

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 390 472**

51 Int. Cl.:
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/045 (2006.01)
A61K 31/05 (2006.01)
A61K 31/4196 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06744740 .9**
96 Fecha de presentación: **15.05.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1879654**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.01.2008**

54 Título: **Combinación farmacéutica que comprende un agente antifúngico y un principio activo que es especialmente eugenol o carvacrol**

30 Prioridad:
13.05.2005 WO PCT/IB2005/001317

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.11.2012

73 Titular/es:
**ADVANCED SCIENTIFIC DEVELOPEMENTS
(100.0%)
10 RUE LOUKSOUS QUARTIER EL HANA
20200 CASABLANCA, MA**

72 Inventor/es:
REMMAL, ADNANE

74 Agente/Representante:
DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

ES 2 390 472 T3

DESCRIPCIÓN

Combinación farmacéutica que comprende un agente antifúngico y un principio activo que es especialmente eugenol o carvacrol

5 La invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende dos sustancias terapéuticamente activas una de las cuales ejerce una acción de potenciación sobre la otra, así como a la utilización de esta composición.

Se sabe que la eficacia de los agentes terapéuticos depende de las dosis utilizadas, lo que obliga, en el caso de resistencias parciales a aumentar las dosis de los agentes terapéuticos para conseguir la eficacia buscada. Este aumento de la dosis conduce a problemas de aparición d efectos secundarios indeseados y de toxicidad aguda o crónica, que pueden complicar considerablemente el estado de los pacientes tratados.

10 Esta resistencia parcial puede llegar a ser una resistencia total. En este caso, el aumento de las dosis no tiene ya ningún efecto terapéutico beneficioso, y solo se observan los efectos de toxicidad. El tratamiento consiste entonces en cambiar el agente terapéutico.

Esta cascada se puede repetir y conducir a la situación más grave: la resistencia total a múltiples agentes terapéuticos (resistencias a múltiples fármacos).

15 Así, en particular, los enfermos inmunodeprimidos, llegan a ser cada vez más difícil de tratar y, por tanto se reduce su esperanza de vida. Además, su confort de vida se ve mayormente afectado por la administración de altas dosis de agentes terapéuticos.

20 La invención tiene por objeto paliar estos problemas proponiendo asociar al menos dos sustancias terapéuticamente activas, una de las cuales potencia la actividad de la otra, lo que permite no solamente rebajar las dosis de cada sustancia terapéuticamente activa, sino igualmente tratar los pacientes afectados por infecciones por gérmenes resistentes.

Para este fin, la invención propone una composición farmacéutica activa caracterizada porque comprende:

- al menos una primera sustancia terapéuticamente activa elegida entre eugenol y carvacrol ,
- 25 - al menos una segunda sustancia terapéuticamente activa que es un antifúngico, y que se elige entre fluconazol, voriconazol, 5-fluorocitosina y caspofungina.

La primera sustancia terapéutica puede ser obtenida por síntesis química o a partir de una fuente vegetal.

Una composición antifúngica muy particularmente preferida es una composición en la cual la primera sustancia terapéuticamente activa es carvacrol o eugenol, y el antifúngico es fluconazol.

30 Otra composición antifúngica muy particularmente preferida es una composición en la cual la primera sustancia terapéuticamente activa es carvacrol o eugenol, y el antifúngico se elige entre voriconazol, caspofungina, 5-fluorocitosina y sus mezclas.

35 La invención propone igualmente un estuche (kit) caracterizado porque contiene al menos un primer recipiente que contiene una primera sustancia terapéuticamente activa elegida entre eugenol y carvacrol y al menos un segundo recipiente que contiene una segunda sustancia terapéuticamente activa que es un antifúngico como se ha definido anteriormente.

La invención propone finalmente un tratamiento de una infección debida a un hongo, caracterizado porque se administra a un paciente que padece una infección debida a un hongo, de manera simultánea o secuencial, al menos una primera sustancia terapéuticamente activa elegida entre eugenol y carvacrol y al menos una segunda sustancia terapéuticamente activa que es un antifúngico como se ha definido anteriormente.

40 De preferencia se administra de manera simultánea o secuencial a un paciente afectado por una infección debida a un hongo entre 10 y 200 mg/kg de peso del paciente/día de dicha primera sustancia terapéuticamente activa, y entre 2 y 100 mg/kg de peso del paciente/día de dicha segunda sustancia terapéuticamente activa.

Dicha primera sustancia terapéuticamente activa se elige entre carvacrol y eugenol y dicha segunda sustancia terapéuticamente activa se elige entre fluconazol, voriconazol, 5-fluorocitosina y caspofungina, y sus mezclas.

La invención será mejor comprendida y de la lectura de la descripción explicativa que sigue aparecerán más claramente otros objetos y ventajas con referencia a las figuras de los dibujos, en las cuales:

5 – la figura 1 muestra los resultados de ensayos cinéticos de la acción fungicida, sobre un cultivo de *C. albicans*, de fluconazol solo y carvacrol solo con relación a una composición farmacéutica según la invención que contiene fluconazol y carvacrol, y

– la figura 2 muestra los resultados de los ensayos *in vivo* sobre un modelo de candidiasis sistémica en ratones experimentalmente infectados y bien no tratados, bien tratados con fluconazol solo, bien tratados con carvacrol solo, o bien tratados con una composición farmacéutica según la invención que contiene fluconazol y carvacrol.

La composición farmacéutica de la invención comprende como primera sustancia terapéuticamente activa eugenol o carvacrol, así como sus eventuales mezclas.

Estos compuestos tienen propiedades antifúngicas bien conocidas por sí mismos y deben ser puros.

15 El eugenol y el carvacrol se encuentran en proporciones variadas en diferentes extractos de plantas aromáticas, es decir, que pueden ser purificados a partir de estas plantas. Sin embargo, se pueden obtener simplemente por síntesis química.

Ahora bien, los inventores han descubierto ahora que estos compuestos tienen un efecto de potenciación sobre numerosas sustancias terapéuticamente activas cuyos agentes antifúngicos son conocidos y ya utilizados como medicamentos específicos de esta especialidad.

20 La segunda sustancia terapéuticamente activa contenida en la composición farmacéutica de la invención es pues un antifúngico, que ya es conocido como tal y utilizado como medicamento específico de esta especialidad y cuya actividad es potenciada.

25 Los ejemplos de antifúngicos ya conocidos y utilizados como medicamentos específicos de esta especialidad, que pueden ser utilizados en la composición farmacéutica de la invención, y cuyo efecto será potenciado por la primera sustancia pura terapéuticamente activa, pertenecen a tres familias: la familia de las pirimidinas representadas por 5-fluorocitosina, la familia de los azoles representados por fluconazol y voriconazol, y la familia de las equinocandinas representadas por la caspofungina.

Estos compuestos pueden ser utilizados solos o en combinación uno con el otro.

30 La composición farmacéutica según la invención puede ser formulada en una forma adaptada para una administración simultánea o secuencial de dichas al menos primera y segunda sustancias terapéuticamente activas.

La forma galénica de la composición farmacéutica de la invención estará adaptada a su utilización. Por ejemplo, podrá ser utilizada en la forma de solución, de suspensión, de sello u otras. Las composiciones para administración parenteral son generalmente soluciones o suspensiones estériles farmacéuticamente aceptables que pueden ser preparadas eventualmente de modo extemporáneo en el momento de su empleo.

35 Para la preparación de soluciones o de suspensiones no acuosas, se pueden utilizar aceites vegetales naturales tales como aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de parafina o los ésteres orgánicos inyectables, tales como el oleato de etilo. Las soluciones estériles acuosas pueden estar constituidas por una solución de sustancias terapéuticamente activas en agua. Las soluciones acuosas convienen para la administración intravenosa en la medida en que el pH se ajusta convenientemente y donde la isotonicidad se consigue, por ejemplo por adición de una cantidad suficiente de cloruro de sodio o de glucosa.

40 En efecto, debido a la estructura química de los antifúngicos, y por otra parte, vista la estructura química del carvacrol y eugenol se piensa, aunque sin querer vincularse a ninguna teoría, que el carvacrol y el eugenol interactúan con los antifúngicos, para formar complejos que tienen una estructura que se difunde muy fácilmente en los líquidos fisiológicos del organismo y que se difunde más fácilmente en el citoplasma de las células infectadas dianas.

Sin embargo, se ha demostrado que cuando los diferentes elementos de la composición farmacéutica de la invención son mezclas en presencia de detergentes, tales como Tween o Triton o de disolventes tales como etanol y DMSO (dimetilsulfóxido), las moléculas activas de la primera y de la segunda sustancia terapéuticamente activa se asocian con las moléculas de los detergentes y de los disolventes y no forman complejo de potenciación.

- 5 Ahora bien, se ha descubierto que el complejo de potenciación se forma cuando se utiliza una suspensión acuosa de agar-agar, en calidad de medio de dispersión para viscosidad.

Así pues, la composición farmacéutica de la presente invención se preparará preferentemente sin detergente y sin disolvente. Por ejemplo, será puesta en suspensión acuosa hecha viscosa por agar-agar a una concentración no gelificante, por ejemplo de 1 a 5 gramos de agar-agar por litro de suspensión.

- 10 La composición farmacéutica de la invención permite tratar infecciones localizadas o sistémicas por gérmenes resistentes con dosis más pequeñas de cada una de dichas primera y segunda sustancias terapéuticamente activas que las dosis necesarias en el tratamiento de las mismas infecciones por gérmenes sensibles, por una u otra de estas mismas primera y segunda sustancias terapéuticamente activas solas. En efecto, la composición de la invención permite utilizar dosis de dicha primera sustancia terapéuticamente activa, cuando se usa en combinación
15 con dicha segunda sustancia terapéuticamente activa, de aproximadamente tres a diez veces inferiores a las necesarias, cuando dicha primera sustancia terapéuticamente activa se utiliza sola, y la dosis de dicha segunda sustancia terapéuticamente activa, cuando se usa en combinación con dicha primera sustancia terapéuticamente activa, de dos a diez veces inferiores a la necesarias cuando dicha segunda sustancia terapéuticamente activa se utiliza sola.

- 20 Esto tiene como consecuencia ofrecer un tratamiento que presenta las ventajas siguientes:

- Eficacia contra los gérmenes sensibles con dosis muy pequeñas.
- Eficacia contra los gérmenes resistentes a un agente terapéutico.
- Eficacia contra los gérmenes resistentes a varios agentes terapéuticos.
- Lucha contra los fenómenos de recidiva.

- 25 — Lucha contra los fenómenos de selección de gérmenes resistentes.

En todos estos casos, hay una notable disminución de los riesgos de toxicidad y/o de aparición de los efectos secundarios indeseables bien conocidos por el experto en la técnica, gracias a la potenciación que permite la administración de dosis muy pequeñas.

- 30 Además, de lo anterior resulta una disminución del coste de producción del tratamiento dada la pequeña cantidad de principios activos utilizados.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden presentar en forma de liposomas o en forma de asociación con soportes tales como ciclodextrinas o polietilenglicoles.

- 35 Las composiciones farmacéuticas de la invención representan un medio sencillo y eficaz para luchar contra los problemas vinculados a los agentes microbianos en general que son esencialmente la resistencia a los agentes terapéuticos y la toxicidad de estas generadas por utilización de dosis grandes.

En efecto, el eugenol y el carvacrol son moléculas sencillas de las que nunca se ha descrito que tengan alguna toxicidad y teniendo su adición un efecto potenciador sobre la segunda sustancia terapéuticamente activa permite utilizar dosis mucho más pequeñas de esta segunda sustancia terapéuticamente activa.

- 40 El procedimiento de tratamiento de los pacientes afectados por una infección fúngica consistirá pues, en una primera variante, en administrar a estos pacientes la dosis, determinada por el médico, de la composición farmacéutica de la invención que contiene las dosis apropiadas de dicha al menos una primera sustancia terapéuticamente activa, combinada con dosis apropiadas de dicha al menos una segunda sustancia terapéuticamente activa, es decir, el antifúngico apropiado.

En una segunda variante, el procedimiento de tratamiento de los pacientes afectados por una infección fúngica

consistirá en administrar a estos pacientes secuencialmente la dosis determinada por el médico de dicha al menos una primera sustancia terapéuticamente activa, y después la dosis apropiada de dicha al menos una segunda sustancia terapéuticamente activa, es decir el antifúngico apropiado o a la inversa.

5 A este efecto, la invención propone un estuche que contiene al menos un primer recipiente que contiene una de dichas primeras sustancias terapéuticamente activas, y al menos un segundo recipiente que contiene una de dichas segundas sustancias terapéuticamente activas.

10 Este estuche permitirá al personal encargado de preparar a petición bien sea una mezcla de dosis apropiadas, de la(s) primera(s) sustancia(s) terapéutica(s) deseada(s) y del (de los) antifúngico(s) deseado(s) para una administración simultánea o bien sea administrar secuencialmente y de forma separada la dosis apropiada de dicha al menos una primera sustancia terapéuticamente activa, y después la dosis apropiada de dicha al menos una segunda sustancia terapéuticamente activa, es decir el antifúngico apropiado o a la inversa. Sin embargo, se preferirá utilizar una mezcla para utilización simultánea para permitir formarse al complejo de potenciación y actuar inmediatamente después de la administración al paciente.

Para que se comprenda mejor la invención se van a describir ahora, como ejemplos, varios modos de realización.

15 **EJEMPLO 1: Tratamiento de diferentes cepas de *Candida albicans* por fluconazol potenciado por carvacrol (Fluc P)**

Ensayos *in vitro*: Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF) sobre diferentes cepas de *Candida albicans*.

20 El experimento se realizó con varias cepas de *Candida Albicans* de sensibilidades diferentes aisladas en medio hospitalario anivel bucal, vaginal y digestivo. El agente anti-fúngico es fluconazol que es de la familia de los derivados del azol y que forma parte de los agentes antifúngicos más eficaces y más utilizados en el mercado. Se fabricó una composición farmacéutica antifúngica mezclando fluconazol a diferentes concentraciones con carvacrol a una concentración infra- inhibidora de 0,3 gramos para 1 litro de solución o excipiente. Esta composición farmacéutica de la invención se denomina FLUC-P que alude a fluconazol potenciado. En cada caso, la actividad antifúngica se ensayó con fluconazol solo, o bien con carvacrol solo o bien con la composición según la invención.

25 Le Tabla 1 siguiente da los resultados de ensayos estáticos que miden la concentración mínima fungicida (CMF en µg/ml).

Tabla 1

<i>Candida albicans</i> en fase de crecimiento exponencial	Fluconazol solo, CMF (µg/ml)	Composición según la invención, CMF (µg/ml)	Carvacrol solo, CMF (µg/ml)
Cepa sensible	0,5	/	1000
Cepa medianamente resistente	150	10	1000
Cepa con fuerte resistencia	>300	10	1000

30 De la Tabla 1 se deduce que la composición según la invención tiene una notable acción fungicida sobre estas cepas de sensibilidades variables, en comparación con el fluconazol solo o con el carvacrol solo.

En efecto, de la lectura de la Tabla 1 se comprueba que la composición de la invención tiene una notable acción fungicida sobre estas cepas de sensibilidad variable, comparada con la del fluconazol solo o el carvacrol solo.

35 En efecto, se comprueba, que utilizando una concentración de 0,3 mg/ml de carvacrol, o sea una concentración aproximadamente 3 veces inferior a la CMF del carvacrol solo, la concentración de fluconazol que permite obtener una eficacia fungicida es de 15 a 30 veces inferior a la CMF del fluconazol solo.

Ensayos cinéticos

40 Se han realizado también ensayos cinéticos para comparar las acciones fungicidas sobre una cepa de *C. Albicans* con fuerte resistencia al fluconazol solo a una concentración de 300 µg/ml, carvacrol solo a una concentración de 300 µg/ml y la composición según la invención que contenía 150 µg/ml de fluconazol y 300 µg/ml de carvacrol. El número de unidades formadoras de colonias, abreviadamente UFC, se mide en función del tiempo.

Los resultados se muestran en la figura 1. Se deduce claramente de la figura 1 que solo la composición según la invención tiene una acción concluyente sobre esta cepa de fuerte resistencia.

Ensayos *in vivo*:

5 Lotes de 15 ratones fueron infectados experimentalmente por inyección intravenosa por 10.000.000 de células (Unidades formadoras de colonias) de *Candida Albicans* medianamente resistente al fluconazol.

El primer lote está constituido por ratones testigos infectados no tratados.

El segundo lote está constituido por ratones infectados y tratados por alimentación con sonda, 24 horas después de la infección, por fluconazol solo a razón de 4 mg/día por kg de peso de los animales.

10 El tercer lote está constituido, por ratones infectados y tratados por alimentación con sonda, 24 horas después de la infección, por carvacrol solo a razón de 30 mg/día por kg de peso de los animales.

El cuarto lote está constituido por ratones infectados y tratados, 24 h después de la infección, a razón de 2 mg de fluconazol/kg de peso y 30 mg de carvacrol/kg de peso de ratón.

El tratamiento es de 7 días para los animales que permanecen vivos. Se mide el porcentaje de ratones supervivientes en el curso del tiempo. Los resultados de estos ensayos se presentan en la figura 2.

15 La figura 2 muestra que solo los ratones tratados con la composición farmacéutica están todavía vivos diez días después de la infección. Todos los otros mueren entre el segundo y el séptimo día.

La búsqueda de *Candida albicans* en los órganos de los animales muertos durante el experimento (ratones no tratados y ratones tratados por fluconazol solo o carvacrol solo) muestra una fuerte carga de gérmenes al nivel los riñones, los pulmones y la médula ósea.

20 Por el contrario los animales tratados con la composición según la invención sacrificados entre 1 y 10 días después de la detención del tratamiento muestran una ausencia de gérmenes al nivel de los pulmones y de la médula ósea.

Al nivel de los riñones, solamente dos animales portaban todavía una baja carga de *Candida albicans* equivalente a 5 % de la carga obtenida en los animales del lote testigo. Los otros animales tratados con la composición según la invención no tenían ya carga fúngica al nivel de los riñones.

25 Es más, parece claramente que la potenciación del fluconazol por el carvacrol, permite obtener resultados sorprendentes en cuanto a la disminución de la concentración mínima fungicida y la velocidad de acción *in vitro*.

Esta potenciación se reencuentra *in vivo* en un modelo de infección sistémica.

30 Ahora bien, la infección sistémica representa una de las formas de infecciones más graves que más amenazan las vidas de los pacientes y que son más difíciles de tratar sobre todo en caso de recidiva con gérmenes cada vez más resistentes.

Otros resultados muestran que la composición según la invención que contiene fluconazol y carvacrol da efectos terapéuticos sorprendentes a dosis al menos dos veces más pequeñas que las dosis necesarias para tratar las infecciones experimentales localizadas (vaginal y bucal), en la rata y el ratón.

35 **EJEMPLO 2: Tratamiento de diferentes cepas de *Candida albicans* por voriconazol potenciado por carvacrol (VoricoP)**

40 El experimento se realizó con varias cepas de *Candida albicans* de sensibilidades diferentes aisladas en medio hospitalario. El agente antifúngico es voriconazol que es de la familia de los azoles y que forma parte de los agentes antifúngicos más recientemente comercializados. Se fabricó una composición farmacéutica antifúngica según la invención mezclando voriconazol a diferentes concentraciones con carvacrol a una concentración infra-inhibidora de 0,3 g por un litro e de solución o excipiente. Esta composición farmacéutica de la invención se denomina Vorico-P, aludiendo a voriconazol potenciado. En cada caso, la actividad antifúngica se analizó bien sea con voriconazol solo, bien sea con carvacrol solo o bien sea con la composición según la invención.

La Tabla 2 siguiente da los resultados de ensayos estáticos que miden la concentración mínima inhibidora (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) en µg/ml.

Tabla 2

<i>Candida albicans</i> en fase de crecimiento exponencial	Voriconazol solo, CMI (µg/ml)	Vorico-P, CMF (µg/ml)	Carvacrol solo, CMF (µg/ml)
Cepa sensible	< 0,05	/	1000
Cepa resistente	10	< 1	1000

- 5 De la Tabla 2 se deduce que la composición según la invención tiene una notable acción fungicida sobre la cepa resistente al voriconazol en comparación con el voriconazol solo o el carvacrol solo.

10 En efecto, por la lectura de la Tabla 2 se comprueba que utilizando carvacrol a 0,3 mg/ml bien sea a una concentración 3,3 veces más pequeña que la CMF del carvacrol solo, la concentración en voriconazol que permite obtener una eficacia fungicida sobre las cepas resistentes es al menos diez veces inferior a la concentración de voriconazol solo capaz de ejercer una acción fungistática.

Así pues, se comprueba que la potenciación del voriconazol por carvacrol permite no solamente reducir considerablemente la dosis de voriconazol, sino también transformar su acción fungistática en una acción fungicida.

EJEMPLO 3: Tratamiento de diferentes cepas de *Candida albicans* por caspofungina potenciada por carvacrol (Caspo-P)

- 15 El experimento se realizó con varias cepas de *Candida albicans* de diferente sensibilidad aisladas en medio hospitalario. El agente antifúngico es caspofungina que es de la familia de las equinocandinas y que forma parte de los agentes antifúngicos más recientemente comercializado. Se fabricó una composición farmacéutica antifúngica según la invención mezclando la caspofungina en diferentes concentraciones con el carvacrol a una concentración infra-inhibidora de 0,3 g por un litro de solución o excipiente. Esta composición farmacéutica de la invención se denomina Caspo-P, aludiendo a caspofungina potenciada. En cada caso, la actividad antifúngica fue ensayada o
- 20 bien con caspofungina sola, o bien con carvacrol solo, o bien con la composición según la invención.

Le tabla 3 anterior da los resultados de ensayo estático que miden la concentración mínima inhibidora (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) en µg/ml.

Tabla 3

<i>Candida albicans</i> en fase de crecimiento exponencial	Caspofungina sola, CMI (µg/ml)	Caspo-P CMF (µg/ml)	Carvacrol solo, CMF (µg/ml)
Cepa sensible	< 0,05	/	1000
Cepa resistente	3	< 0,5	1000

De la Tabla 3 se deduce que la composición según la invención tiene una notable acción fungicida sobre la cepa resistente en comparación con la caspofungina sola o el carvacrol solo.

- 30 En efecto, por la lectura de la Tabla 3 se comprueba que utilizando carvacrol a 0,3 mg/ml bien sea a una concentración 3,3 veces más pequeña que la CMF del carvacrol solo, la concentración de caspofungina que permite obtener una eficacia fungicida es al menos seis veces inferior a la concentración de caspofungina sola capaz de ejercer una acción fungistática.

Así, se comprueba que la potenciación de caspofungina por carvacrol permite no solamente reducir considerablemente la dosis de caspofungina, sino también transformar su acción fungistática en una acción fungicida.

EJEMPLO 4: Tratamiento de diferentes cepas de *Candida albicans* por 5-fluorocitosina potenciada por eugenol, denominado Fluoro-P

El experimento se realizó con varias cepas de *Candida albicans* de diferentes sensibilidades aisladas en medio hospitalario. El agente antifúngico es 5-fluorocitosina que es de la familia de las pirimidinas y forma parte de los agentes antifúngicos más antiguos. Se fabricó una composición farmacéutica antifúngica según la invención mezclando 5-fluorocitosina en diferentes concentraciones con eugenol a una concentración infra-inhibidora de 0,5 g por litro de solución o excipiente. Esta composición farmacéutica de la invención se denomina Fluoro-P, aludiendo a 5-fluorocitosina potenciada. En cada caso, la actividad antifúngica se ensayó bien sea con 5-fluorocitosina sola o bien con eugenol solo, o bien con la composición según la invención.

La Tabla 4 siguiente da los resultados de ensayos estáticos que miden la concentración mínima inhibidora (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) en µg/ml.

10 Tabla 4

<i>Candida albicans</i> en fase de crecimiento exponencial	5-fluorocitosina sola, CMI (µg/ml)	Fluoro-P, CMF (µg/ml)	Eugenol solo, CMF (µg/ml)
Cepa sensible	2,5	/	2000
Cepa resistente	25	5	2000

De la Tabla 4 se deduce que la composición según la invención tiene una notable acción fungicida sobre la cepa resistente en comparación con 5-fluorocitosina sola o eugenol solo.

15 En efecto, por la lectura de la Tabla 4 se deduce que utilizando eugenol a 0,5 mg/ml bien sea en una concentración cuatro veces más pequeña que la CMF del eugenol solo, la concentración en 5-fluorocitosina que permite obtener una eficacia fungicida es cinco veces inferior a la concentración de 5-fluorocitosina sola capaz de ejercer una acción fungistática.

20 Por tanto se comprueba que la potenciación de la 5-fluorocitosina por eugenol permite no solamente reducir considerablemente la dosis de 5-fluorocitosina, sino también transformar su acción fungistática en una acción fungicida.

EJEMPLO 5: Ampliación del espectro de acción del fluconazol potenciado por carvacrol para actuar sobre diferentes cepas de *Aspergillus niger*

25 El experimento se realizó con varias cepas de *Aspergillus niger* insensibles al fluconazol. El agente antifúngico es fluconazol que es de la familia de los azoles y que forma parte de los agentes antifúngicos más utilizados. El inconveniente más grande del fluconazol es que no actúa sobre las infecciones debidas hongos filamentosos. Las infecciones más corrientes y más difíciles de tratar son las aspergilosis debidas a gérmenes de la familia *Aspergillus* sp. Se fabricó una composición farmacéutica antifúngica según la invención mezclando fluconazol en diferentes concentraciones con carvacrol a una concentración infra-inhibidora de 0,25 g por un litro de solución o de excipiente. Esta composición farmacéutica de la invención se denomina Fluc-P, aludiendo a fluconazol potenciado. En cada caso, la actividad antifúngica se ensayó bien sea con fluconazol solo, o bien sea con carvacrol solo, o bien sea con la composición según la invención.

La Tabla 5 siguiente da los resultados de ensayos estáticos que miden la concentración mínima inhibidora (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) en µg/ml.

Tabla 5

<i>Candida albicans</i> en fase de crecimiento exponencial	Fluconazol solo, CMI (µg/ml)	Fluc-P, CMF (µg/ml)	Carvacrol solo, CMF (µg/ml)
12 diferentes cepas de	> 1000	150	500

De la Tabla 5 se deduce que la composición según la invención tiene una notable acción fungicida sobre las cepas de *Aspergillus niger* en comparación con el fluconazol solo o el carvacrol solo.

En efecto, de la lectura de la Tabla 5 se comprueba que utilizando carvacrol a 0,25 mg/ml bien sea a una concentración dos veces más pequeña que la CMF del carvacrol solo mezclado con fluconazol a 150 µg/ml, se llega a obtener una notable eficacia fungicida que el fluconazol solo es incapaz de ejercer incluso a la concentración de 1000 µg/ml.

- 5 Así pues, se comprueba que la potenciación del fluconazol por el carvacrol permite no solamente reducir considerablemente la dosis de fluconazol con las especies habitualmente tratadas por fluconazol, sino también ampliar su espectro de acción a los hongos filamentosos del género *Aspergillus* normalmente insensibles al fluconazol.

- 10 El tratamiento de una infección fúngica consistirá en administrar, a un paciente afectado por una infección fúngica, de manera simultánea o secuencial, la dosis determinada por el médico de al menos una primera sustancia terapéuticamente activa elegida entre eugenol y carvacrol y la dosis determinada de al menos una segunda sustancia terapéuticamente activa que es un agente antifúngico como se ha definido antes.

- 15 Generalmente, se administrará al paciente afectado por una infección debida a hongos, de manera simultánea o secuencial entre 1 y 3.000 mg/kg de peso del paciente/día de al menos una primera sustancia terapéuticamente activa elegida entre eugenol y carvacrol y entre 1 y 20 mg/kg de peso de paciente/día de al menos una segunda sustancia terapéuticamente activa que es un agente antifúngico como se ha definido antes.

En efecto, la utilización de una cantidad inferior a 1 mg/kg de peso del paciente/día de dicha primera sustancia terapéuticamente activa, en particular carvacrol, no permite obtener el efecto de potenciación deseado.

- 20 Por el contrario, la utilización de una cantidad superior a 3.000 mg/kg de peso del paciente/día de dicha primera sustancia terapéuticamente activa, en particular carvacrol, no permite aumentar el efecto de potenciación y se acerca a los riesgos de de toxicidad.

- 25 Del mismo modo, la utilización de una cantidad inferior a 1 mg/kg de peso del paciente/día de dicha segunda sustancia terapéuticamente activa que es un agente antifúngico, en particular fluconazol, no permite obtener el efecto terapéutico deseado y la utilización de una cantidad superior a 20 mg/kg de peso del paciente/día, en particular fluconazol, no permite mejorar el efecto terapéutico y aumenta el riesgo de toxicidad.

Así pues, de preferencia se administra a un paciente afectado por una infección debida a hongos, de manera simultánea o secuencial, 30 mg/kg de peso del paciente/día de al menos una primera sustancia terapéuticamente activa elegida entre eugenol y carvacrol y 2 mg/kg de peso del paciente/día de al menos una segunda sustancia terapéuticamente activa que es un agente antifúngico como se ha definido antes.

- 30 Más particularmente, en el caso de una infección debida a *Candida Albicans*, se administra al paciente, de modo simultáneo o secuencial:

- 30 mg/kg del peso del paciente/día de carvacrol, y

- 2 mg/kg de peso del paciente/día de fluconazol.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica caracterizada porque comprende:
 - al menos una primera sustancia terapéuticamente activa elegida entre eugenol y carvacrol, y
 - al menos una segunda sustancia terapéuticamente activa que es un antifúngico elegido entre 5- fluorocitosina, fluconazol, voriconazol y caspofungina.
2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque el antifúngico es fluconazol.
3. Composición según la reivindicación 1 o 2, caracterizada porque la primera sustancia terapéuticamente activa es carvacrol.
4. Composición según la reivindicación 1 o 2, caracterizada porque la primera sustancia terapéuticamente activa es eugenol,
5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque dichas primera y segunda sustancias terapéuticamente activas se ponen en suspensión en una solución acuosa de agar-agar.
6. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada porque no contiene detergente ni disolvente.
7. Estuche caracterizado porque contiene:
 - al menos un primer recipiente que contiene una primera sustancia terapéuticamente activa elegida entre eugenol y carvacrol,
 - al menos un segundo recipiente que contiene una segunda sustancia terapéuticamente activa que es un antifúngico elegido entre 5-fluorocitosina, fluconazol, voriconazol y caspofungina.
8. Estuche según la reivindicación 7, caracterizado porque el antifúngico es fluconazol.
9. Estuche según la reivindicación 7 u 8, caracterizado porque la primera sustancia terapéuticamente activa es carvacrol.
10. Estuche según la reivindicación 7 u 8, caracterizado porque la primera sustancia terapéuticamente activa es eugenol.
11. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o el estuche según un cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, para una utilización en el tratamiento de una infección debida a un hongo en un paciente.
12. Composición o estuche según la reivindicación 11, caracterizado porque las dosis a administrar son:
 - entre 10 y 200 mg/kg del peso del paciente /día para la primera sustancia terapéuticamente activa y
 - entre 2 y 100 mg/kg del peso del paciente/día para la segunda sustancia terapéuticamente activa de dicha composición.

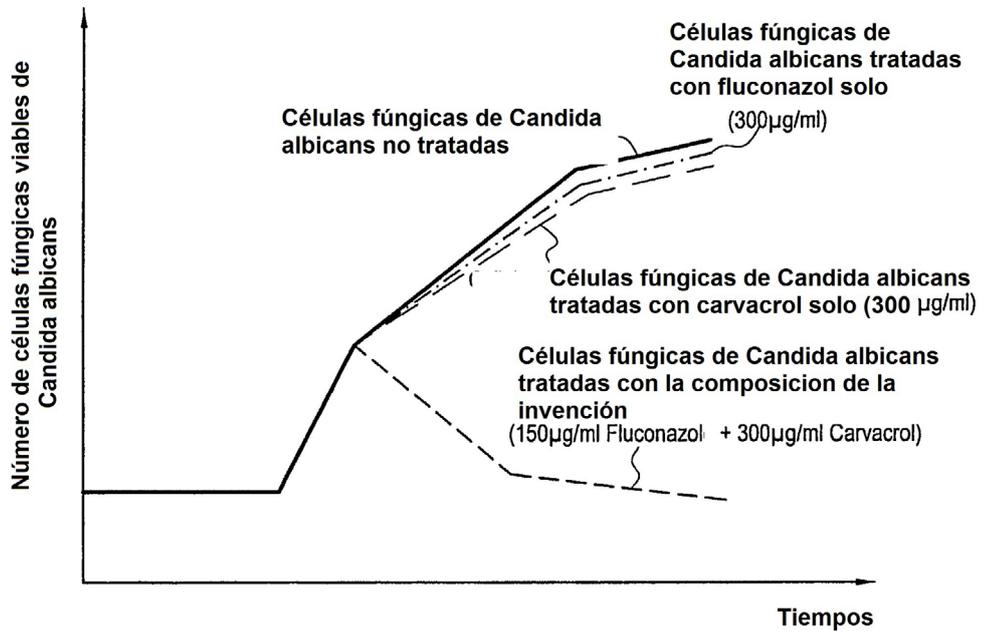


FIG. 1

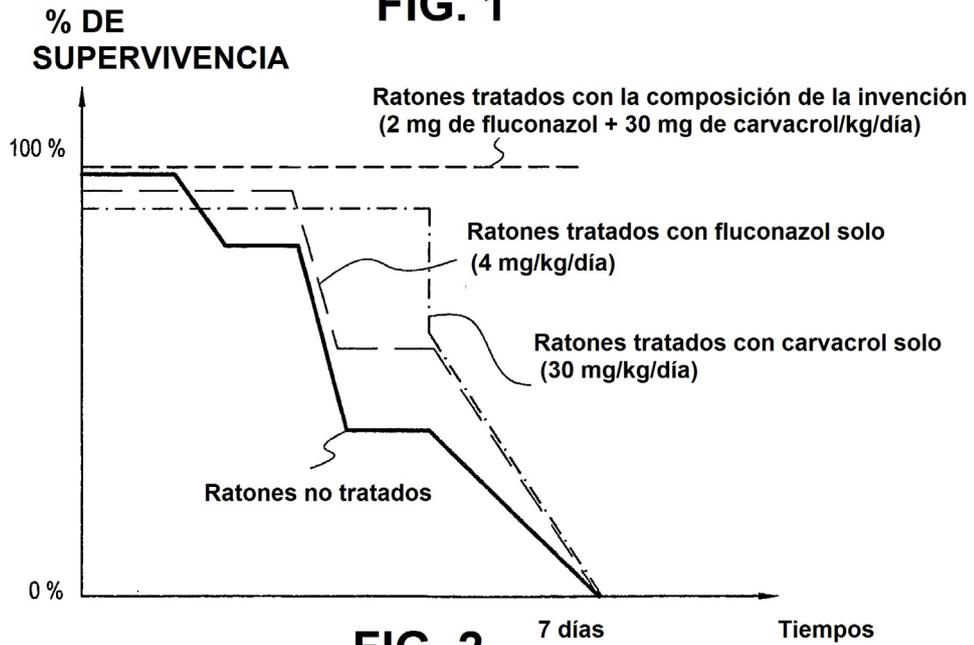


FIG. 2