

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la  
Propiedad Intelectual  
Oficina internacional



(10) Número de publicación internacional

WO 2022/090597 A1

(43) Fecha de publicación internacional  
05 de mayo de 2022 (05.05.2022)

WIPO | PCT

(51) Clasificación internacional de patentes:

A61K 31/365 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)  
A61K 36/19 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/ES2021/070770

(22) Fecha de presentación internacional:

22 de octubre de 2021 (22.10.2021)

(25) Idioma de presentación:

español

(26) Idioma de publicación:

español

(30) Datos relativos a la prioridad:

P202031084 29 de octubre de 2020 (29.10.2020) ES

(71) Solicitantes: **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)** [ES/ES]; C/ Serrano, 117, 28006 Madrid (ES). **UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA** [ES/ES]; Servicio de Promoción y Apoyo a Investigación, Innovación y Transferencia i2T, Camí de Vera, s/n, Edificio 8G, Acceso A, Planta 3, 46022 Valencia (ES). **FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN MÉDICA APLICADA** [ES/ES]; Avda. Pío XII, 55, 31008 Pamplona (Navarra) (ES). **UNIVERSIDAD DE NAVARRA** [ES/ES]; Campus Universitario s/n, 31009 Pamplona (Navarra) (ES).

(72) Inventores: **RIVERO BUCETA, Eva María**; INSTITUTO DE TECNOLOGIA QUIMICA, Av. de los Naranjos, s/n, 46022 Valencia (ES). **BOTELLA ASUNCIÓN, Pablo**; INSTITUTO DE TECNOLOGIA QUIMICA, Av. de los Naranjos, s/n, 46022 Valencia (ES). **VIDAURRE AGUT, Carla**; INSTITUTO DE INSTRUMENTACIÓN PARA IMAGEN MOLECULAR (I3M), Universidad Politécnica de Valencia Edificio 8B, Acceso N, 1ª Planta, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia (ES). **BENLLOCH BAVIERA, José María**; INSTITUTO DE INSTRUMENTACIÓN PARA IMAGEN MOLECULAR (I3M), Universidad Politécnica de Valencia Edificio 8B, Acceso N, 1ª Planta, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia (ES). **NOVOA GARCÍA, Beatriz**; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MARINAS, Rúa de Eduardo Cabello, 6, 36208 Vigo (Pontevedra) (ES). **FIGUERAS HUERTA, Antonio**; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MARINAS, Rúa de Eduardo Cabello, 6, 36208 Vigo (Pontevedra) (ES). **GONZÁLEZ ASEGUINOLAZA, Gloria**; Fundación para la Investigación Médica Aplicada (FIMA), Avda. Pío XII, 55, 31008 Pamplona (Navarra) (ES). **SMERDOU PICAZO, Cristian**; Fundación para la Investigación Médi-

ca Aplicada, Avda. Pío XII, 55, 31008 Pamplona (Navarra) (ES). **PINEDA LUCENA, Antonio A.**; Fundación para la Investigación Médica Aplicada, Avda. Pío XII, 55, 31008 Pamplona (Navarra) (ES). **PRÓSPER CARDOSO, Felipe Luis**; Universidad de Navarra, Campus Universitario s/n, 31009 Pamplona (Navarra) (ES). **ARGEMÍ BALLBÉ, Josepmaria**; Universidad de Navarra, Campus Universitario s/n, 31009 Pamplona (Navarra) (ES).

(74) Mandatario: **PONS ARIÑO, Angel**; Glorieta de Rubén Darío, 4, 28010 Madrid (ES).

(81) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))
- con la parte de lista de secuencias de la descripción (Regla 5.2(a))

(54) Title: ANDROGRAPHOLIDE DERIVATIVES FOR USE IN THE TREATMENT OF COVID-19 DISEASE AND PULMONARY FIBROSIS ASSOCIATED WITH COVID-19

(54) Título: Derivados de andrografólido para su uso en el tratamiento de la enfermedad CoViD-19 y fibrosis pulmonar asociada a CoViD-19

(57) Abstract: Disclosed are andrographolide derivatives for use as an antiviral agent in the treatment of COVID-19 disease or pulmonary fibrosis associated with COVID-19.

(57) Resumen: Derivados de andrografólido para su uso como antiviral para el tratamiento de la enfermedad CoViD-19 o fibrosis pulmonar asociada a CoViD-19.



WO 2022/090597 A1

## DESCRIPCIÓN

### Derivados de andrografólido para su uso en el tratamiento de la enfermedad CoViD-19 y fibrosis pulmonar asociada a CoViD-19

5

La presente invención se refiere a un derivado de andrografólido para su uso como antiviral para el tratamiento de la enfermedad CoViD-19 o fibrosis pulmonar asociada a CoViD-19.

#### 10 ANTECEDENTES DE LA INVENCÓN

La rápida expansión de la pandemia mundial CoViD-19 ha supuesto una grave amenaza para los sistemas de salud de todos los países debido a su alta tasa de hospitalización y mortalidad. Un porcentaje importante de los enfermos de CoViD-19 fallecen a causa  
15 de la tormenta de citoquinas, generada por una respuesta inflamatoria exagerada del organismo humano, frente a una infección sobre la que no posee inmunidad previa. Por otro lado, muchos de los pacientes que sobreviven a la enfermedad después de su estancia de mayor o menor duración en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), quedan con secuelas pulmonares graves debido a la tormenta de citoquinas.

20

La industria farmacéutica ha desarrollado varios anticuerpos monoclonales dirigidos a inhibir citoquinas inflamatorias. Así, Tocilizumab (Roche), Sarilumab (Sanofi), Siltuximab (Eusa Pharma) son inhibidores de Interleucina-6 (IL-6); Anakinra (Amgen) es un inhibidor de Interleucina-1 (IL-1) y Canakinumab (Novartis) es un inhibidor de IL-1 $\beta$ . La  
25 IL-1beta IL-1 $\beta$  controla el inflamasoma y, por lo tanto, su inhibición resulta importante en el manejo de la inflamación.

Por otro lado, la industria farmacéutica ha desarrollado además fármacos capaces de inhibir vías moleculares intracelulares que tienen también un efecto en el control de la  
30 inflamación. Así, por ejemplo, Baricitinib (Olumiant) es un inhibidor de la vía JAK1/JAK2.

Muchos de los compuestos anteriores se han utilizado en ensayos clínicos durante la pandemia CoViD-19 para intentar reducir la respuesta inflamatoria frente al virus SARS-CoV-2.

35

Sin embargo, dichos fármacos adolecen de varias limitaciones en la práctica: muchas veces los anticuerpos monoclonales presentan una toxicidad elevada que se refleja en la aparición de efectos secundarios importantes; inhiben solamente un componente de la inflamación sin abordar la tormenta de citoquinas en conjunto; se dirigen  
5 exclusivamente a inhibir la respuesta inflamatoria en lugar de modularla.

Desde hace siglos en el Ayurveda (medicina tradicional de la India) se utiliza el principio activo andrografólido, presente en la planta de origen en India *Andrographis paniculata*, para el tratamiento de enfermedades respiratorias agudas.

10

La industria farmacéutica china ha desarrollado en el pasado un fármaco inyectable denominado Xiyanning. Aunque en el artículo D. Zhang *et al.*, The clinical benefits of Chinese patent medicines against CoViD-19 based on current evidence, *Pharm. Res.* 157 (2020) 104882, se menciona que dicho fármaco consiste principalmente en sulfonato de andrografólido, aunque en realidad se trata de un preparado semisintético  
15 que contiene una mezcla de dos derivados de andrografólido, 9-dehidro-17-hidro-andrografólido, y 9-dehidro-17-hidro- andrografólido -19-il sulfato, derivados estructurales del andrografólido diferentes a los presentados en esta invención.

20 El Xiyanning también se ha utilizado como alternativa eficaz a los antibióticos en la práctica clínica (Q. Li, *et al.*, Xiyanning plus azithromycin chemotherapy in pediatric patients with *mycoplasma pneumoniae pneumonia*: a systematic review and meta-analysis of efficacy and safety, *Evid.-Based Compl. Alt.* 2019 (2019) 2346583).

25 El Xiyanning también resulta eficaz como antipirético y antiinflamatorio (Q.W. Yang, *et al.*, Crystal structure and anti-inflammatory and anaphylactic effects of andrographolide sulphonate E in Xiyanning, a traditional Chinese medicine injection, *J. Pharm. Pharmacol.* 71 (2) (2019) 251–259).

30 Igualmente, el Xiyanning mejora los síntomas respiratorios, inhibe las infecciones bacterianas oportunistas, y regula la función inmune, con menor riesgo clínico, especialmente mediante cierta protección hepática, sugiriendo que puede aliviar el daño producido en el hígado por ciertos fármacos durante el tratamiento del CoViD-19 en casos agudos (N. Cai, *et al.*, Theoretical basis and effect characteristics of andrographolide against CoViD-19, *Chin. Tradit. Herb. Drugs* 51 (5) (2020) 1159–1166).  
35

Además, se ha reportado la actividad del Xiyanning sobre la mejora en casos de sepsis en ratones mediante la supresión de las vías de señalización MAPK, STAT3 and NF- $\kappa$ B, que juegan un papel importante en las enfermedades pulmonares (W. Guo, *et al.*, Water-soluble andrographolide sulfonate exerts anti-sepsis action in mice through down-regulating p38 MAPK, STAT3 and NF- $\kappa$ B pathways, *Int. Immunopharmacol.* 14 (4) (2012) 613–619).

Por otro lado, se ha estudiado la posibilidad de utilizar el andrografólido y otros compuestos fitoquímicos naturalmente presentes en *Andrographis paniculata* como antivirales mediante métodos computacionales. Así, muy recientemente se ha explorado la interacción del andrografólido mediante modelización computacional del acoplamiento molecular (*docking*) con componentes específicos del SARS-CoV-2 para el tratamiento del síndrome respiratorio agudo asociado a la CoViD-19. En este contexto, S. Alagu Lakshmi *et al.*, Ethnomedicines of Indian origin for combating CoViD-19 infection by hampering the viral replication: using structure-based drug discovery approach. *J. Biomol. Struct. Dyn.* (2020), doi: 10.1080/07391102.2020.1778537) indican la afinidad del bis-andrografólido por la proteasa principal 3CLpro del SARS-CoV-2, lo que potencialmente le permitiría inhibir esta enzima.

La afinidad andrografólido-proteasa principal 3CLpro del SARS-CoV-2 es igualmente descrita por S.K. Enmozhi *et al.*, Andrographolide as a potential inhibitor of SARS-CoV-2 main protease: an *in silico* approach, *J. Biomol. Struct. Dyn.* (2020), doi: 10.1080/07391102.2020.1760136).

Asimismo, Shi *et al.* han demostrado que tanto el andrografólido como su derivado fluorescente, el andrografólido conjugado con nitrobenzoxadiazol (Andro-NBD), inhiben la actividad de la proteasa principal de SARS-CoV-2 *in vitro*: Andrographolide and its fluorescent derivative inhibit the main proteases of 2019-nCoV and SARS-CoV through covalent linkage. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Aug 25; doi: 10.1016/j.bbrc.2020.08.086.

Por su parte, D. Sivaraman and P.S. Pradeep, Scope of phytotherapeutics in targeting ACE2 mediated host-viral interface of SARS-CoV2 that causes CoViD-19, doi: 10.26434/chemrxiv.12089730.v1) describen el bloqueo del receptor celular ACE2 por

andrografólido.

Asimismo, usando métodos computacionales de *docking* y de dinámica molecular, se ha valorado la utilización del andrografólido y tres derivados estructurales (14-deoxi-  
5 11,12-didehidro andrografólido, neoandrografólido y 14-deoxi andrografólido) frente a cuatro dianas del virus SARS-CoV-2, incluyendo tres proteínas no estructurales (proteasa principal 3CLpro, PLpro y polimerasa RNA dirigida a RNA RdRp) y una proteína estructural (*spike protein* (S)), que son responsables de la replicación, transcripción e internalización celular del virus, seleccionando al neoandrografólido como  
10 el mejor inhibidor (N.A. Murugan *et al.*, Computational investigation on *Andrographis paniculata* phytochemicals to evaluate their potency against SARS-CoV-2 in comparison to known antiviral compounds in drug trials, *J. Biomol. Struct. Dyn.* (2020), doi: 10.1080/07391102.2020.1777901).

15 Finalmente, en un estudio por *docking* sobre 27 metabolitos de origen vegetal, analizando el acoplamiento de los mismos con diversas dianas del virus (proteasa principal, proteína Nsp9, dominio del receptor *spike*, ectodominio del receptor *spike* y dominio HR2), no se seleccionó al andrografólido como significativo frente al SARS-CoV-2 comparado con otros compuestos (K.F. Azim *et al.*, Screening and druggability  
20 analysis of some plant metabolites against SARS-CoV-2: An integrative computational approach, *Informatics in Medicine Unlocked* 20 (2020) 100367).

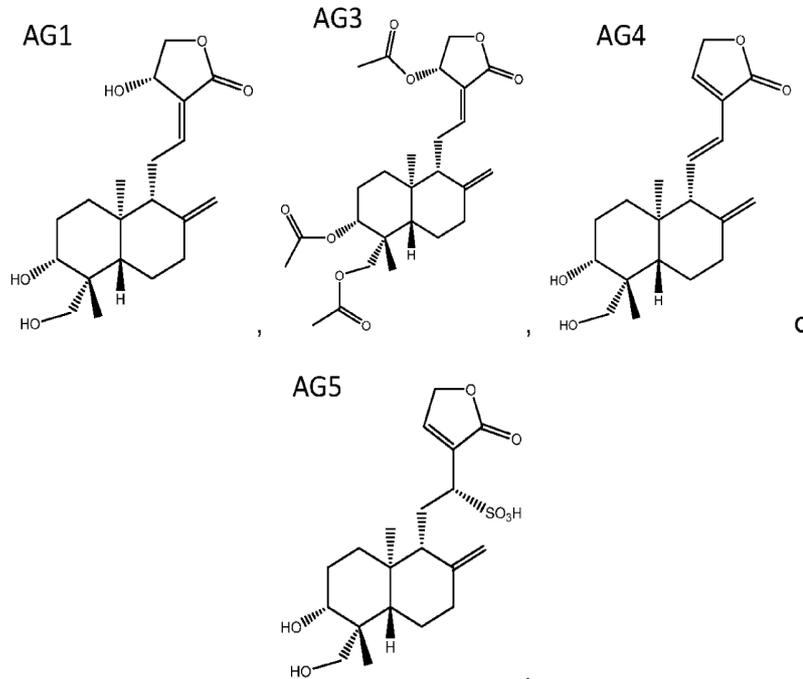
Además, se ha testado el andrografólido como antiviral en un dispositivo *microarray* que contenían algunos de las proteínas principales del virus SARS-CoV-2, obteniendo  
25 resultados positivos (P. Chen *et al.*, Establishment and validation of a drug-target microarray for SARS-CoV-2, doi: 10.1080/07391102.2020.1777901).

Por otro lado, se ha sugerido la utilización del andrografólido en combinación con melatonina como tratamiento potencialmente eficaz contra CoViD-19. (A. Banerjee *et al.*, Crosstalk between endoplasmic reticulum stress and anti-viral activities: A novel  
30 therapeutic target for CoViD-19, *Life Sciences* 255 (2020) 117842)

Por todo ello, resulta crítico desarrollar nuevos fármacos antivirales, que presenten una baja toxicidad y que además tenga una alta biodisponibilidad en el tracto respiratorio.

## DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto seleccionado de:



5

para su uso como antiviral en el tratamiento de CoViD-19 o de fibrosis pulmonar asociada a CoViD-19.

En otra realización, la invención se refiere al compuesto para el uso definido anteriormente, donde el compuesto se selecciona de AG3 o AG5.

En otra realización la invención se refiere al compuesto para el uso definido anteriormente, caracterizado porque se puede administrar por vía parenteral o por vía oral.

15

En otra realización la invención se refiere al compuesto para el uso definido anteriormente, donde el compuesto se administra a una concentración de entre 0,0001 mg/(kg h) y 10 mg/(kg h) durante un tiempo de entre 1 h a 2000 h, y preferiblemente a una concentración de entre 0,01 mg/(Kg h) y 0,25 mg/(Kg h) durante un tiempo de entre 24 h y 480 h.

20

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para

los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

5

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

**FIG. 1** muestra un esquema de la evaluación del efecto antiviral de fármacos. Se muestra el esquema experimental llevado a cabo para evaluar el efecto antiviral de diferentes fármacos en células Vero E6. d0, día de la infección con SARS-CoV-2.

**FIG. 2** muestra la evaluación del efecto antiviral de andrografólido, cloroquina e ivermectina. Se plaquearon  $2 \times 10^4$  células Vero E6 (paneles superiores) y se infectaron con SARS-CoV-2 a MOI 0,05 según se muestra en la Figura 2 en ausencia (sin fármaco) o presencia de los fármacos indicados, que se añadieron 24 h antes del virus (Pre-Tr) o con el virus (sin Pre-tr). Se recogió el sobrenadante a las 48h de la infección y se cuantificaron los genomas virales mediante RT-qPCR con oligonucleótidos específicos para el gen N viral, utilizando como curva patrón un stock de SARS-CoV-2 (aislado NAVARRA-2473) que había sido titulado previamente mediante un ensayo de formación de placas de lisis. Los números sobre las barras indican el porcentaje de inhibición de la producción de SARS-CoV-2 en cada condición respecto a las células infectadas sin fármacos, indicando también la comparación estadística entre estas muestras, que se realizó mediante un T test no pareado. \*,  $p < 0,05$ ; \*\*,  $p < 0,01$ ; *ns*, no significativo. Para todos los datos se muestra la media  $\pm$  error estándar de la media. Androg, andrografólido; Clor, cloroquina; Iver, ivermectina.

**FIG. 3** muestra el análisis del efecto antiviral del andrografólido y su derivado AG3 en células Vero E6. Se realizó un experimento similar al descrito en la Figura 3 en el que se probaron las concentraciones de andrografólido (**AG1**) y **AG3** indicadas poniendo los fármacos 24h antes de la infección con SARS-CoV2 o sin fármacos como control negativo. Se recogió el sobrenadante a las 48h tras la infección y se cuantificaron los genomas virales como se describió en la figura anterior. En el eje Y izquierdo se representa el porcentaje de inhibición de la producción viral para cada concentración de cada fármaco (círculos). En un experimento paralelo se incubaron las células sólo con los fármacos durante 96h y se analizó la toxicidad mediante un kit comercial (CellTiter-

Gloassay, Promega). En el eje Y derecho se representa la toxicidad como porcentaje de células muertas para cada concentración de fármaco (cuadrados). Para todos los datos se muestra la media  $\pm$  error estándar de la media.

5 **FIG. 4** muestra la actividad antiviral del andrografólido (**AG1**), el extracto original de *Andrographis paniculata* (EAp) y sus derivados estructurales (tratamiento en baño) medida en función de la expresión génica de la proteína viral N en larvas de *Danio rerio* tras la infección por microinyección de SVCV, respecto de un grupo control que no recibió tratamiento. \*\*,  $p < 0,01$ .

10

**FIG. 5** muestra la actividad antiviral del andrografólido (**AG1**), el extracto original de *Andrographis paniculata* (EAp) y sus derivados estructurales (tratamiento en baño) medida en función de la protección a la infección en baño por SVCV en larvas de *Danio rerio*. dpi = días post-infección.

15

**FIG. 6** muestra la actividad antiviral del andrografólido (**AG1**), el extracto original de *Andrographis paniculata* (EAp) y sus derivados estructurales (tratamiento en baño) medida en función de la expresión génica de la proteína viral N en larvas de *Danio rerio* tras la infección por microinyección de SVCV, respecto de un grupo control que no recibió tratamiento. \*,  $p < 0,05$ .

20

## EJEMPLOS

A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los  
25 inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

**EJEMPLO 1:** *Obtención de andrografólido (3-[2-[decahidro-6-hidroxi-5-(hidroxi-metil)-5,8a-dimetil-2-metileno-1-naftalenil]etilideno]dihidro-4-hidroxi-2(3H)-furanona) a partir del extracto de Andrographis paniculata*

30 Se suspende 5 g del extracto crudo de *A. paniculata* en 50 ml de agua Milli-Q® en un embudo de separación. Se añade 500 ml de hexano, se agita la mezcla vigorosamente y se deja decantar durante 1 hora. Se separa la fase orgánica y se repite el proceso dos veces, descartando las fracciones de n-hexano. A continuación, se añade 500 ml de cloroformo. La mezcla se agita vigorosamente y se deja decantar durante 1 hora. Se  
35 separa la fase orgánica cuidadosamente y se repite el proceso dos veces, juntando

todas las fracciones de cloroformo. El disolvente se elimina bajo presión reducida y el aceite obtenido se diluye con 200 ml de metanol. Esta disolución se calienta hasta ebullición, se filtra y se introduce en baño de hielo durante 1 h. A continuación, la disolución fría se guarda en nevera a 4 °C hasta evaporación casi completa del disolvente. Los cristales incoloros de andrografólido se lavan con metanol frío y se secan a temperatura ambiente. Se obtiene un rendimiento del 3% en andrografólido (compuesto **AG1**) de pureza superior al 99%.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) 6,62 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H); 5,67 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H); 5,01 (s, 1H); 4,91 (s, 1H), 4,81 (s, 1H); 4,62 (s, 1H); 4,39 (dd, *J* = 8,7, 6,4 Hz, 1H); 4,11 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H); 4,03 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H); 3,85 (d, *J* = 10,6 Hz, 1H); 3,28 – 3,14 (m, 2H); 2,45 (s, 1H); 2,32 (d, *J* = 12,6 Hz, 1H); 2,03 – 1,82 (m, 2H); 1,70 (dd, *J* = 29,9, 14,3 Hz, 4H); 1,35 (dd, *J* = 23,1, 12,7 Hz, 1H); 1,20 (d, *J* = 11,8 Hz, 2H), 1,09 (s, 3H); 0,66 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 169,89; 147,57; 146,22; 128,95; 108,18; 78,43; 74,27; 64,50; 62,61; 55,47; 54,37; 42,26; 38,56; 37,48; 36,50; 27,87; 23,93; 23,03; 14,71.  
HR-MS (ESI, *m/z*) [*M*+*H*]<sup>+</sup> calculada para C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>O<sub>5</sub> 351,4628; encontrada 351,4633.

## EJEMPLO 2: Síntesis de 3,14,19-triacetilandrografólido

20

Una disolución de andrografólido (**AG1**, 7,2 mg; 0,0205 mmol) en anhídrido acético (0,5 ml) se calienta a reflujo y se mantiene en agitación durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se diluye con acetato de etilo (20 ml) y se quenchea con disolución saturada de bicarbonato sódico (NaHCO<sub>3</sub>). Seguidamente se lava con agua y se extrae con acetato de etilo (3 x 20 ml). Se combinan las fases orgánicas y se lavan con disolución de cloruro sódico (10 ml), se secan con sulfato de sodio anhidro y se evapora el disolvente bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía Flash en un equipo Biotage® Selekt utilizando una mezcla hexano:acetato de etilo (80:20 v/v) como eluyente. En la fracción que contiene el producto se evapora el disolvente a presión reducida y se obtiene 9,2 mg de un sólido blanco (3,14,19-triacetilandrografólido, compuesto **AG3**, 94 %).

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,00 (td, *J* = 7,0, 1,5 Hz, 1H, H12); 5,92 (dt, *J* = 6,0, 1,0 Hz, 1H, H-14); 4,90 (s<sub>a</sub>, 1H, H-17b); 4,60 (dd, *J* = 12,0, 4,0 Hz, 1H, H-3); 4,54 (dd, *J* = 11,0, 6,0 Hz, 1H, H-15b); 4,52 (s<sub>a</sub>, 1H, H-17a); 4,35 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H, H-19b); 4,24 (dd, *J* =

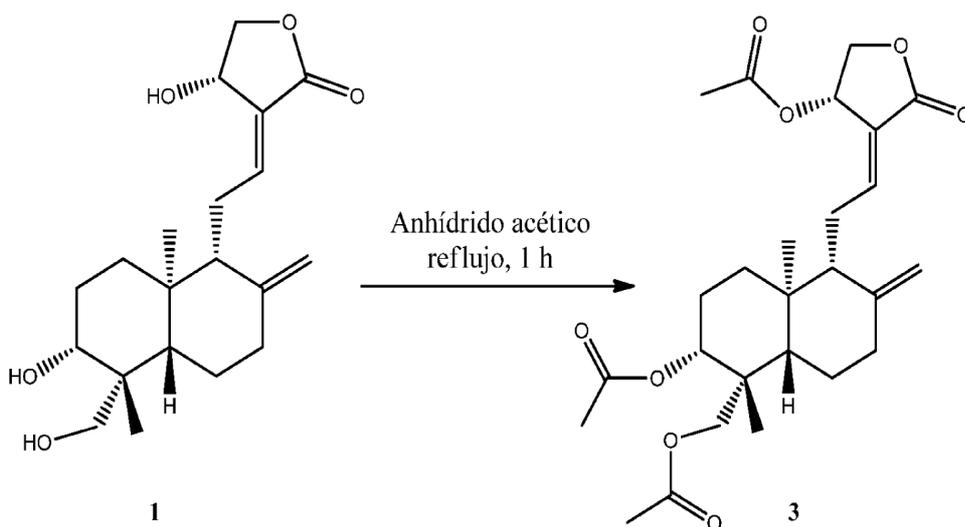
35

11,0, 2,0 Hz, 1H, H-15a); 4,12 (d,  $J = 11,5$  Hz, 1H, H-19a); 2,47 (ddd,  $J = 16,0, 6,5, 3,0$  Hz, 1H, H-9); 2,44-2,33 (m, 2H, H-11); 2,12 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>); 2,04 (s, 6H, 2 x COCH<sub>3</sub>); 2,01-1,45 (m, 5H); 1,39-1,29 (m, 4H); 1,02 (s, 3H, H-18); 0,75 (s, 3H, H-20).

5 <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 170,9 (COCH<sub>3</sub>); 170,5 (COCH<sub>3</sub>); 170,4 (COCH<sub>3</sub>), 169,0 (C-16); 150,1 (C-12); 146,5 (C-8); 124,0 (C-13); 108,9 (C-17); 79,7 (C-3); 71,6 (C-15); 67,8 (C-19); 64,7 (C-14); 55,9 (C-9); 55,3 (C-5); 41,3 (C-18); 38,9 (C-10); 37,9 (C-7); 37,0 (C-1); 25,2 (C2); 24,6 (C-6); 24,2 (C-11); 22,7 (C-18); 21,2 (COCH<sub>3</sub>); 21,1 (COCH<sub>3</sub>); 20,7 (COCH<sub>3</sub>); 14,5 (C-20).

10

HR-MS (ESI, m/z) [M+Na]<sup>+</sup> calculada para C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>O<sub>8</sub>Na 499,2308; encontrada 499,2311.



15 **EJEMPLO 3: Síntesis de 14-deoxi-11,12-didehidroandrografólido**

3,0 g de andrografólido (**AG1**, 8,6 mmol) se disuelven en piridina anhidra (8 ml). A continuación, se añaden 600 mg de óxido de aluminio (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) a la disolución anterior. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 115 °C durante 12 horas. Una vez completada la reacción, se filtra y se evapora el disolvente a sequedad. El crudo se redissuelve en diclorometano (DCM) y se lava con disolución acuosa de cloruro sódico. La fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro y se evapora el disolvente a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía Flash en un equipo Biotage® Selekt utilizando una mezcla hexano:acetato de etilo (60:40 v/v) como eluyente. En la fracción que contiene el producto se evapora el disolvente a presión reducida, y se

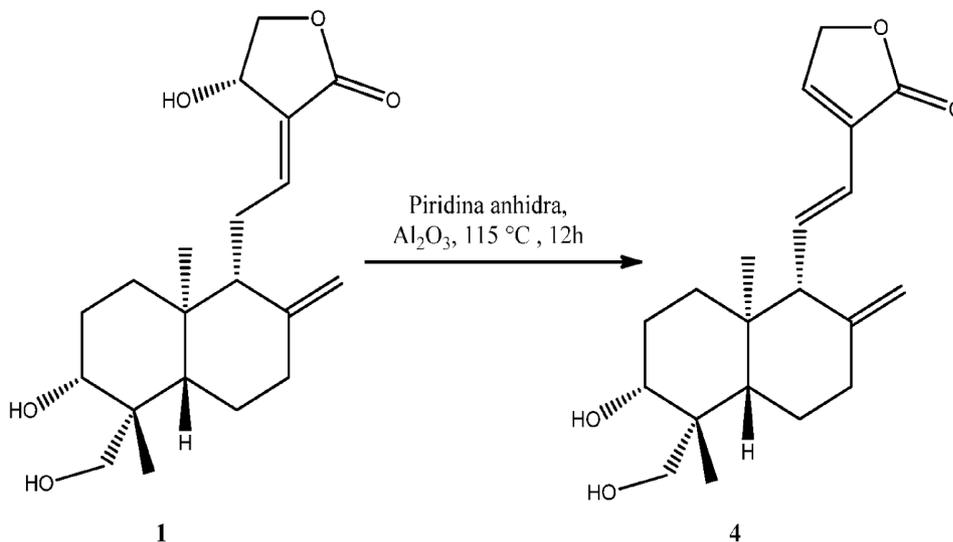
20

25

obtiene el compuesto **AG4** como un sólido blanco (93 %).

$^1\text{H}$  RMN (600 MHz, DMSO- $d_6$ ) 7,64 (s, 1H, 14-H), 6,72 (dd,  $J=15,8, 10,1$  Hz, 1H, 11-H), 6,10 (d,  $J=15,8$  Hz, 1H, 12-H), 4,87 (s, 2H, 15-H), 4,71 (s, 1H, 17a-H), 4,40 (s, 1H, 17 b-H), 4,12 (d,  $J=10,7$  Hz, 1H, 19a-H), 3,83 (d,  $J=10,9$  Hz, 1H, 19 b-H), 3,23–3,17 (m, 1H, 3-H), 2,35 (dd,  $J=9,5, 4,3$  Hz, 1H, 9-H), 2,00–1,91 (m, 1H, 7-H), 1,76–1,66 (m, 2H, 2-H), 1,59–1,31 (m, 3H, 1-H, 6a-H), 1,21–1,14 (m, 1H, 5-H), 1,11 (dd,  $J=13,4, 4,4$  Hz, 1H, 6 b-H), 1,07 (s, 3H, 18- $\text{CH}_3$ ), 0,74 (s, 3H, 20- $\text{CH}_3$ ).

10 HR-MS (ESI, m/z)  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculada para  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_4$ , 333,2060; encontrada 333,2062.



#### EJEMPLO 4: Síntesis de 14-deoxi-12(R)-sulfo-andrografólido

15 1,0 g de andrografólido (**AG1**, 2,9 mmol) se disuelven en 15 ml de etanol al 95%, calentando dicha disolución a 50 °C (disolución 1). A 4 ml de disolución de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  1M, se añaden 4,8 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 2% (M/M) y 8 ml de agua (disolución 2). La disolución 1 se añade sobre la disolución 2 y la mezcla de reacción se mantiene en agitación a reflujo durante 30 minutos. Una vez completada la reacción, se ajusta el pH de la reacción a

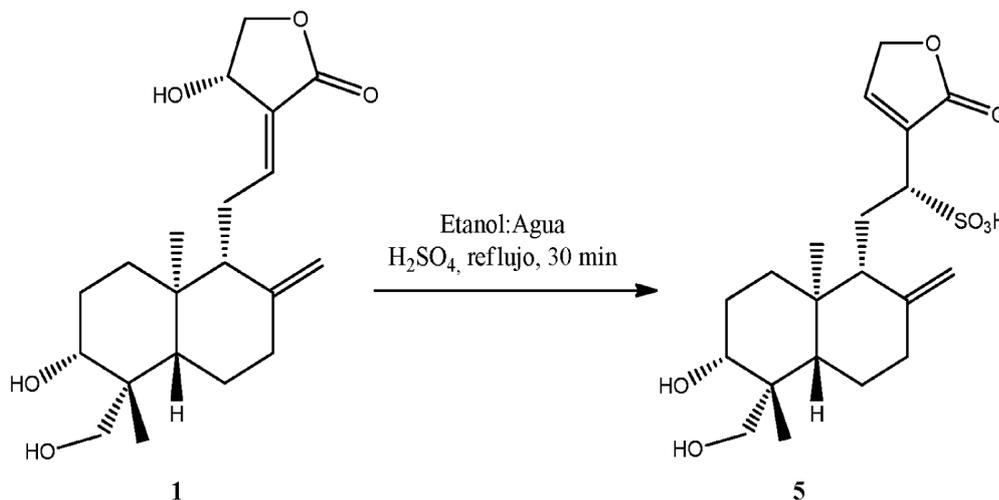
20 pH 6 ~7 añadiendo disolución de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) al 2% y se evapora el disolvente a sequedad. El residuo se disuelve en agua (20 ml) y se extrae con cloroformo (20 ml x 3). Se evapora el disolvente de la fase orgánica bajo presión reducida. El residuo de la fase acuosa se disuelve en metanol (10 ml) y se filtra. En la fracción que contiene el producto se evapora el disolvente a presión reducida y se obtienen 0,6 g del

25 compuesto **AG5** (51 %).

<sup>1</sup>H-RMN (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7,65 ppm (t, *J* = 1,8 Hz, 1H); 4,95 (o, 2H); 4,87 (o, 2H); 4,66 (s<sub>a</sub>, 1H); 4,16 (dd, *J* = 10,2 y 6,1 Hz, 1H); 4,05 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H); 3,92 (dd, *J* = 12,2 y 1,8 Hz, 1H); 3,30 (t, *J* = 9,8 Hz, 1H); 3,27 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H); 2,36 (m, H); 2,31 (dd, *J* = 12,6 y 11,4 Hz, 1H); 2,08 (t, *J* = 12,6 Hz, 1H); 1,86 (m, H); 1,83 (m, H); 1,80 (m, H); 1,71 (m, 2H); 1,38 (d<sub>a</sub>, *J* = 11,8 Hz, 1H); 1,28 (qd, *J* = 12,6 y 4,2 Hz, 1H); 1,12 (s, 3H); 1,10 (dd, *J* = 12,6 y 2,4 Hz, 1H); 1,02 (m, H); 0,68 (s, 3H);

<sup>13</sup>C-RMN (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 177,2; 152,1; 149,1; 132,5; 109,2; 81,7; 73,3; 65,8; 57,2; 56,8; 55,3; 44,5; 40,8; 40,1; 38,9; 29,8; 28,0; 26,1; 24,2; 16,4.

HR-MS (ESI, *m/z*) [M-H]<sup>-</sup> calculada para C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>O<sub>7</sub>S, 413,1639; encontrada 413,1634.



15 **EJEMPLO 5:** *Eficacia antiviral (SARS-CoV-2) del andrografólido y sus derivados estructurales en cultivos celulares*

La actividad antiviral del andrografólido y sus derivados estructurales se estableció en función de su capacidad de inhibir la producción de SARS-CoV-2 en la línea celular Vero E6 tras la infección con un aislado de este coronavirus. En el Cima Universidad de Navarra se dispone de un aislado de SARS-CoV-2 obtenido a partir de la muestra nasal de un paciente de CoViD-19 ingresado en la Clínica Universidad de Navarra (aislado NAVARRA-2473). Con esta muestra se infectaron células Vero-E6, observándose un fuerte efecto citopático a 72 h. Los sobrenadantes que contenían el virus se titularon mediante placas de lisis en células Vero-E6 obteniéndose un título de 4,3x10<sup>7</sup> PFU (unidades formadoras de placas)/ml. La identidad del virus se confirmó mediante

titulación de genomas virales por RT-qPCR usando un kit comercial de diagnóstico para CoViD-19 (BGI, China). Posteriormente, se puso a punto un ensayo de neutralización del virus, para el cual se utilizaron  $2 \times 10^4$  células Vero E6 en placas de 96 pocillos que fueron infectadas con SARS-CoV-2 a una multiplicidad de infección (MOI = número de

5 PFUs/ célula) de 0,05. Para la infección las células fueron incubadas con 50  $\mu$ l de medio de infección (MEM con BSA 0,2%, glutamina 2 mM y HEPES 20 mM) que contenía la cantidad de virus indicada (y el fármaco a testar) durante 1 h a 37°C/5% CO<sub>2</sub> y con agitación cada 15 minutos. Posteriormente se eliminó el inóculo, se lavaron los pocillos con 200  $\mu$ l de PBS Ca<sup>++</sup>Mg<sup>++</sup> (Invitrogene) y se incubaron a 37°C/5%CO<sub>2</sub> con 200  $\mu$ l de

10 medio de cultivo normal (MEM 5% suero fetal bovino) que también contenía el fármaco. El medio de cultivo, con o sin el fármaco, se cambió cada 24 h durante el experimento. Posteriormente se recogieron los sobrenadantes a diferentes tiempos, se procedió a la extracción del RNA viral utilizando esferas magnéticas de unión a ácidos nucleicos y se tituló el virus producido mediante RT-qPCR con oligonucleótidos específicos para el gen

15 N de SARS-CoV2 (Fw N1-2019-nCov2: 5'- GACCCCAAATCAGCGAAAT-3' (SEQ ID NO: 1) y Rv-N1-2019-nCov2: 5'-TCTGGTTACTGCCAGTT-GAATCTG-3' (SEQ ID NO: 2)). Estos ensayos se realizaron usando dos pautas de tratamiento: en un caso el tratamiento con la droga a testar se inició 24 h antes de la infección del virus y se mantuvo durante 48 h post infección (p.i.), tiempo en el que se recogieron los

20 sobrenadantes para determinar la carga viral. En el segundo caso la droga se administró al mismo tiempo que el virus y los sobrenadantes se recogieron a las 48h p.i. En la Figura 1 se muestra esquemáticamente el proceso seguido para la infección y tratamiento de los cultivos.

25 En un primer ensayo antiviral se testó sólo el andrografólido a una concentración de 5  $\mu$ M (Tabla 1), utilizando como controles positivos la cloroquina (10  $\mu$ M) y la ivermectina (5  $\mu$ M) . En la Figura 2 se muestran los resultados de inhibición sobre la replicación del virus obtenidos con estos compuestos cuando el tratamiento se inició 24 h antes de la infección (Pre-tr) o cuando se inició en el momento de la infección (sin-Pre-Tr).

30 Asimismo, en la Tabla 2 se describen los principales parámetros de este estudio y se resumen los resultados. Se observa que el andrografólido presentó una potente actividad antiviral frente al SARS-CoV-2 en células Vero E6, similar a la de la ivermectina.

**Tabla 1.** Condiciones experimentales en los ensayos *in vitro* con andrografólido y otros agentes antivirales sobre SARS-CoV-2.

Compuesto <sup>(1)</sup>	Concentración ( $\mu\text{M}$ )	Tiempo recogida (p.i.)	Tiempo analizado (p.i.)
Andrografólido	5	Vero E6: 48 h	Vero E6: 48 h
Cloroquina	10	Vero E6: 48 h	Vero E6: 48 h
Ivermectina	5	Vero E6: 48 h	Vero E6: 48 h

5 **Tabla 2.** Reducción de la carga viral de SARS-CoV-2 en células Vero E6 con andrografólido y otros agentes antivirales.

Compuesto	Reducción carga viral Pre-tr (%)	Reducción carga viral sin Pre-tr (%)
Andrografólido (5 $\mu\text{M}$ )	93,5	94,0
Cloroquina (10 $\mu\text{M}$ )	100	100
Ivermectina (5 $\mu\text{M}$ )	97,7	96,2

Seguidamente se comparó la actividad del andrografólido y del compuesto **AG3** para inhibir la replicación del virus SARS-CoV-2 en células Vero E6. Este estudio se

10 llevó a cabo con un rango de concentraciones de los fármacos 1-20  $\mu\text{M}$  haciendo en todos los casos un pretratamiento de 24h como se muestra en la Figura 1. En la Figura 3, se muestran los resultados obtenidos. Se observa que tanto el andrografólido (**AG1**) como el derivado **AG3** presentan una fuerte inhibición de la replicación del virus a concentración 5  $\mu\text{M}$  (98% el **AG1**, 93% el **AG3**). A concentraciones mayores (10  $\mu\text{M}$ ) se

15 produce un bloqueo casi completo (>99%) de la replicación del virus con ambos fármacos, pero aumenta la toxicidad de los mismos. Para evaluar este último parámetro las mismas cantidades de células fueron incubadas con los fármacos a las mismas concentraciones y tiempos indicados en la figura 3. La medida de la toxicidad se realizó mediante un ensayo luminiscente para determinar el número de células viables en

20 cultivo basado en la cuantificación de ATP, que es un indicador de células metabólicamente activas. Para ello se usó un kit comercial (CellTiter-Gloassay, Promega).

25 **EJEMPLO 6:** Validación de la actividad antiviral del andrografólido y sus derivados en larvas de pez cebra (*Danio rerio*)

La actividad antiviral de los compuestos se evaluó *in vivo* mediante la infección con el

*Rhabdovirus* de la viremia primaveral de la carpa (SVCV), tanto mediante microinyecciones en el conducto de Cuvier (2 nl de la solución de patógeno usando una microaguja de vidrio en un micro-manipulador), como mediante infecciones por baño administrando el patógeno viral en el agua. Los peces se trataron con los distintos compuestos y se infectaron para realizar un seguimiento de las mortalidades y evaluar la carga viral mediante RT-qPCR de la expresión de la proteína N del virus.

En un primer ensayo se determinó la actividad antiviral de los compuestos **AG1** (28  $\mu\text{M}$ ), **AG3** (10  $\mu\text{M}$ ) y EAp (10  $\mu\text{g/ml}$ ) mediante infección por microinyección (solución 1 % etanol en PBS). Los tratamientos se realizaron en baño durante 24 h en peces de 1 día post fertilización (5 peces/pocillo). El experimento se llevó a cabo por triplicado ( $n = 3$ ). Al segundo día post fertilización se inyectó a cada pez (2 nl en ducto de Cuvier)  $5 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml de SVCV. A las 24 h post infección se determinó la expresión de la proteína viral en los peces supervivientes. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4, donde se observa que los compuestos **AG1** y **AG3** reducen la expresión de la proteína N respecto de un grupo control que no recibió tratamiento.

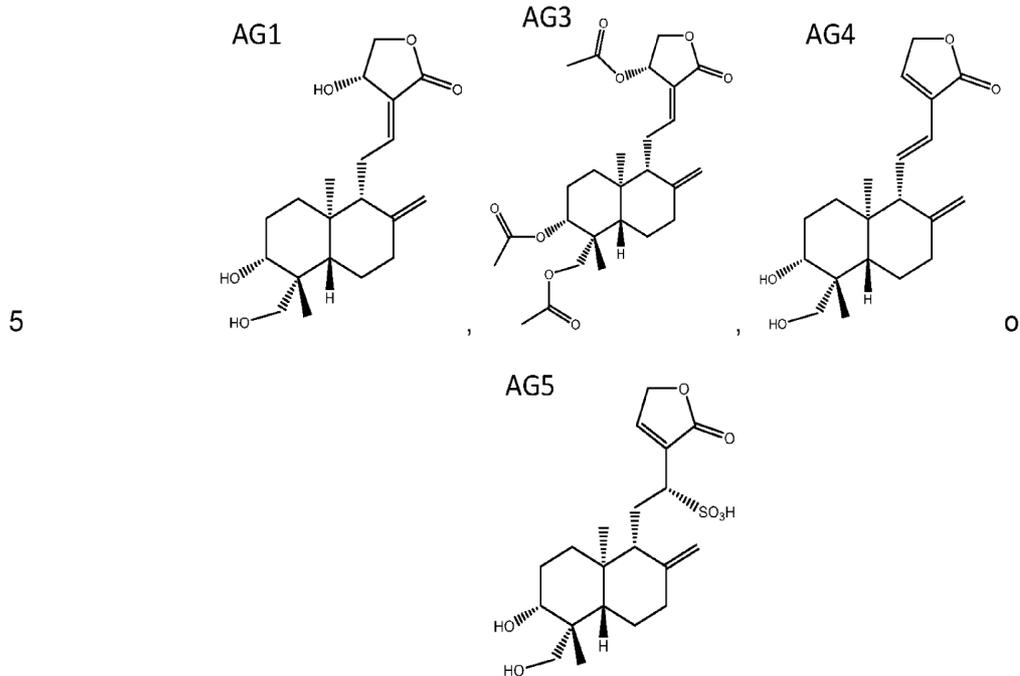
En un segundo ensayo se midió la actividad antiviral de los compuestos **AG1**, **AG4**, **AG5** y EAp a diferentes concentraciones (10, 20 y 50  $\mu\text{M}$  para los compuestos puros, 10, 20 y 50  $\mu\text{g/ml}$  para el extracto) mediante infección por baño y seguimiento de mortalidades. Los tratamientos se realizaron en baño durante 24 h sobre peces de 2 días post fertilización (10 peces/pocillo). A los 4 días post tratamiento se llevó a cabo la infección por baño ( $7 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml de SVCV), y se observó la supervivencia de los peces durante 5 días. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 5, donde se observa que los compuestos **AG4** y **AG5** inhiben de forma drástica la infección por SVCV en las larvas y presentan muy baja o nula toxicidad en un rango de concentraciones muy amplio (hasta 50  $\mu\text{M}$ ).

En un tercer ensayo, se analizó la actividad antiviral de los compuestos **AG1** (5  $\mu\text{M}$ ), **AG3** (5  $\mu\text{M}$ ), **AG4** (10  $\mu\text{M}$ ) y **AG5** (10  $\mu\text{M}$ ), frente a SVCV. Los tratamientos se realizaron en baño durante 24 h sobre peces de 1 día post fertilización (10 peces/pocillo). El experimento se llevó a cabo por cuadruplicado ( $n = 4$ ). Al segundo día post fertilización se inyectó a cada pez (2 nl en ducto de Cuvier)  $5 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml de SVCV. A las 24 h se realizó la extracción de RNA de los peces para determinar la expresión de la proteína viral N mediante PCR cuantitativa. Aunque todos los tratamientos redujeron la carga

viral, AG1, AG4 y AG5 lo hicieron de forma significativa (Figura 6).

**REIVINDICACIONES**

1. Un compuesto seleccionado de:



para su uso como antiviral en el tratamiento de CoViD-19 o de fibrosis pulmonar asociada a CoViD-19.

10

2. El compuesto para el uso según la reivindicación 1, donde el compuesto se selecciona de AG3 o AG5.
3. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque se puede administrar por vía parenteral o por vía oral.
- 15
4. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el compuesto se administra a una concentración de entre 0,0001 mg/(kg h) y 10 mg/(kg h) durante un tiempo de entre 1 h a 2000 h.

20

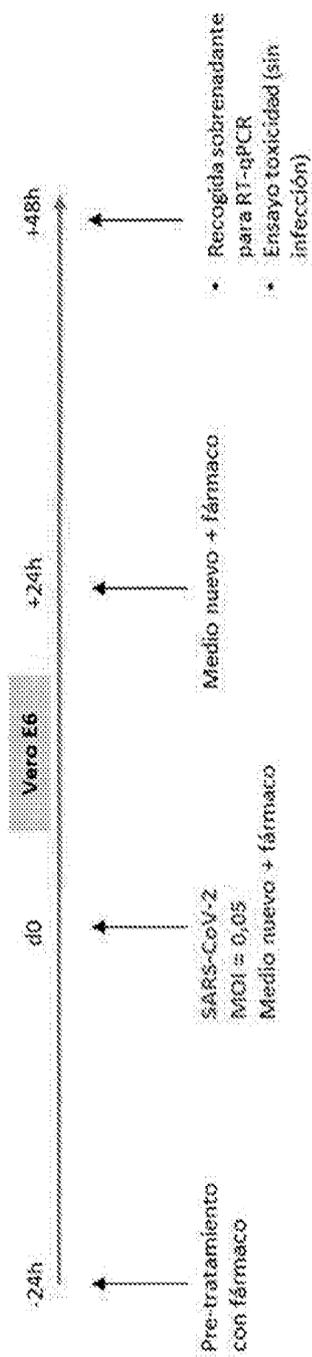


Fig. 1

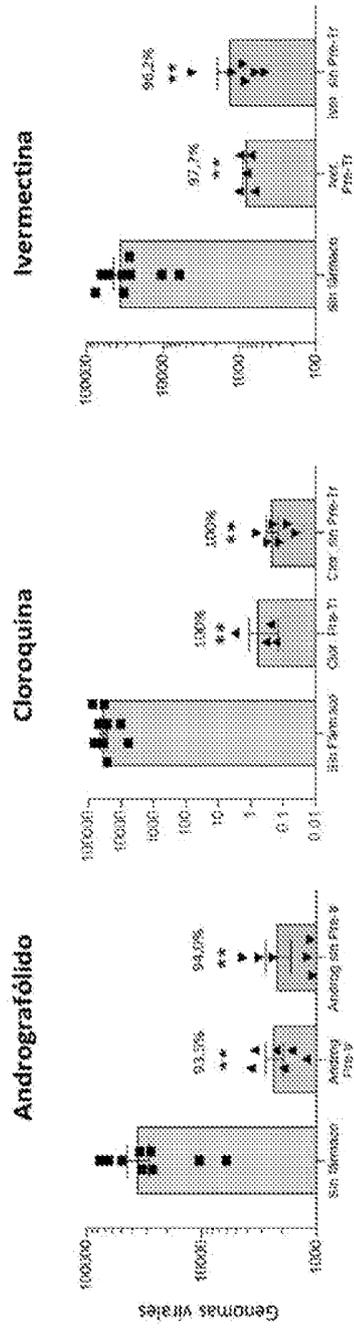


Fig. 2

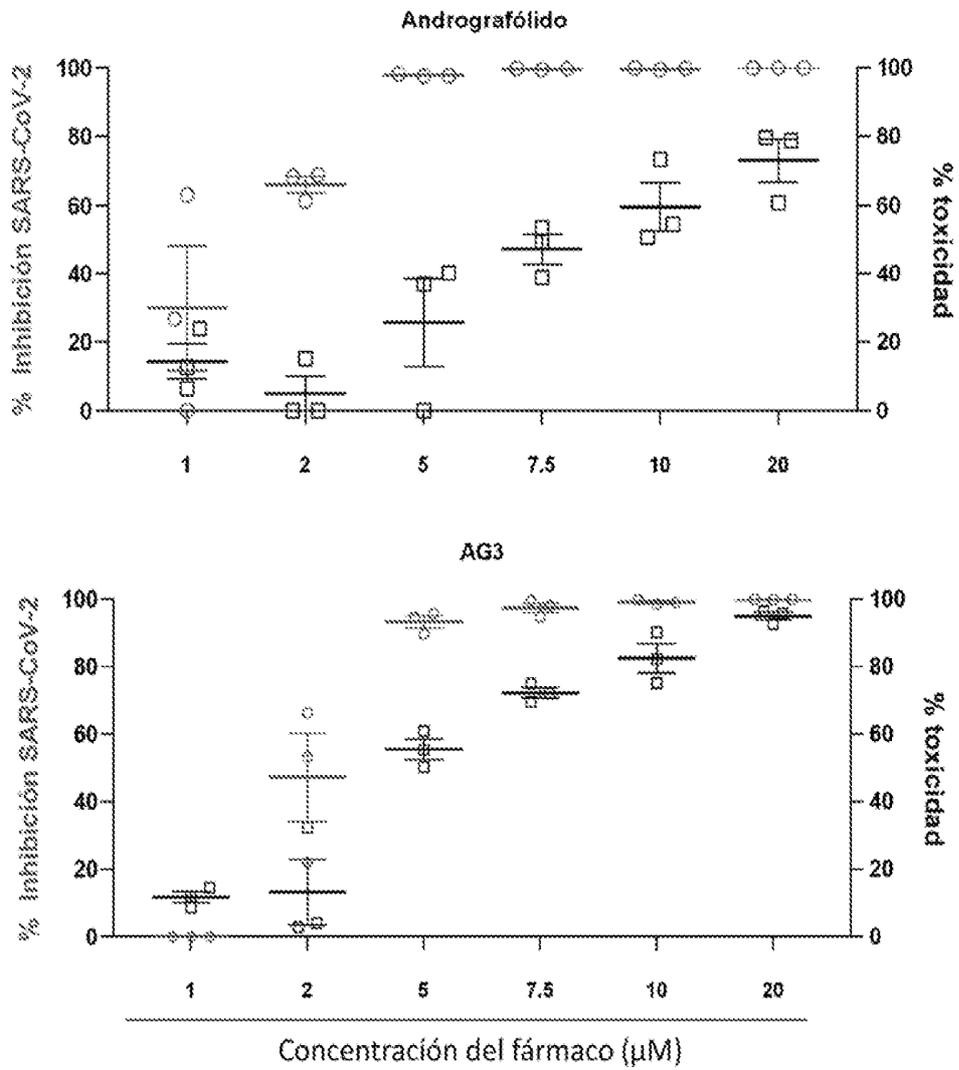


Fig. 3

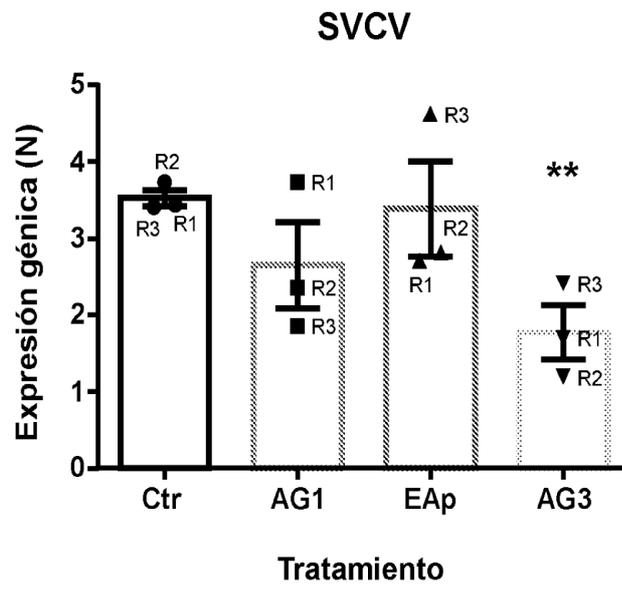


Fig. 4

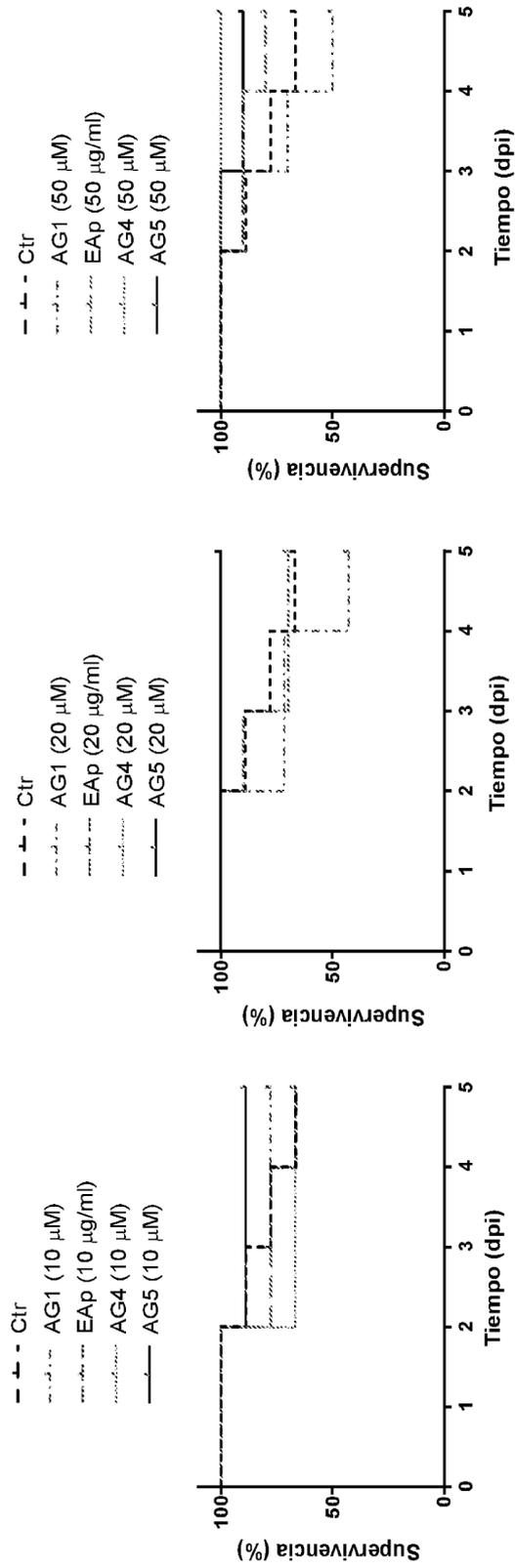


Fig. 5

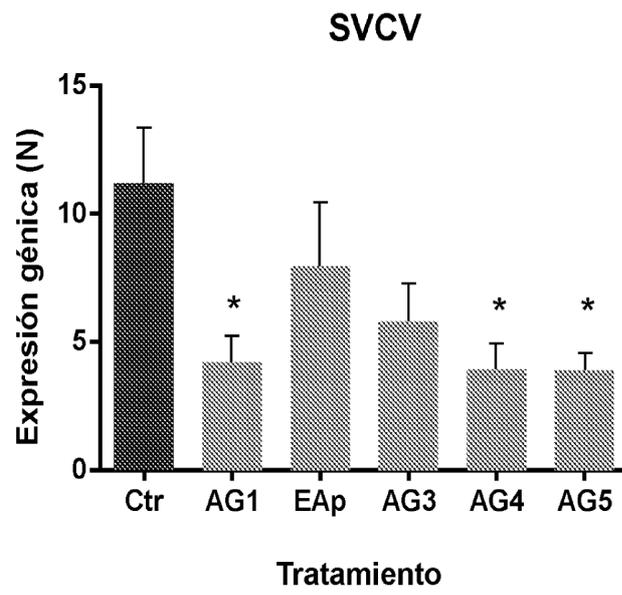


Fig. 6

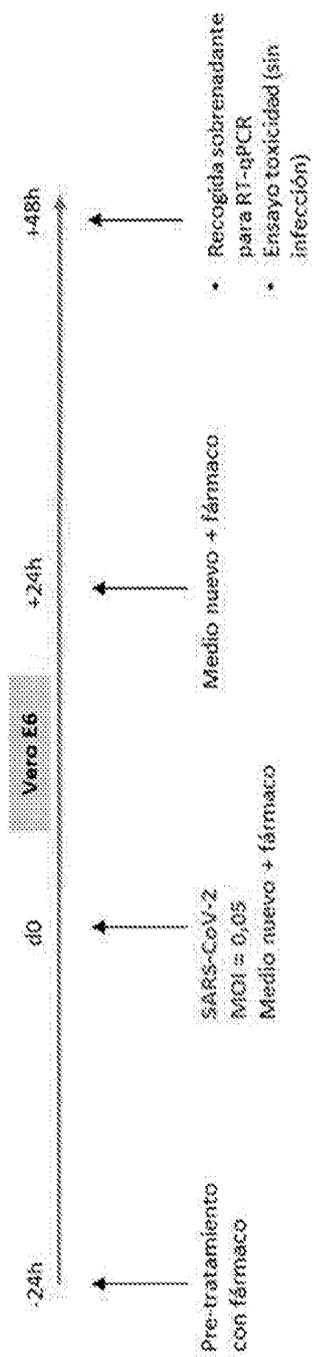


Fig. 1

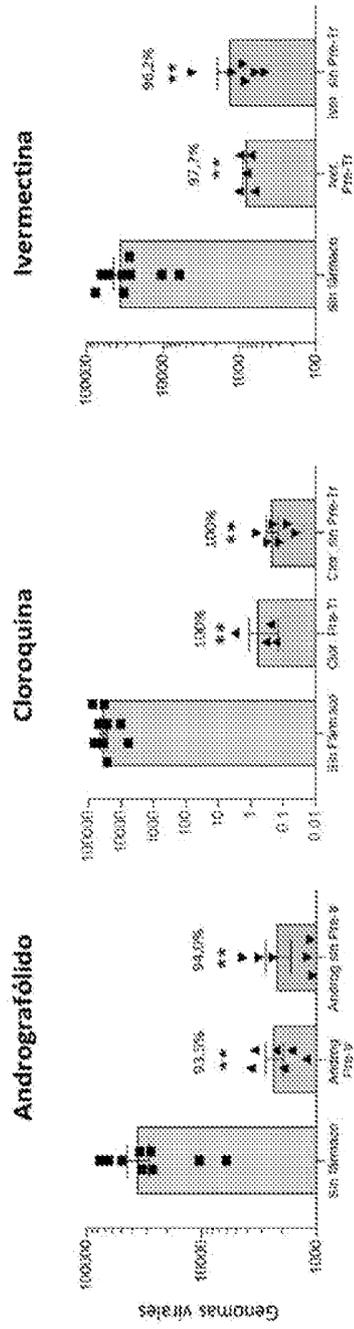


Fig. 2

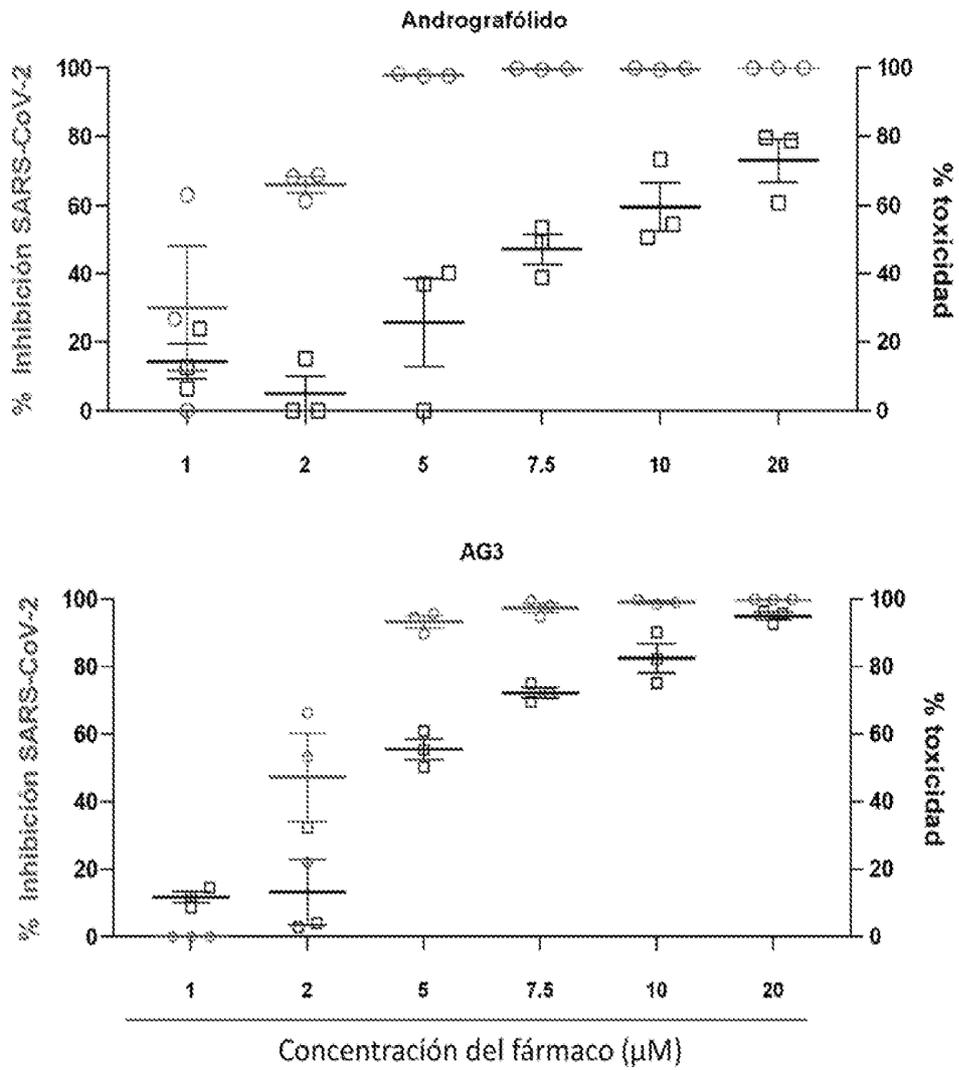


Fig. 3

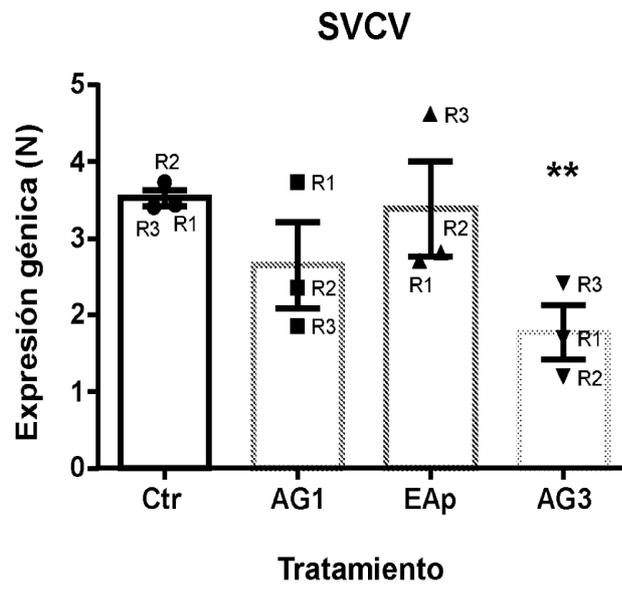


Fig. 4

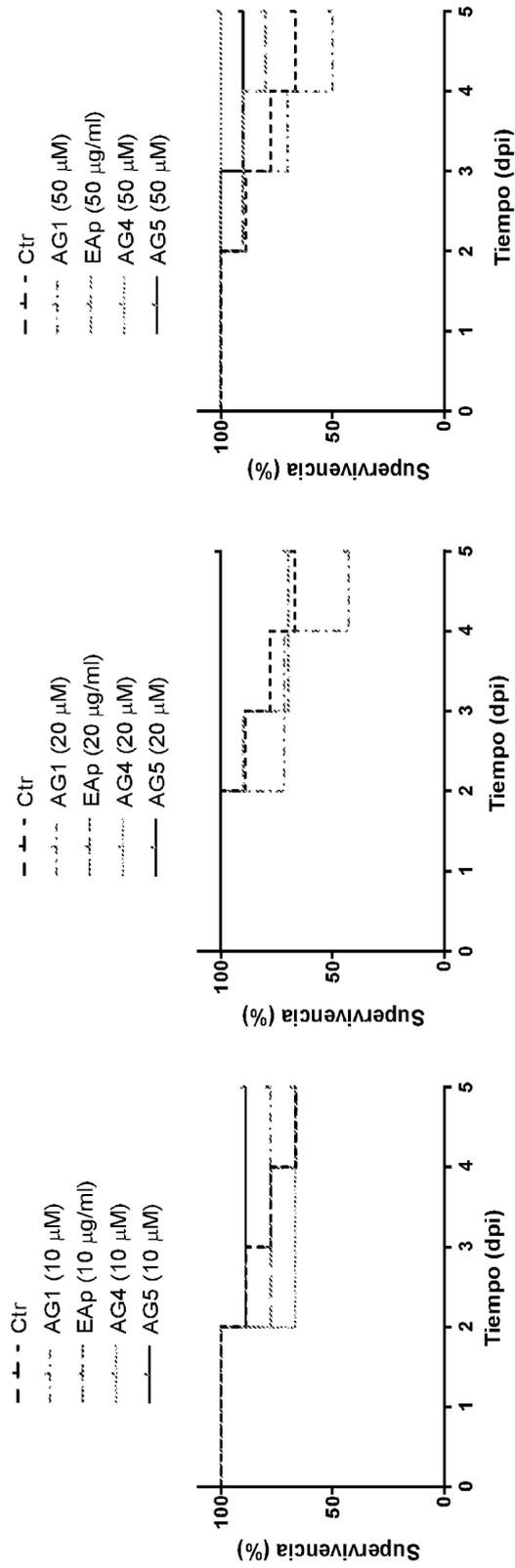


Fig. 5

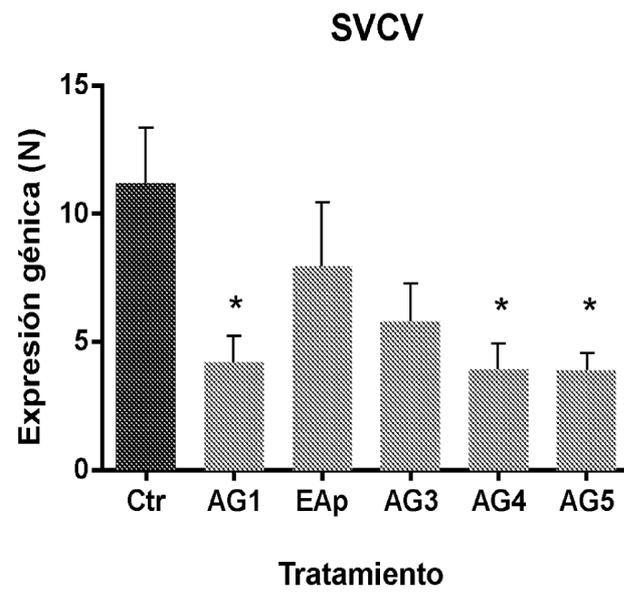


Fig. 6

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2021/070770

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, REGISTRY, HCAPLUS, WPI, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, NPL

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HIREMATH SHRIDHAR et al.. In silico docking analysis revealed the potential of phytochemicals present in Phyllanthus amarus and Andrographis paniculata, used in Ayurveda medicine in inhibiting SARS-CoV-2. 3 Biotech Jan 11 2021., 11/01/2021, Vol. 11, Nº 2, pages Article No.: 44, ISSN 2190-572X(print) ISSN 2190-5738(electronic), <DOI: 10.1007/s13205-020-02578-7> the whole the document, in especial page 16, table 1; pages 17 and 18, table 2 and page 21, table 3. Publicado online the 05.08.2020	1-4

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19/01/2022

Date of mailing of the international search report

**(26/01/2022)**

Name and mailing address of the ISA/

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)

Facsimile No.: 91 349 53 04

Authorized officer

E. Albarrán Gómez

Telephone No. 91 3493038

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2021/070770

C (continuation).		DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MURUGAN NATARAJAN ARUL et al.. Computational investigation on <i>Andrographis paniculata</i> phytochemicals to evaluate their potency against SARS-CoV-2 in comparison to known antiviral compounds in drug trials.. <i>Journal Of Biomolecular Structure &amp; Dynamics</i> England 08 2021., 31/07/2021, Vol. 39, N° 12, pages 4415 - 4426, ISSN 1538-0254 (Electronic), <DOI: 10.1080/07391102.2020.1777901 pubmed:32543978> the whole document, in especial page 9, table 2	1-4
X	SHI TZU-HAU et al.. Andrographolide and its fluorescent derivative inhibit the main proteases of 2019-nCoV and SARS-CoV through covalent linkage. <i>Biochemical And Biophysical Research</i> , 25/08/2020, Vol. 533, pages 467-473, ISSN 0006-291X(print) ISSN 1090-, <DOI: DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.08.086> the whole document; publicado online the 25.August.2020	1-4
X	VIMAL K. MAURYA, Y COL.. Structure-based drug designing for potential antiviral activity of selected natural products from Ayurveda against SARS-CoV-2 spike glycoprotein and its celular receptor.. <i>Virus Disease</i> , 24/05/2020, Vol. 31, N° 2, pages 179-193, ISSN 2347-3584 (print), <DOI: doi.org/10.1007/s13337-020-00598-8> the whole document.	1-4
X	RAJAGOPAL KALIRAJAN et al.. Activity of phytochemical constituents of <i>Curcuma longa</i> (turmeric) and <i>Andrographis paniculata</i> against coronavirus (COVID-19): an in silico approach.. <i>Future Journal Of Pharmaceutical Sciences</i> 2020., 16/10/2020, Vol. 6, N° 1, pages 104, ISSN 2314-7253 (Electronic), <DOI: 10.1186/s43094-020-00126-x pubmed:33215042> the whole document	1-4

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2021/070770

## CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

*A61K31/365* (2006.01)

*A61K36/19* (2006.01)

*A61P31/14* (2006.01)

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2021/070770

## A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver Hoja Adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

## B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, REGISTRY, HCAPLUS, WPI, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, NPL

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	<p>HIREMATH SHRIDHAR et al.. In silico docking analysis revealed the potential of phytochemicals present in Phyllanthus amarus and Andrographis paniculata, used in Ayurveda medicine in inhibiting SARS-CoV-2. 3 Biotech Jan 11 2021., 11/01/2021, Vol. 11, Nº 2, páginas Article No.: 44, ISSN 2190-572X(print) ISSN 2190-5738(electronic), &lt;DOI: 10.1007/s13205-020-02578-7&gt; todo el documento, en especial página 16, tabla 1; páginas 17 y 18, tabla 2 y página 21, tabla 3. Publicado online el 05.08.2020</p>	1-4

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos  Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	
	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.  
19/01/2022

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.  
**26 de enero de 2022 (26/01/2022)**

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional  
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS  
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)  
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado  
E. Albarrán Gómez  
  
Nº de teléfono 91 3493038

**INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL**

Solicitud internacional n°

PCT/ES2021/070770

C (Continuación).		DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
X	MURUGAN NATARAJAN ARUL et al.. Computational investigation on Andrographis paniculata phytochemicals to evaluate their potency against SARS-CoV-2 in comparison to known antiviral compounds in drug trials.. Journal Of Biomolecular Structure & Dynamics England 08 2021., 31/07/2021, Vol. 39, N° 12, páginas 4415 - 4426, ISSN 1538-0254 (Electronic), <DOI: 10.1080/07391102.2020.1777901 pubmed:32543978> todo el documento, en especial página 9, tabla 2	1-4
X	SHI TZU-HAU et al.. Andrographolide and its fluorescent derivative inhibit the main proteases of 2019-nCoV and SARS-CoV through covalent linkage. Biochemical And Biophysical Research, 25/08/2020, Vol. 533, páginas 467-473, ISSN 0006-291X(print) ISSN 1090-, <DOI: DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.08.086> Todo el documento; publicado online el 25.agosto.2020	1-4
X	VIMAL K. MAURYA, Y COL.. Structure-based drug designing for potential antiviral activity of selected natural products from Ayurveda against SARS-CoV-2 spike glycoprotein and its cellular receptor.. Virus Disease, 24/05/2020, Vol. 31, N° 2, páginas 179-193, ISSN 2347-3584 (print), <DOI: doi.org/10.1007/s13337-020-00598-8> todo el documento.	1-4
X	RAJAGOPAL KALIRAJAN et al.. Activity of phytochemical constituents of Curcuma longa (turmeric) and Andrographis paniculata against coronavirus (COVID-19): an in silico approach.. Future Journal Of Pharmaceutical Sciences 2020., 16/10/2020, Vol. 6, N° 1, páginas 104, ISSN 2314-7253 (Electronic), <DOI: 10.1186/s43094-020-00126-x pubmed:33215042> todo el documento	1-4

**CLASIFICACIONES DE INVENCION**

*A61K31/365* (2006.01)

*A61K36/19* (2006.01)

*A61P31/14* (2006.01)