	1	1
Edema alveolar	0	0	0	0	0	0	0
Edema intersticial	1	1	2	0.5	0.5	1	2
Trombosis	0	0	0	0	0	0	0
Inflamatorio							
Neumonía intersticial	2.5	3	3.5	2	1.5	2	3
Membranas hialinas	0	0	0	0	0	0	0
Bronquiolitis	0	0	0	0	0	0	0
Bronquitis	0	0	0	0	0	0	0
Vasculitis	0	0	0	0	0	0	0
Degenerativo							
Alveolar	0	0	0	0	0	0	0
Bronquiolar	0.5	0.5	1	0	0	0	1
Bronquial	0.5	0.5	1	0	0	0	1
Necrosis							
Alveolar	0	0	0	0	0	0	0
Bronquiolar	0	0	0	0	0	0	0
Bronquial	0	0	1	0	0	0	0
Fibrosis							
Septos alveolares	0	0	0	0	0	0	0
Peribronquiolar	0	0	0	0	0	0	0
Peribronquial	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	9.5	10	12.5	5.5	6	6	10

Tabla 6.

En la tabla 6, la última fila indica el total de la calificación de daño y lesiones por grupo. Estos resultados fueron normalizados restándoles la puntuación del control (control = 9.5). Los datos normalizados se presentan en la figura 7.

Los resultados de la figura 6 muestran una serie de patrones respecto a las distintas composiciones:

- La composición con AG indica la generación de lesiones adicionales a las lesiones basales, el cual aumenta según la cantidad del fármaco administrada.

- La composición con EN indica una disminución las lesiones basales cuando es utilizado en concentraciones bajas. A mayor concentración de este compuesto este efecto se pierde y comienza a causar lesiones adicionales.

- La combinación de ambos fármacos indica que tiene un efecto conjunto benéfico superior a lo que se esperaría del efecto de ambos de manera individual.

. Para el caso de la composición combinada AG-EN bajo (4 mg/mL AG + 0.4 mg/mL EN) la suma esperada de los efectos individuales es de -3 (-3.5 + 0.5) y el efecto observado es de -4.

. Para el caso de la composición AG-EN alta (10 mg/mL AG + 1 mg/mL EN) la suma de los efectos esperados es de 3.5 (3 + 0.5), mientras que el efecto observado es de -3.5

Los resultados sugieren que existe una ventaja inesperada mediante el uso de una composición AG-EN alta (10 mg/mL AG + 1 mg/mL EN). Por una parte, se sugiere que las lesiones esperadas por el uso individual de sus componentes (valor de 3.5) son contrarrestadas por la combinación de estos, e incluso se observa que esta combinación reduce de manera sinérgica las lesiones preexistentes dado el valor observado (valor de -3.5). Además, estos resultados sugieren que se puede utilizar una dosis mayor, lo cual supondría observar un efecto terapéutico más potente.

Se realizaron pruebas alternativas para verificar el comportamiento sinérgico de las composiciones de interés. Por tanto, se describen y divulgan los resultados de estudios de farmacocinética. El estudio radicó en la aplicación de distintas versiones de la composición farmacéutica que ahora se reclama a voluntarios sanos por la vía de administración inhalada, por medio de un dispositivo nebulizador. A los voluntarios se les suministró el fármaco cada 24 horas por tres días. A estos mismos se les tomaron muestras sanguíneas en distintos puntos de tiempo. Estas muestras fueron analizadas para cuantificar los contenidos de ácido glicirricínico (AG) y Enoxolona (EN) por medio de la metodología de HPLC acoplado a masas. El estudio consistió en la aplicación de las siguientes formulaciones a individuos voluntarios sanos:

Formulación	Composición (principio(s) activo(s)) mg/mL	No. de individuos
036COV21	3 mg EN, 60 mg AG	3
037COV21	2 mg EN, 30 mg AG	2
038COV21	60 mg AG	3
039COV21	3 mg EN (solución)	3
040COV21	3 mg EN (suspensión)	3

Tabla 7.

Formulación	Componente	Composición (%) m/m	Proporción AG:EN
036COV21	AG	6 %	**20:1**
	EN	0.3 %	
	Polietilenglicol	70.4 %	
	Polisorbato	5 %	
	Dietilenglicol	4.3 %	
	Agua	14 %	
037COV21	AG	3 %	**15:1**
	EN	0.2 %	
	Polietilen glicol	73.5 %	
	Polisorbato	5 %	
	Dietilenglicol	4.3 %	
	Agua	14 %	

Tabla 8.

En las tablas 7 - 11, se muestran formulaciones comparativas que contienen AG y EN de manera individual y AG-EN para ensayo de farmacocinética.

Para el estudio de farmacocinética, a cada individuo se le suministró 1 mL de una de las composiciones, diluyéndola con 4 mL de solución salina. La mezcla resultante fue suministrada a través de un dispositivo nebulizador marca Nebucore modelo P-103, por un periodo aproximado de 20 minutos o hasta que la solución fuese nebulizada completamente (lo que ocurriera primero). A los individuos se les suministró una segunda y tercera dosis del fármaco a las 24 y 48 horas respectivamente.

A cada uno de los individuos se le tomaron muestras de sangre de 5 mL a los 30 minutos y a las 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas. Las muestras fueron utilizadas para determinar la concentración de los fármacos AG y EN por medio de la metodología de HPLC acoplado a masas. En todos los casos se cuantificaron ambos fármacos. Los resultados se muestran a continuación.

Las siguientes tablas muestran los resultados fármaco cinéticos (área bajo la curva (ABC)) de los dos fármacos analizados (AG y EN). El área bajo la curva, (ABC) es un parámetro relacionado con la cantidad de fármaco a la que el cuerpo ha estado expuesto. Los resultados se obtuvieron analizando las concentraciones en plasma a las 24 horas. Para el cálculo del ABC se utilizó el paquete "PK" dentro del lenguaje de programación R. Para el cálculo de estas se asumió un modelo monocompartamental.

ABC Enoxolona 24 horas

Fórmula	ABC (0 ≥ t)
036COV21	3594.573387
037COV21	1258.471472
038COV21	664.5081426
039COV21	253.4182813
040COV21	121.8772356

Tabla 9.

ABC AG 24 horas

Fórmula	ABC (0 ≥ t)
036COV21	6510.27298
037COV21	9372.097
038COV21	2297.631
039COV21	NA
040COV21	NA

Tabla 10.

En las figuras 8 a 21 se muestran las gráficas correspondientes a los cambios de concentración en las muestras sanguíneas a lo largo del tiempo. Para formulaciones respectivas se muestran dos temporalidades: 24 y 96 horas. Los análisis y conclusiones que se mencionan corresponden a las gráficas a 24 horas. Esto es así, ya que la mayoría de las muestras recolectadas (30 minutos, 1, 2, 3, 6, 12 y 24 horas) caracterizan el comportamiento farmacocinético de las formulaciones desde la primera toma (0 horas), hasta antes de la segunda administración (24 horas).

En las figuras 8, 9, 10 y 11, se muestran respectivamente, las gráficas de farmacocinética de EN en suspensión 040COV21 (fig. 8 y 9) y EN en solución 039COV21 (fig. 10 y 11) correspondientes a 24 y a 96 horas.

En la figura 12, se señala una gráfica comparativa de farmacocinética de EN en suspensión vs EN en solución correspondiente a 24 horas. El efecto observado en el gráfico de la figura 12, Enoxolona suspensión para nebulización (comprende partículas No disueltas), se aprecian áreas bajo la curva menores respecto a Enoxolona Solución para nebulización (partículas totalmente disueltas) resultado que delimita y confirma las virtudes entre la selección de una forma farmacéutica en la absorción del fármaco), y el efecto producido por la reducción del tamaño de partícula de los fármacos que potencializa la

permeación ya sea por difusión, acarreo o intercambio iónico; adicionalmente se indica que entre menor sea el tamaño de partícula y se presente una permeabilidad moderada, mayor será la absorción del mismo; otro punto a considerar en la selección de la Forma Farmacéutica (FF) y la ruta de administración en donde no solo las propiedades biofarmacéuticas y fisicoquímicas influyen en la administración del producto, si no que la selección de los insumos o excipientes modularan la entrega, estabilidad, reproducibilidad y administración del fármaco.

Para el caso específico de ácido glicirrícico (AG), se puede mencionar que su absorción por la ruta de inhalación es dependiente de la forma farmacéutica, puesto que a pesar de que AG es soluble en agua, presenta una permeabilidad reducida, por lo que, los excipientes y proceso de manufactura delimitarán su absorción. Respecto a los resultados obtenidos podemos observar en los gráficos de las figuras 13 y 14 dos curvas de absorción, una próxima a las 24 horas después de la aplicación del producto y una segunda a las 96 horas, observándose un efecto representativo de forma farmacéutica de liberación modificada, efecto que podemos correlacionar a dicha forma farmacéutica y a la ruta de administración en donde, se estima que, las vías aéreas permanecen impregnadas de AG por más de 24h; adicionalmente, se observa un máximo inicial a los 60 min, característico del fármaco cuando es administrado por vía oral (absorción gastrointestinal) y que es en donde AG es biotransformado a EN, un metabolito que sufrirá una segunda metabolización en el hígado para posteriormente ser eliminado del organismo. Por otro lado, los datos obtenidos muestran que la eliminación de AG se prolonga por más tiempo cuando es administrado por la vía inhalada, mostrando un comportamiento bicompartamental mismo que también es observado cuando el fármaco es administrado por vía inyectable y siendo muy diferentes a la vía oral (dos mesetas ascendentes) donde su

eliminación inicia después de las 6h. Por otro lado, respecto a las ventajas de la formulación desarrollada, se obtuvo una solución con baja viscosidad, lo que da una ventaja respecto otras formas farmacéuticas con concentraciones similares, puesto que productos con altas concentraciones tienden a formar geles por efecto del ácido glicirricínico, AG.

En las gráficas 13 y 14, hay una presencia de EN, esto es debido a que, como se había mencionado anteriormente, AG es biotransformado (hidrolizado) a EN para ser metabolizado en hígado y posteriormente, ser eliminado. Por otra parte, la concentración obtenida por vía inhalada es mucho menor a la obtenida por vía oral (200.3 ng/mL cuando se administran 75 mg de AG), lo cual, es un indicador de que se trata de una biotransformación que ocurre en el tracto gastrointestinal; por lo que, cuando AG es absorbido sin pasar por el tracto gastrointestinal, su metabolización a EN se reduce, metabolizándose sólo la fracción que logra pasar a esta vía.

Por lo anterior, se puede señalar que la administración de AG por vía área (en solución nebulizada), proporciona un efecto inicial de superficie en las vías aéreas superiores, ejerciendo su efecto antimicrobiano y antiviral, para posteriormente producir un efecto sistémico prolongado (mayor a 24h), con reducida biotransformación hacia EN.

En las figuras 15 y 16, correspondientes a la formulación 037COV21, los resultados en los tiempos iniciales se aprecian claras diferencias con respecto a la administración de AG y EN de manera individual, en donde su administración en forma de mezcla tiene efectos en su absorción, distribución y metabolización, obteniendo una $C_{máx}$ superior respecto a la formulación 038COV21 (con 60mg AG en ausencia de EN).

Concerniente a los resultados obtenidos después de las 24 horas, no fueron observadas diferencias adicionales significativas.

Por otro lado, la absorción de EN muestra un efecto sinérgico obtenido por efecto de la mezcla 037COV21 y cuya área baja la curva es superior a la obtenida en la formulación 039COV21 (EN 3mg) y 038COV21 (metabolización de AG) (1258.47 vs 664.50 y 253.41), pero siendo ligeramente superior a la referenciada por vía oral (AG 75 mg). Adicionalmente, no son observadas diferencias significativas respecto al comportamiento de las formulaciones 037COV21, 038COV21 y 039COV21 después de las 24 horas. En la figura 17 se expone una comparación de las ABC de la formulación en combinación (037COV21) contra la administración individual de los fármacos (038COV21 y 039COV21); tal como se puede apreciar en los valores de ABC (1258.47 vs 664.50 y 253.41 para la EN) (9372.09 vs 2297.631 para el AG) las formulaciones en combinación muestran una mayor exposición sistémica de ambos fármacos en comparación a lo esperable por la administración individual de los mismos. De los resultados anteriores, se puede destacar que la administración de estos fármacos por vía aérea focaliza el órgano blanco y que, adicionalmente se obtienen efectos sistémicos semejantes a la administración de AG por vía oral.

Como se muestra en las figuras 18 y 19, las formulaciones que incluyen una combinación de AG y EN muestran valores de área bajo la curva superiores a los valores de la administración individual de estos fármacos. En la figura 20 se puede apreciar un efecto sinérgico al comparar estas combinaciones entre sí. Se observa que cambios en la proporción de los compuestos activos (20:1 en la muestra 036COV21 vs 15:1 correspondiente a la muestra 037COV21) tienen un impacto en el comportamiento de las curvas farmacocinéticas, en específico en su respectiva ABC (3594.57 para 036COV21) vs (1258.47 para 037COV21) correspondiente a EN

y (6510.27 para 036COV21) vs (9372.09 para 037COV21) correspondiente a AG. Dichos cambios no pueden ser explicados sólo por los cambios de concentraciones de las formulaciones farmacocinéticas, ya que como se observa, los valores de ABC de las formulaciones no son proporcionales a las concentraciones utilizadas de los compuestos activos.

Si bien, ambas formulaciones muestran ventajas técnicas respecto a la administración individual de AG y EN, la preferencia de una forma farmacéutica combinada (036COV21 o 037COV21) está en función del fármaco que se desee potencializar en cuanto a su exposición sistémica. Por ejemplo, si se desea potencializar la exposición a AG, se sugiere preferentemente, utilizar la formulación 037COV21; mientras que, si se desea potencializar la exposición de EN, se sugiere preferentemente utilizar la formulación 036COV21.

Formulación	Concentración AG	Concentración EN	ABC AG	ABC EN
036COV21	60 mg	3 mg	6510.27	3594.57
037COV21	30 mg	2 mg	9372.09	1258.47

Tabla 11.

Estos datos en su conjunto muestran la ventaja técnica de formulaciones farmacéuticas de AG y EN en comparación a la administración individual de ambos fármacos. Además del aumento de la ABC de ambos componentes en las formulaciones combinadas, los resultados muestran que cambios en proporciones de ambos fármacos modulan la exposición sistémica de los mismos, de manera independiente a la concentración utilizada en la formulación. La utilidad de esta modulación, las proporciones y concentraciones preferidas están en función a los intereses terapéuticos del uso de estas formulaciones.

Análisis

Los resultados obtenidos para ambos analitos dentro de la formulación 036COV21 (proporción AG 20:1 EN) delimitan el comportamiento de la forma farmacéutica de liberación modificada, por lo que son obtenidos dos máximos antes de las 24 horas, es el mismo efecto observado en la formulación 038COV21 (AG) pero obteniendo mayores concentraciones plasmáticas por efecto de EN sobre AG como anteriormente se había comentado. Respecto a EN, se observa una menor concentración inicial próxima a 150 ng/mL pero siendo menor a la obtenida en la formulación 037COV21 (proporción AG 15:1 EN), efecto que delimita su absorción, pero incrementa su tiempo de permanencia, es decir los efectos terapéuticos de EN, tales como acción antiviral y efecto antimicrobiano pueden potencializarse debido al incremento del tiempo de residencia; por otro lado, el segundo máximo antes de las 24 horas presenta una concentración plasmática próxima a los 250 ng/mL, máximo no observado en las formulaciones de estudio y superior al obtenido por vía oral en administraciones de AG 75 mg.

Adicionalmente, se observa que EN incrementa su tiempo de vida media y ABC respecto a la formulación 037COV21 delimitando una absorción bicompartimental, es decir el analito es absorbido y distribuido a los órganos para ejercer su efecto terapéutico o ser metabolizado (hígado), pero al no ser retenido o metabolizado, este es recirculado al sistema circulatorio (SC), para nuevamente reiniciar su metabolización lo que conlleva a la prolongación del efecto terapéutico; siendo este efecto usualmente atribuido a la concentración plasmática de los analitos, es decir cuando las concentración plasmática sobrepasan la cantidad definida de enzimas que promueven su metabolización, el hígado recircula la EN intacta al SC para

posteriormente reiniciar su metabolización y eliminación del organismo.

Por lo anterior, se puede señalar que la proporción definida en la formulación 036COV21, condiciona su absorción, al potencializar la permeación del fármaco AG y al delimitar la absorción de EN.

La concentración plasmática obtenida delimita su eliminación de forma dosis dependiente, lo que conlleva a un incremento del tiempo de permanencia de los fármacos y con ello, a una potencialización de sus efectos terapéuticos sistémicos.

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad del titular, lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

1.- Una composición farmacéutica que comprende una combinación sinérgica de al menos dos triterpenoides pentacíclicos en una proporción en el intervalo de 1:3 a 1:25 para usarse en el tratamiento de infecciones virales.

2.- La composición farmacéutica para usarse de acuerdo con la reivindicación anterior, en donde la infección viral es una infección viral respiratoria.

3.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1 caracterizada porque comprende al menos un aditivo farmacéuticamente aceptable.

4.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1 caracterizada porque los triterpenoides pentacíclicos son el ácido glicirricínico y ácido 18β-glicirretínico.

5.- La composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizada porque comprende una combinación sinérgica de al menos dos triterpenoides pentacíclicos en una proporción preferentemente en el intervalo de 1:5 a 1:20.

6.- La composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizada porque el contenido de ácido glicirricínico es de 0.1% a 20% y el contenido de ácido 18β-glicirretínico es de 0.01 a 4%.

7.- La composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizada porque el contenido de la combinación sinérgica se encuentra en el intervalo de mayor a 0.0% a 30%, preferentemente del intervalo de 0.01% a 10%.

8.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 3, caracterizada porque los aditivos farmacéuticamente aceptables comprenden solubilizantes iónicos y no iónicos, surfactantes y disolventes.

9.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, caracterizada porque los solubilizantes iónicos se seleccionan del grupo que comprende: propilen glicol, glicerina / PEG, poloxamer, derivados de polioxilgliceridos (Labrasol), gliceril isoestearato / gliceril monoestearato, derivados del glicerol, polietilenglicol 660 12-hidroxiestearato, aceite de ricino y sus derivados.

10.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 9 donde los solubilizantes iónicos se encuentran en una concentración del 70% al 80% m/m.

11.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, donde los surfactantes se seleccionan del grupo que comprende polisorbato, monoestearato de sorbitan, esteres de sorbitol, polisorbato 20,60,80.

12.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 11, donde los surfactantes mencionados en la

reivindicación 7 se encuentran en concentraciones del 0.1% al 7%.

13.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, donde se utilizan como solubilizante no iónicos dietilenglicol monoetileter.

14.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 13, donde el solubilizante no iónico se encuentra en una concentración del 1% al 6%.

15.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, donde se utiliza como diluyente agua, en el intervalo de 10% al 20%.