

PROTOCOLO DE ENSAYO CLÍNICO TRECOV
(Tratamiento de la Enfermedad COVID-19)

**ESTUDIO MULTICÉNTRICO, ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO CON
PLACEBO PARA COMPROBAR LA EFICACIA, SEGURIDAD Y
TOLERABILIDAD DEL COMPUESTO ISOTIMOL MODIFICADO
CONTRA EL AGENTE SARS-CoV-2 EN PACIENTES COVID-19**

Código del ensayo: LAB-2020-01

**Patrocinante: Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas
(IVIC)**

Investigador principal	Raúl Antonio Ojeda Rondón
Tipo de documento	Ensayo clínico
Fase del ensayo	II/III
Fecha del protocolo final	01 de junio de 2020
País	República Bolivariana de Venezuela

CONFIDENCIAL

NÚMEROS DE URGENCIA

En caso de urgencia, contacte rápidamente por teléfono con el investigador responsable y/o con el responsable de la monitorización del ensayo.

Investigador principal responsable del ensayo:

Raúl Antonio Ojeda Rondón Ingeniero Químico (MSc)
Correo: Ojeda.raul.antonio@gmail.com

Investigadora principal responsable del ensayo:

Mildred Milagros Martínez López
Médico Internista e Infectólogo

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: Acontecimiento Adverso
AAG: Acontecimiento Adverso Grave
ACV: Accidente Cerebro Vascular
AP: Angioplastia Primaria
BCRIHH: Bloqueo Completo de Rama Izquierda del Haz de His
BPC: Normas de Buena Práctica Clínica
CE: Coordinador del estudio en el centro
CEIC: Comité Ético de Investigación Clínica
CEI: Comité Ético Independiente
CIMD: comité independiente de monitorización de datos
CRD: Cuaderno de Recogida de Datos
CRO: Contract Research Organization
EC: Ensayo Clínico
ECA II: Enzima Convertidora de Angiotensina II
ECG: Electrocardiograma
ESIC: Empresa Soporte a la Investigación Clínica
FA: Farmacéutico del estudio
IAM: Infarto Agudo de Miocardio
IC: Intervalo de confianza
ICMJE: International Committee of Medical Journal Editors
ICTRP: International Clinical Trials Registry Platform
ISRCTN: International Standard Randomised Controlled Trial Number
IP: Investigador principal
OMS: Organización Mundial de la Salud
PDR: Prueba de diagnóstico rápida
RT-PCR: Reacción en cadena de la Polimerasa con transcriptasa inversa
p.o. per os: Por vía oral
IL-6: Interleuquina 6
i.v: Por vía intravenosa
PNTs: Procedimientos Normalizados de Trabajo
RA: Reacciones adversas
RAG: Reacción adversa grave
RAGI: Reacción adversa grave e inesperada
RR: Riesgo Relativo
TAC: Tomografía computarizada

1.0. RESUMEN

1.1. Tipo de solicitud

Ensayo clínico con un principio activo nuevo para solicitud de aprobación para una especialidad farmacéutica clase "A".

1.2. Identificación del promotor

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).
Carretera Panamericana, Km 11, Altos de Pipe, San Antonio de los Altos, Miranda, Venezuela.
Teléfono: 0212-5041100.

1.3. Título del ensayo clínico

Español: "Estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego con placebo para comprobar la eficacia, seguridad y tolerabilidad del compuesto Isotimol modificado contra el agente SARS-CoV-2 en pacientes COVID-19".

Inglés: "Multicenter, randomized, double-blind placebo study to verify the efficacy, safety, and tolerability of the modified Isothymol compound against the SARS-CoV-2 agent in COVID-19 patients"

1.4. Código del protocolo

Código del promotor: LAB-2020-001.

1.5. Centros en los que se prevé realizar el ensayo

Se invitará a participar a los centros médicos de la capital de Venezuela que posean una sala para tratamiento de pacientes COVID-19 y un Comité de Bioética activo para investigaciones clínicas.

1.6. Comité Terapéutico COVID-19 adscrito al Ministerio del Poder Popular para la Salud que ha revisado el ensayo

Este ensayo ha sido presentado ante el comité terapéutico para su revisión y validación.

1.7. Comité Ético de Investigación Clínica que ha aprobado el ensayo

Este ensayo ha sido aprobado, siendo el comité rector el Hospital Dr. Leopoldo Manrique Terrero - Periférico de Coche, ubicado en la ciudad de Caracas en la República Bolivariana de Venezuela.

1.8. Fármaco experimental y control: dosis, forma farmacéutica, vía de administración, grupo terapéutico

Nombre del fármaco experimental

Carvativir® 6 mg/ml diluido para solución oral.

Composición cualitativa y cuantitativa

Cada ml contiene 6mg de Carvativir® (2-Metil-5-(1-metiletil)-fenol modificado) al 1% v/v. (Isothymol modified lipofilic GRAS).

Forma farmacéutica

- Solución oral (dispersión L/L). Solución acuosa lipofílica diluida de amarilla clara o media.
- Excipientes c.s: Ácido cis-9-octadecenoico con Escualeno (99% v/v).

Presentación

Carvativir® (Isotimol modificado) viene en una presentación de 15 cc en un envase plástico, con etiqueta y sellado.

Posología y forma de administración

Posología

La dosis recomendada de Carvativir® en pacientes mayores de 18 años de edad y que pesen al menos 45 kg es:

- Cinco a quince gotas de carga de Carvativir® de 6mg/ml administrada mediante vía oral sublingual cada 4 horas según criterios de la tabla 4. La duración total del tratamiento debe ser de al menos 15 días.

En caso de embarazo, lactancia y pacientes <18 años, no aplica en los criterios de inclusión.

Conservación

- Carvativir® es de color entre amarillo claro y medio. El color no afecta a la estabilidad del producto.
- El medicamento debe permanecer en un lugar fresco y alejado de la exposición directa de la luz solar a una temperatura ambiente de 30°C.

1.9. Fase del ensayo clínico

Estudio clínico en fase II/III.

1.10. Objetivos Objetivo principal:

- Comprobar la eficacia, seguridad y tolerabilidad del compuesto Isotimol modificado contra el agente SARS-CoV-2 en pacientes COVID-19.

Objetivos secundarios

- Evaluar la inhibición de la glucosilación terminal de la Enzima Convertidora de Angiotensina II (ECE2).
- Comprobar la inhibición de la función de la proteasa principal (M^{pro}) del agente SARS-CoV-2 mediante la unión estable del fármaco/proteína para controlar la replicación viral.
- Comprobar la reacción de oxidación de la amina $R-CH_2-NH_2$ implicada en la hiperactivación de los macrófagos (sistema inmune innato), por interferencia del Isotimol modificado.
- Evaluar el aumento de la tolerancia a la hipersensibilidad de las inmunoglobulinas G (IgG) e inmunoglobulinas M (IgM) en pacientes COVID-19.
- Comprobar la supresión de la producción y la adhesión de superóxidos en neutrófilos (efecto Inmunoestimulador) a través de la regulación de citocinas e IL-6 (interleuquinas) para la inhibición de la tormenta de citoquinas (Etapa 2 y 3, paciente infectado).

1.11. Diseño

Se propone un estudio clínico multicéntrico, doble ciego, aleatorizado con grupo de control con placebo en el Hospital Dr. Leopoldo Manrique Terrero - Periférico de Coche, Hospital Militar Dr. Vicente Salias Sanoja y Hospital Intermedio de Campaña “El Poliedro”, todos ubicados en la ciudad de Caracas en la República Bolivariana de Venezuela, para una población de 600 pacientes que presenten la enfermedad COVID- 19 causada por el agente SARS-CoV-2. Se requiere que todos los adultos propicien un consentimiento informado y firmado para poder ser incluidos en la base de datos del estudio clínico. Los voluntarios deberán ser evaluados por los médicos especialistas, y se deberá plasmar el examen físico y funciones vitales en la historia médica.

- **Esquema de administración del fármaco:** Randomizado y paralelo (Isotimol modificado y placebo).

- **Diseño estadístico:** Superioridad. Permitirá detectar una diferencia entre el fármaco y placebo después de la administración paralela.

1.12. Enfermedad o trastorno en estudio

Pacientes que presenten la enfermedad COVID-19 causada por el agente SARS-CoV-2, en todas las etapas clínicas: sintomáticos I (leve), II (moderado) y III (grave).

1.13. Variable principal de valoración (end-point)

RT-PCR negativa en pacientes COVID-19 confirmados luego del esquema del tratamiento planteado.

1.14. Población en estudio y número total de pacientes

La población en estudio serán pacientes de 18 años o más de edad con RT-PCR positiva (detección de material genético del SARS-CoV-2 en la muestra analizada), elegibles para COVID-19, que acuden a un centro médico con un programa activo de atención primaria, en las primeras horas desde el inicio de los síntomas. En el caso de los asintomáticos se verificará en el triaje el análisis del hisopado nasofaríngeo, y en función del resultado se incluirán o no en el protocolo clínico.

Se prevé un tamaño muestral de 600 pacientes, que se deberán aleatorizar para la administración paralela del fármaco experimental (300 pacientes) y el placebo (300 pacientes).

Se deberá evaluar previo al inicio del ensayo clínico: Pruebas de diagnóstico rápida (PDR), Reacción en cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa (prueba RT-PCR), presión arterial, pulso, temperatura, peso corporal, análisis de sangre, detección de enfermedades autoinmunes e infecciosas (VIH, hepatitis, sífilis), detección de anticuerpos (inmunoglobulinas G y M), pruebas de orina para detectar drogas y embarazo (en caso de mujeres) y demás condiciones comórbidas caracterizadas en la tabla 6. Además, se deberá realizar radiografía de tórax a cada paciente incluido en el ensayo, y de ser posible realizar una tomografía computarizada (antes y después del tratamiento con Carvativir®).

Se contará con un sistema electrónico para cargar todas las variables científicas y clínicas del protocolo establecido en la toma de datos, y también permitirá procesar las variables de salida expeditas, el cual podrá ser auditado en tiempo real.

1.15. Duración del tratamiento

9

15 días continuos.

1.16. Calendario y fecha prevista de finalización (actualizado 06 de noviembre de 2020)

Duración periodo de inclusión: Agosto 2020 – Septiembre 2020. Fecha prevista final del estudio: Noviembre 2020.

1.17. Marco legal y normativo

- Constitución de la República Bolivariana de Venezuela - Artículo 83.
- Ley del Medicamentos - Artículos 70 al 73.
- Ley del Ejercicio de la Medicina - Artículos 103 al 112.
- Código de Deontología Médica - Artículos 191 al 206.
- Reglamento de Investigación en Farmacología Clínica - Junta Revisora de Productos Farmacéuticos (1998).
- Declaración de Helsinki - última actualización (2008).
- Buenas Prácticas Clínicas - Documento de las Américas - Organización Panamericana de la Salud (2005).
- Lineamientos para la Buena Práctica Clínica - Conferencia Internacional de Armonización (1998).

1. INDICE

NÚMEROS DE URGENCIA	2
LISTA DE ABREVIATURAS	3
1. RESUMEN	4
1.0. Tipo de solicitud	4
1.1. Identificación del promotor	4
1.2. Título del ensayo clínico	4
1.3. Código del protocolo	4
1.4. Coordinadores Nacionales	4
1.5. Centros en los que se prevé realizar el ensayo	5
1.6. Comité Terapéutico COVID-19 adscrito al Ministerio del Poder Popular para la Salud que ha revisado el ensayo	5
1.7. Comités Éticos de Investigación Clínica que han aprobado el ensayo	5
1.8. Nombre y calificación de la persona responsable de la monitorización	5
1.9. Fármaco experimental y control: dosis, forma farmacéutica, vía de administración, grupo terapéutico	5
1.10. Fase del ensayo clínico	6
1.11. Objetivo principal	7
1.12. Diseño	7
1.13. Enfermedad o trastorno en estudio	8
1.14. Variable principal de valoración (<i>end-point</i>)	8
1.15. Población en estudio y número total de pacientes	8
1.16. Duración del tratamiento	9
1.17. Calendario y fecha prevista de finalización	9
1.18. Marco legal y normativo	9
2. INDICE	10
3. INFORMACION GENERAL	12
3.a. Identificación del ensayo	12
3.b. Tipo de ensayo clínico	12
3.c. Descripción de los productos en estudio	12
3.d. Datos relativos al promotor	31
3.e. Director técnico responsable de la elaboración / control de las muestras	31
3.f. Identificación del responsable de la monitorización	31

3.g. Datos de los investigadores del ensayo	31
3.h. Centros en que se realizará el ensayo	32
3.i. Centros en que se realizará los análisis de muestras biológicas y serológicas	32
4. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	33
5. TIPO DE ENSAYO CLÍNICO Y DISEÑO DEL MISMO	37
6. SELECCIÓN DE LOS SUJETOS	39
7. DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO	48
8. DESARROLLO DEL ENSAYO Y EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA	50
9. ACONTECIMIENTOS ADVERSOS	53
10. ASPECTOS ÉTICOS	59
11. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS	66
12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	69
13. DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS	73
14. BIBLIOGRAFÍA	74
15. ANEXOS	84

3.0 INFORMACIÓN GENERAL

3.a. Identificación del ensayo TRECOV (LAB-2020-001)
TRatamiento de la Eⁿfermedad COVID-19.

3.b. Tipo de ensayo clínico

Ensayo para una especialidad farmacéutica tipo “A”, en las condiciones de uso especificadas para su autorización sanitaria.

3.c. Descripción de los productos en estudio

1) Denominación

2-Metil-5-(1-metiletil)-fenol modificado (Isotimol modificado).

2) Composición cuantitativa y cualitativa

- Cada ml contiene 6mg de Carvativir® (2-Metil-5-(1-metiletil)-fenol modificado) al 1% v/v. (*Isotymol modified lipofilic GRAS*).
- Solución oral (dispersión L/L). Solución acuosa lipofílica diluida de amarilla clara o media.
- Excipientes c.s: Ácido cis-9-octadecenoico con Escualeno (99%).

3) Seguridad del medicamento en estudio

La invención incluye la determinación de las variaciones organolépticas y fisicoquímicas del compuesto Isotimol metil éter (C₁₁H₁₇O₂) derivado del isotimol y las propiedades terapéuticas que se evaluaron en ensayos preclínicos y clínicos, que se presentan a continuación:

- **DETERMINACIÓN DE VARIACIONES ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICOQUÍMICAS DEL COMPUESTO ISOTIMOL METIL ÉTER ($C_{11}H_{17}O_2$)**

Se realizó un estudio organoléptico y fisicoquímico a corto plazo (20 días) a diferentes temperaturas (15°C, 30°C, 50°C, 60°C y 70°C), para poder determinar si la estabilidad acelerada era un método confiable para predecir el tiempo de vida útil del Isotimol metil éter con un excipiente ácido al 99%. Para lo cual se utilizaron un total de 100 muestras, llegando a la conclusión de que las características analizadas se encuentran entre los rangos establecidos al comparar los resultados de las muestras sometidas a corto plazo con las reportadas en la teoría.

Los procedimientos para determinar la composición química del Isotimol metil éter a una concentración de 6 mg/ml a 15 mg/ml, se realizaron bajo la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM).

Se necesitaron 50µl de Isotimol metil éter para el análisis cromatográfico y se aforó a 400 µl con diclorometano (DCM). La mezcla se realizó en un matraz aforado de 1,4ml y después se transfirió a un vial para cromatografía de gases de 2,5ml. Este análisis se llevó a cabo en un Cromatógrafo de gases AgilentTechnologies 7890A, acoplado a un espectrómetro de masas AgilentTechnologies 5975C equipado con un puerto de inyección Split/splitless (relación 1:50), un inyector automático Agilent 7863 y un sistema de datos HP ChemStation.

Para la separación de las mezclas se utilizó una columna capilar DB- 5MS (adquirido y certificado en J&W Scientific, Folsom, EE.UU.) con fase estacionaria de 5%fenil-polimetilsiloxano (60 m x 0,25 mm, D.I. x 0,25 µm, df). La temperatura del horno se programó desde 45°C (5 min) hasta 150°C (2 min) a 4°C/min, luego se incrementó hasta 250°C (5 min) a 5°C/min, finalmente, la temperatura aumentó a 10°C/min, hasta alcanzar 275°C (15 minutos). Las temperaturas de la cámara de ionización y de la línea de transferencia fueron de 230 y 285°C, respectivamente. El gas de arrastre empleado fue helio (99.997%).

Los espectros de masas y corriente iónicas reconstruidas se obtuvieron por medio de barrido automático de frecuencia (full scan), a 4,75 scan s-1, en el rango de masas m/z 30-450.

Para el análisis por la columna polar se empleó un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 6890 Network GC System, acoplado a un detector selectivo de masas Agilent Technologies 5975, equipado con un puerto de inyección split/splitless (250°C, split 1:14) y un sistema de datos HP ChemStation D.02.00.275.

El proceso de separación se llevó a cabo en una columna capilar DB-WAX (adquirido y certificado en J&W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) con fase estacionaria entre cruzada e inmovilizada de polietilenglicol (60 m x 0,25 mm, D.I. x 0,25 µm, df). La temperatura del horno se programó desde 45°C (10 min) hasta 220°C (30 min) a 3°C/min. Las temperaturas de la cámara de ionización y de la línea de transferencia fueron de 230 y 250°C, respectivamente. La identificación de los compuestos se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención y de los patrones de fragmentación representados en los espectros de masas experimentales con los encontrados en las bases de datos o literatura (Data base \NIST08.L, Database\W8.I).

Para la investigación se utilizó un patrón de Ácido cis-9-octadecenoico (99%), con una acidez libre de 0,159% y un nivel de peróxidos de 9,2 miliequivalentes/kg, envasados en botellas de vidrio ámbar. El compuesto activo (Isotimol metil éter) fue suministrado por el solicitante con un porcentaje de acidez de 1,157 y una concentración entre 6mg/ml a 15mg/ml, envasado en frascos de vidrio oscuros (color ámbar) / frascos de plástico color blanco y en temperatura ambiente (30°C) hasta su aplicación.

Tabla 1. Variación de las características organolépticas y fisicoquímicas del Isotimol metil éter a corto plazo para una temperatura de 30°C.

Temperatura (30°C)	Iniciales 0 días	5 días	10 días	15 días	20 días
Concentración (mg/ml)	6,02	6,02	6,02	6,02	6,02
Apariencia	Líquido fluido y claro	Líquido fluido y claro	Líquido fluido y claro	Líquido fluido y claro	Líquido fluido y claro
Color	Amarillo medio	Amarillo medio	Amarillo medio	Amarillo medio	Amarillo medio
Sabor	Especie	Especie	Especie	Especie	Especie
Peso molecular (g/mol)	181,25	181,25	181,25	181,25	181,25
Densidad (g/ml)	0,974	0,974	0,974	0,974	0,974
Viscosidad (cP)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Índice de refracción	1,522	1,522	1,522	1,522	1,522
Solubilidad	No soluble en agua	No soluble en agua	No soluble en agua	No soluble en agua	No soluble en agua

- **Actividad antiviral del compuesto Isotimol metil éter ($C_{11}H_{17}O_2$) contra virus humanos y animales *in vitro***

Se investigó la actividad antiviral del **Isotimol metil éter ($C_{11}H_{17}O_2$)**, contra diferentes virus humanos y animales (*in Vitro*). La prueba MTT (bromuro de 3–4,5-dimethythiazol-2yl) -2,5-diphenyl tetrazolium) se realizó para determinar el índice de selectividad (SI) del **Isotimol metil éter ($C_{11}H_{17}O_2$)**, que fue igual a 333,1, 470,4, 200,8, 298,7, y 274,2 para el virus del herpes simple tipo 1 resistente al aciclovir (ACVR-HHV-1), el HHV-1 sensible al aciclovir, el virus sincitial respiratorio humano (HRSV), el virus del herpes bovino tipo 2 (BoHV-2) y el virus de la diarrea viral bovina (BVDV), respectivamente. El rotavirus humano (RV) y BoHV-1 y 5 también fueron inhibidos por el **Isotimol metil éter ($C_{11}H_{17}O_2$)**. **Isotimol metil éter**

(**C₁₁H₁₇O₂**) exhibió una alta actividad antiviral contra todos los virus con un SI (índice de selectividad) promedio de 334.

El Isotimol metil éter (**C₁₁H₁₇O₂**), un derivado oxigenado del isotimol (**C₁₀H₁₄O**), fue efectivo contra los virus de ARN y ADN. Esta doble eficacia tiene ventajas sobre los medicamentos antivirales comunes, que generalmente actúan solo sobre los virus de ARN o ADN o incluso pueden ser específicos de un solo virus o grupo de virus. Para identificar otros antivirales versátiles, se analizaron varios productos vegetales contra grupos de virus de ARN y ADN con resultados variables. Se observó una actividad antiviral *in vitro* significativa contra todos los virus de ARN para los extractos derivados de las raíces de *Eleutherococcus senticosus*.

Se demostró, que el Isotimol metil éter puede inhibir los virus en diferentes etapas de infección y replicación del virus, ya que el Isotimol metil éter pudo inhibir los virus antes pero también después de la inoculación del virus. Como las estrategias de replicación de ARN y ADN requieren diferentes pasos y la acción de diversas clases de enzimas y otros factores reguladores, podría sugerir que la principal forma de acción de los componentes no es la replicación del genoma sino otro paso de replicación del virus común a todos virus.

Es importante enfatizar la actividad antiviral del isotimol metil éter contra el HHV-1 sensible y el HHV-1 resistente al aciclovir. Dado que cualquier compuesto que muestre un SI=4 se consideró un posible candidato antiviral para los virus del herpes, el Isotimol metil éter cumple los requisitos tanto para HHV-1 sensible como resistente al aciclovir. Además, BoHV-2, otro virus del herpes clasificado en el género *Simplexvirus*, también fue inhibido efectivamente por el Isotimol metil éter. Se observó en diferentes puntos de tiempo de replicación viral, tanto el Isotimol metil éter fue más efectivos contra ACVR-HHV-1 que el HHV-1 sensible al aciclovir. El aciclovir es un análogo de nucleósido que actúa sobre la replicación del genoma viral que funciona como un terminador de la cadena de ADN que evita el alargamiento del ADN viral. Las mutaciones en el gen de la timidina quinasa del HHV-1 lo hacen resistente al aciclovir.

El valor de SI demostrado para el Isotimol metil éter contra HRSV también es digno de mención, aunque hay descripciones bibliográficas de valores muy altos de SI para un compuesto aislado de *L deflexicalyx* (SI=5880) y también para un componente de *Agastache rugosa* (SI=898,2). Una vacuna segura contra el virus aún no está disponible comercialmente, por lo que un antiviral que sea activo contra HRSV sin toxicidad puede ser una buena alternativa. La ribavirina ya se ha utilizado para tratar algunas enfermedades inducidas por HRSV, aunque solo se recomienda para casos especiales que involucren a niños de alto riesgo debido a su toxicidad. Dado que el Isotimol metil éter tuvo efectos antivirales muy significativos sobre el HRSV y la baja citotoxicidad, sería interesante comparar los efectos del Isotimol metil éter y su derivado solo o en combinación con ribavirina.

- ***“Estudio In Silico: Evaluación del compuesto Isotimol metil éter (C₁₁H₁₇O₂) como un inhibidor fitoquímico contra la proteasa principal del SARS-CoV-2 utilizando enfoques de modelado molecular”.***

Sobre la base de la afinidad de unión de *AutoDock*, los fitoquímicos, a saber: ***Isotimol metil éter (C₁₁H₁₇O₂)***, ácido Oleico y ácido Ursólico, han mostrado interacciones con los residuos del sitio activo, siendo el Isotimol metil éter el único compuesto que preserva la estabilidad con la diada catalítica de la proteasa viral principal (M^{pro}). Se ha encontrado que estos compuestos tienen una energía de unión de -4,0 kcal/mol, -6,0 kcal/mol, -5,9 kcal/mol, respectivamente. Con la energía de unión de *AutoDock* -4,0 kcal/mol, se descubrió que el aminoácido *Gly143* está involucrado en la formación de enlaces de hidrógeno con ***Isotimol metil éter***. Además de esto, otros seis residuos (*Leu27*, *His41*, *Met49*, *Asn142*, *Cys145*, *Met165*) están involucrados en la formación de interacciones hidrofóbicas, que juegan un papel clave en dar forma y estabilizar los complejos de acoplamiento.

Tabla 2. Resultados ADME de las propiedades fitoquímicas de la molécula Isotimol metil éter (ensayo *in silico*).

Propiedades de similitud de drogas	Isotimol metil éter	Ácido Oleico	Ácido Ursólico
Peso molecular g/mol	181,25	456,70	456,70
Registro de Log Po/w (absorción)	2,92	6,06	5,94
Nº aceptadores de enlace de H	1	3	3
Nº donantes de enlace de H	1	2	2
Refractividad Molar	58,01	136,65	136,91
Regla de cinco de Lipinski	SI	SI	NO
Regla de Veber	SI	SI	NO
Puntuación de biodisponibilidad	0,85	0,56	0,56
Accesibilidad sintética (SA)	1,00	6,08	6,21
TPSA (Å²)	9,4	57,53	57,53
Nº de enlaces rotativos	1	1	1
Solubilidad	1.56e-01	3,45e-04	9.72e-04

ADME: Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (farmacología).

TPSA: área de superficie polar topológica (Å²).

Software: SWISSADME (Daina et al., 2017).

Los resultados informados en la tabla 2 sugieren que el **Isotimol metil éter (C₁₁H₁₇O₂)** cumple satisfactoriamente con los parámetros ADME, las regla de Lipinski y Veber, la accesibilidad sintética (fácil de sintetizar), la absorción en el cuerpo humano, la biodisponibilidad oral de las moléculas (85%), y se validan con los ensayos *in vitro* e *in vivo* documentados (Ojeda et al., 2020; Marinelli et al., 2019; Tohmé et al., 2019). Los resultados también sugieren que el Isotimol metil éter fue impresionantemente **estable** después de la unión de los ligandos a los sitios activos de la proteína M^{pro} (*Thr24, Thr26, Asn119, Phe140, Gly143, Cys145, His163, His164, Glu166, Gln189 y Thr190*).

La proteasa principal del SARS-CoV-2 (M^{pro}) es 1900% más sensible que el SARS-CoV-1 (M^{pro})₁ al transmitir pequeños cambios estructurales a través de toda la proteína a través de interacciones de largo alcance. La mayor sensibilidad de las perturbaciones estructurales se ubican exactamente alrededor del sitio catalítico Cys-145 y coinciden con el sitio de unión del compuesto Isotimol metil éter. Estos hallazgos, basados en una representación simplificada de la proteína como una red de residuos, convalida el diseño de un inhibidor potente de la proteasa principal del SARS CoV-2 (M^{pro}).

- ***Efectos del Isotimol metil éter (C₁₁H₁₇O₂) en los mediadores inflamatorios del subconjunto de células T auxiliares y sus principales factores de transcripción en un modelo de ratones infectados con SARS-CoV-2.***

Este estudio tuvo como finalidad evaluar los efectos del Isotimol metil éter (C₁₁H₁₇O₂) en las respuestas de células T-Helper (TH) y sus subconjuntos en un modelo de ratones infectados con el agente SARS-CoV-2. Los efectos de este componente en: una respuesta inmune específica *in vivo* se evaluaron evaluando los cambios en la hipersensibilidad de tipo retardado (DTH); las respuestas proliferativas de esplenocitos *ex vivo* se evaluaron usando un ensayo de BrdU de expresión génica de citocinas y se evaluaron factores clave de transcripción implicados en la diferenciación de subgrupos de células T entre los esplenocitos de ratón usando reacción en cadena de polimerasa (PCR) en tiempo real; y la formación de citocinas de esplenocitos (*ex vivo*) y los niveles de las citocinas en suero de ratón se midieron por ELISA. Los ratones tratados con Isotimol metil éter tuvieron respuestas DTH reducidas (76% y 80%, respectivamente) en comparación con los ratones control. El Isotimol metil éter disminuyó la proliferación de esplenocitos a casi 85-92% de los niveles de control ($p < 0,01$). Estos agentes también condujeron a niveles disminuidos de TH1 [interleucina (IL) -2, interferón (IFN) - γ], TH2 (IL-4) y TH17 (IL-17A) en los cultivos de esplenocitos y en los sueros de ratones, pero aumentaron niveles de IL-10 y factor de crecimiento transformante (TGF) - β . Los ratones infectados tratados mostraron una expresión T-box 21 (T-bet) significativamente reducida de 3,8 [$\pm$ 0,3] veces en ratones inmunizados no tratados a 0,9 [$\pm$ 0,4] - (Isotimol metil éter) y 0,8 [$\pm$ 0,2] veces (Isotimol) ($p < 0,01$). La expresión de la proteína de unión a GATA 3 (GATA-3) disminuyó de 3,4 [$\pm$ 0,4] a 0,5 [$\pm$ 0,3] veces (Isotimol metil éter) y 0,6 [$\pm$ 0,4] veces (Isotimol), mientras que ROR γ c disminuyó de 13,4 [$\pm$ 1,6] - a 1,5 [$\pm$ 0,6] veces (Isotimol metil éter) y 0,8 [$\pm$ 0,4] veces (Isotimol) ($p < 0,001$). Como el Isotimol metil éter suprimió la respuesta inmune específica del antígeno al reducir los factores de transcripción específicos de las citocinas relacionadas con las células TH, esto indicó su potencial para modular las respuestas inmunes destructivas atribuidas a la sobreactivación de las células T que conllevan a la tormenta de citoquinas.

- **Mecanismo de acción del compuesto Isotimol metil éter para la disolución de la capa lipídica (fosfolípidos) del agente SARS-CoV-2**

El componente Isotimol metil éter causa daño estructural y funcional de la envoltura lipídica (fosfolípidos) al ser un componente altamente lipofílico bajo un efecto tensoactivo (disolución de la membrana de lípidos, creando un mecanismo de permeabilización positivo). La síntesis del compuesto $C_{11}H_{17}O_2$ (denominado *Isotimol metil éter*) derivado del compuesto $C_{10}H_{14}O$ (denominado *isotimol*) actúa como intercambiador de protones, con lo que se reduce el gradiente de pH a través de la nucleocápside. El compuesto oxigenado $C_{11}H_{17}O_2$ presenta un radical hidroxilo ($-OH$) en posición ORTO que se difunde a través de dicha membrana hacia la proteasa de la *serina-2* en donde libera un protón. Posterior regresa transportando un catión, luego el catión es liberado y capta un nuevo protón. El resultado es el agotamiento de ATP y bloqueo total de la unión al receptor de la ECE2. **Fuente:** Ojeda, R. 2020.

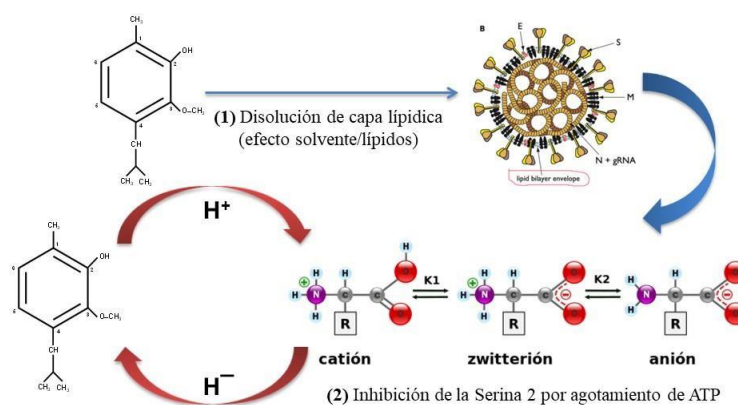


Figura 1. Esquema del mecanismo de acción del compuesto Isotimol metil éter para la disolución de la capa lipídica (fosfolípidos) del agente SARS-CoV-2.

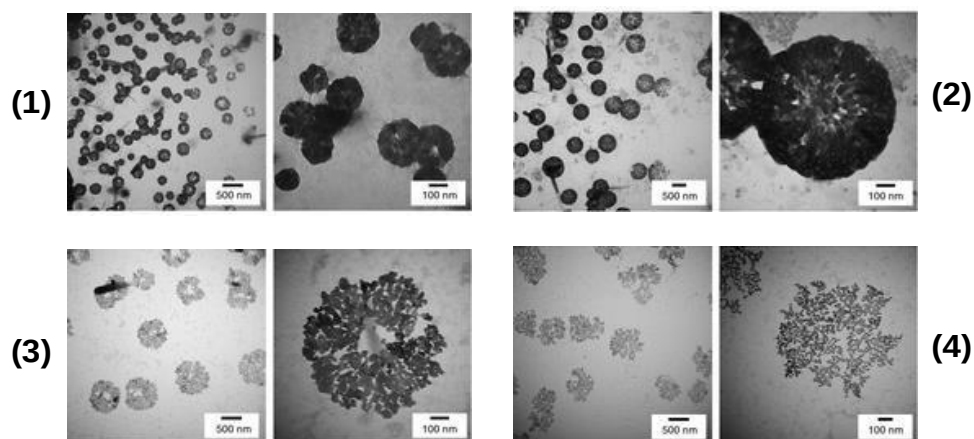
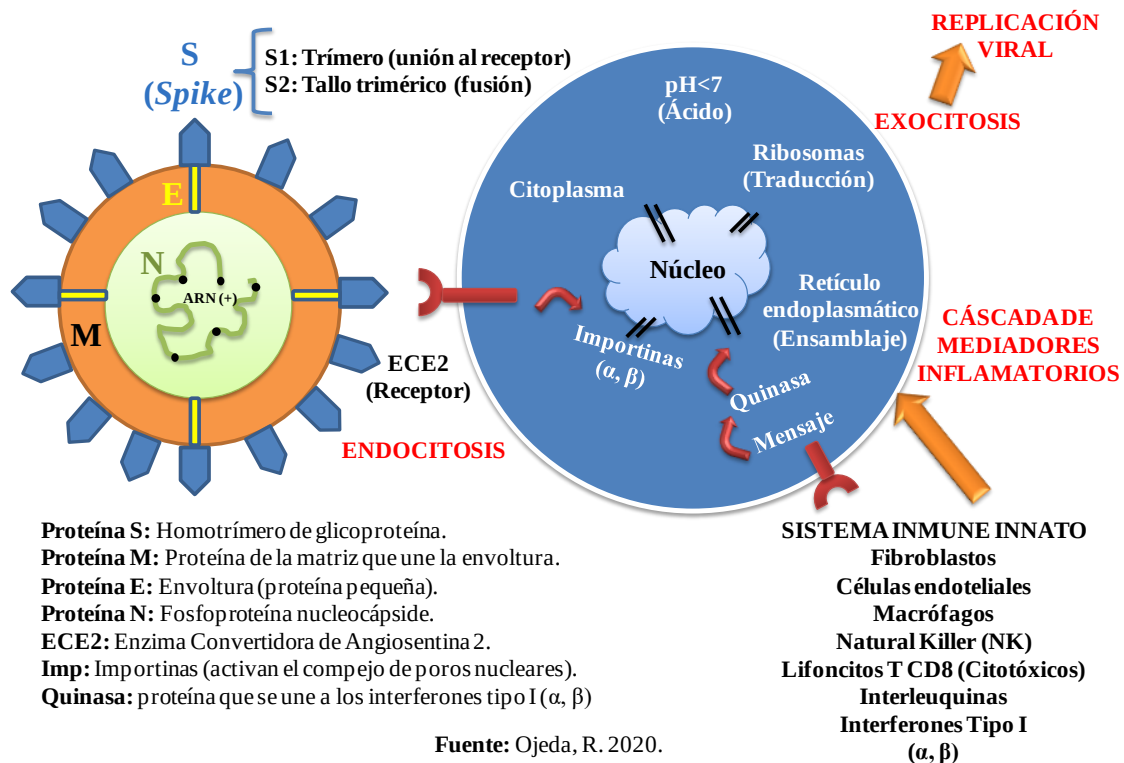


Figura 2. Ensayo *in vitro*: Cultivo de células infectadas. Imágenes de transmisión de Microscopia Electrónica de Barrido de la envoltura (cápside viral) del virus expuesto a 0,5% del compuesto **Isotimol metil éter**, y se muestra a diferentes grados la desintegración de la envoltura (lado izquierdo) con una significativa reducción ($P < 0,05$). Las imágenes del lado derecho muestran la ampliación de las imágenes del lado izquierdo.

- **Mecanismo de acción del compuesto Isotimol metil éter para la inhibición de la tormenta de citoquinas producida por la enfermedad COVID-19:**

- Los resultados mostraron que el Isotimol metil éter redujeron las expresiones del gen de las citocinas (IFN γ , IL-4, IL-5, IL-10, IL-17, IL-23 en cultivo de esplenocitos de los ratones, proveniente del bazo) en los factores de transcripción (TGF β , Tbet, GATA-3, ROR γ c y FoxP3) esenciales para la maduración / función de las células TH1, TH2 y TH17, respectivamente. (Determinados por análisis RT-PCR).
- El Isotimol metil éter reducen la formación de esplenocitos de IL-2, una citoquina importante para TH en el crecimiento celular y la supervivencia. El uso de cada agente también condujo a una formación reducida de IFN γ , una citocina clave de TH1 requerida para la proliferación. Como las reacciones DTH están mediadas por linfocitos TH1 productores de IFN γ , las reducciones inducidas en la formación de IFN γ por los agentes de prueba son el mecanismo principal a este resultado inmunosuprimido específico.
- En los análisis de los efectos *in vivo* del Isotimol metil éter en una respuesta mediada por células T, es decir, DTH (hipersensibilidad de tipo retardado), se observó que cada agente suprimía significativamente la DTH en ratones tratados (potente efecto inmunosupresor).



- **“Estudio Clínico en Fase I: Actividad antiviral e inmunomoduladora del compuesto Isotimol metil éter (C₁₁H₁₇O₂) contra el agente SARS-CoV-2 en pacientes COVID-19”**

Se investigó la actividad antiviral e inmunomoduladora del Isotimol metil éter, contra el agente SARS-CoV-2 causante de la enfermedad COVID-19 en pacientes asintomáticos y sintomáticos (fase I, II y III). Isotimol metil éter, es un inhibidor selectivo de la proteasa principal del virus, y a su vez faculta potentes actividades inmunomoduladoras y antiinflamatorias (*in vivo*). Se administró a 100 pacientes hospitalizados con COVID-19 (50 con oxígeno suplementario, 10 con ventilación mecánica y 40 asintomáticos), 40 de los cuales tenían un aumento de los requerimientos de oxígeno al inicio. Durante un curso de tratamiento de 7 a 14 días, el inicio del tratamiento con Isotimol metil éter se asoció con una mejor oxigenación en la mayoría de los pacientes, a menudo dentro de 1 a 3 días, y no tuvo toxicidad perceptible. Las medidas de inflamación (proteína C reactiva e interleucina-6 (IL-6) se normalizaron rápidamente en la mayoría de los pacientes, al igual que la linfopenia, en correlación con una mejor oxigenación. Al final del tratamiento con Isotimol metil éter, 46 de 50 (92%) pacientes en la cohorte de oxígeno suplementario habían sido dados de alta en aire ambiente, y 9 de 10 (90%) pacientes en la cohorte de ventilación mecánica habían sido extubados con éxito, con 6 de 8 (75%) dados de alta en aire ambiente. El análisis *ex vivo* reveló una hipersensibilidad de los mediadores inflamatorios (macrófagos e interferones tipo I) y la producción significativamente elevada de histamina, como lo demuestra la autofosforilación, y aumentó la producción de IL-6 en monocitos sanguíneos de pacientes con COVID-19 grave en comparación con monocitos sanguíneos de voluntarios sanos. En el caso de los pacientes asintomáticos (40 de 40) a los 14 días del tratamiento con Isotimol metil éter recombinado se detectó a través de un ensayo ELISA la manifestación positiva de inmunoglobulina G (*IgG*) y negativa para la inmunoglobulina M (*IgM*) indicativo de la superación de la enfermedad, que fueron confirmados con ensayos RT-PCR a una media de 30 días respectivamente (20 - 40 días).

Nuestros estudios de laboratorio clínico han revelado que la histamina es un probable instigador de la respuesta inflamatoria patológica en COVID-19 grave: La unión entre el virus [SARS-CoV-2] y el receptor de la superficie de la célula huésped (Enzima ECE2) está formada por enlaces covalentes fuertes, predominantes entre el aminoácido histidina [$C_6H_9N_3O_2$] y el aminoácido del genoma del virus serina [$C_3H_7NO_3$] presente en el dominio RBD (subunidad 1 de la proteína de espiga "S"). Existe una catálisis entre N y H^+ . El aminoácido [$C_6H_9N_3O_2$] predominante en la secuenciación CINC de la ECE2, referida a la carboxipeptidasa [His-Glu-Xaa-Xaa-His] sufre una catálisis por descarboxilación [$RCOOH$] en la estructura molecular, produciendo una amina hidrofílica [$C_5H_9N_3$]. Nos dimos cuenta que la histamina ($C_5H_9N_3$) interviene en la hiperinflamación del sistema inmunológico mediante la activación de vías intracelulares que inducen la producción de citoquinas en los pulmones (tormenta de citoquinas) ante la infección de las células blancas, es por ello que se propuso la reacción de oxidación de la amina por medio del Isotimol metil éter (figura 3 y 4). En los macrófagos, los receptores tipo Toll (TLR) reconocen el ssRNA de virus como el SARS-CoV-2 e inician la señalización a través de la activación dependiente de histamina del factor nuclear κB (NF- κB), lo que desencadena la producción de múltiples citocinas inflamatorias y quimiocinas y fagocitosis (figura 2). Se demostró que suprimir la producción y la adhesión de superóxido en neutrófilos (efecto inmunoestimulador) a través de la regulación de citocinas e IL-4, IL-6 (interleuquinas) logra la inhibición de la tormenta de citoquinas (fase 2B, paciente infectado). Además, en un modelo de influenza de ratón, la inhibición de histamina disminuyó los mediadores inflamatorios y rescató a los ratones de una lesión pulmonar aguda letal, lo que sugiere que puede mitigar el daño pulmonar inducido por virus provocado por una inflamación excesiva.

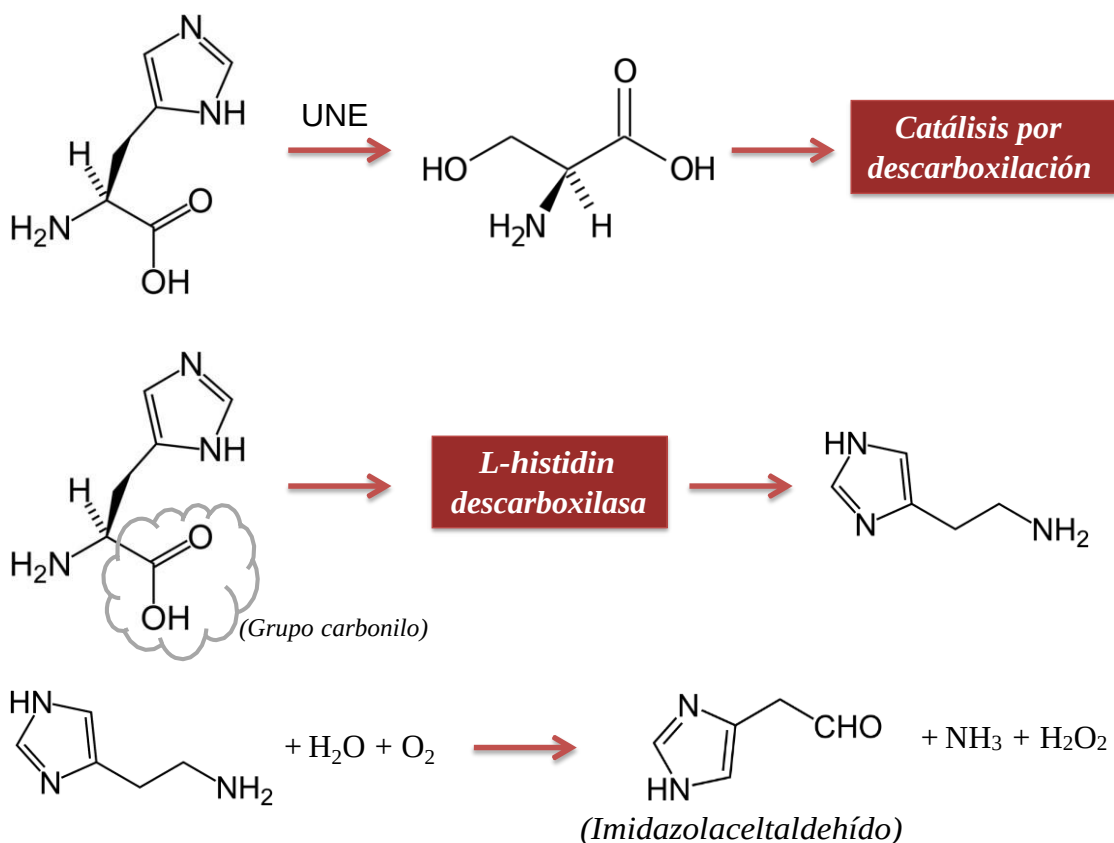


Figura 4. Esquema químico de la unión entre el virus [SARS-CoV-2] y el receptor de la superficie de la célula huésped (Enzima ECE2) dado entre el aminoácido [C₆H₉N₃O₂] y el aminoácido del genoma del virus [C₃H₇NO₃] presente en el dominio RBD (subunidad 1 de la proteína de espiga “S”).

De conformidad con la orientación de la Organización Mundial de la Salud, administramos prospectivamente Isotimol metil éter fuera de etiqueta (en cumplimiento estricto de la declaración de Helsinki) con intención terapéutica a 100 pacientes hospitalizados con COVID-19 (asintomático, fase I, II y III), en función del papel conocido de la histamina en las células inmunes innatas. Todos los pacientes sintomáticos tenían requisitos de oxígeno cada vez mayores al momento del inicio del tratamiento, y todos menos nueve pacientes recibían oxígeno de alto flujo o ventilación mecánica invasiva, lo que indica la gravedad de la enfermedad en esta serie. La oxigenación y el estado clínico de la mayoría de los pacientes con oxígeno suplementario mejoraron relativamente rápido después del inicio de Isotimol metil éter, que se asoció temporalmente con una normalización de los marcadores inflamatorios.

Aunque los pacientes con ventilación mecánica tuvieron una respuesta clínica más variable al Isotimol metil éter, la oxigenación mejorada en la nueve de estos pacientes permitió extubarlos. Nuestros estudios de laboratorio de muestras de sangre ex vivo de pacientes hospitalizados con COVID-19 revelaron una fosforilación de histamina significativamente elevada en monocitos de sangre periférica en comparación con voluntarios sanos, lo que demuestra que el objetivo de Isotimol metil éter se activa en estas células inmunes innatas. Este hallazgo respalda nuestra opinión de que el aparente efecto beneficioso del Isotimol metil éter en estos pacientes se debió a la inhibición de histamina en el objetivo. En términos más generales, este estudio destaca la oportunidad de mejorar los resultados en COVID-19 grave al modular la respuesta inflamatoria del huésped. Este hallazgo respalda nuestra opinión de que el aparente efecto beneficioso del Isotimol metil éter en estos pacientes se debió a la inhibición de histamina en el objetivo y destaca la oportunidad de mejorar los resultados en COVID-19 grave al modular la respuesta inflamatoria del huésped. Aunque la mayoría de los pacientes infectados con SARS-CoV-2 tienen una enfermedad limitada que no requiere hospitalización, los pacientes de esta serie han progresado a una fase hiperinflamatoria de esta infección que puede ser fatal y para la cual no hay estrategias de tratamiento comprobadas. Todos los pacientes de nuestra serie tenían marcadores inflamatorios elevados, incluidos PCR, ferritina y / o IL-6. La mayoría de los pacientes también tenían niveles aumentados de dímero D, que pueden estar asociados con una coagulopatía que es común en COVID-19. Muchos pacientes en esta serie tenían una ALC severamente deprimida, que también se ha asociado con COVID-19 grave. La administración de Isotimol metil éter se asoció temporalmente con un cambio en varios de estos biomarcadores de inflamación, lo que sugiere que la activación de histamina estaba desencadenando esta patología. En la mayoría de los pacientes, los niveles del PCR se normalizaron o disminuyeron sustancialmente, al igual que los niveles de IL-6. Del mismo modo, la linfopenia se normalizó rápidamente en la mayoría de los pacientes, posiblemente relacionada con la disminución de las citocinas o quimiocinas inflamatorias. La relación inversa entre una medida de la eficiencia de absorción de oxígeno (SpO_2/FiO_2) y los niveles de CRP sugirió fuertemente un vínculo entre la función pulmonar mejorada y la disminución de la inflamación.

El aparente efecto beneficioso de Isotimol metil éter fue claramente eficiente entre los pacientes que recibieron oxígeno suplementario y aquellos que requirieron ventilación mecánica. En la cohorte de oxígeno suplementario, la oxigenación mejoró en un 90%, con un 83% descargado en el aire ambiente a pesar de los altos requisitos de oxígeno preexistentes en la mayoría a los tres días de tratamiento. El beneficio de Isotimol metil éter fue bastante marcado en pacientes con ventiladores, el 90% se extubó después de recibir Isotimol metil éter. La asociación entre la eficiencia de absorción de oxígeno y la normalización de la PCR también fue evidente en la cohorte de ventilación mecánica. Estos pacientes eran clínicamente bastante heterogéneos, incluidos los pacientes con disfunción orgánica importante, como insuficiencia renal o que habían sido ventilados durante un período prolongado antes de la administración de Isotimol metil éter. Aunque esperábamos que el momento óptimo para iniciar el tratamiento antiinflamatorio fuera antes del deterioro que requiere intubación, estos resultados sugieren que la inhibición de histamina puede proporcionar un beneficio significativo a un subconjunto de pacientes con COVID-19 en ventiladores.

Debido a que nuestro estudio investigó el efecto de un curso limitado de Isotimol metil éter en pacientes COVID-19 en las tres fases de la enfermedad, nos interesó saber si la enfermedad recurría después del cese de Isotimol metil éter. Entre los 54 pacientes que alcanzaron el estado del aire ambiente con Isotimol metil éter, ninguno tuvo recurrencia, lo que sugiere que un ciclo corto de Isotimol metil éter fue suficiente para calmar la enfermedad clínicamente.

La seguridad de cualquier medicamento siempre es de suma importancia, pero se incrementa aún más cuando se usa en un estado de enfermedad no probado, como COVID-19 grave en el que ocurre la disfunción multiorgánica. Es dentro de este contexto que administramos Isotimol metil éter con cuidadosa consideración de los riesgos y beneficios potenciales. El perfil de seguridad de Isotimol metil éter está bien definido en el contexto del uso a largo plazo durante meses o años en pacientes con diversas patologías autoinmunes e infecciones por virus monocatenarios y bacterias gram positivas y negativas. Es notable que no hayamos observado ninguna toxicidad atribuible al tratamiento con Isotimol metil éter, lo que sugiere que, en el contexto de COVID-19, el Isotimol metil éter se tolera muy bien, y se confirma ampliamente su definición GRAS (*Generalmente Reconocido como Seguro*) Sin embargo, debido a que solo

hemos tratado a una cohorte de 100 pacientes, el perfil de seguridad de Isotimol metil éter en pacientes con COVID-19 (fase I, II y III) debe continuar en un ensayo clínico fase II/III.

El Isotimol metil éter puede haber sido eficaz porque se dirige a una fuente de producción de citocinas en las células inmunes innatas en lugar de las funciones efectoras posteriores de las citocinas individuales. Se han considerado otras estrategias terapéuticas para COVID-19, incluidos los corticosteroides. Estos agentes proporcionaron poco o ningún beneficio en epidemias previas de coronavirus y no se recomiendan para COVID-19. Más de la mitad de los pacientes de nuestra serie recibieron apoyo con esteroides. La hidroxiclороquina se administró al 42% de nuestros pacientes a pesar de no tener ningún beneficio comprobado en COVID-19 grave. Se han propuesto otras estrategias inmunomoduladoras, como los anticuerpos monoclonales dirigidos a los receptores IL-6 o IL-1, que no se administraron a pacientes de nuestra serie. Debido a que las citocinas y quimiocinas inflamatorias múltiples están elevadas en pacientes con COVID-19, la inhibición de cualquier mediador inflamatorio solo puede reducir parcialmente el proceso inflamatorio. Aunque los inhibidores de histamina interfieren con la activación de las células B y podrían disminuir los títulos de anticuerpos antivirales, esta preocupación puede mitigarse con el momento de la administración a pacientes con COVID-19 grave, que generalmente están hospitalizados 7 o más días después de la infección inicial. Una comprensión más completa de cómo los inhibidores de histamina modulan la fisiopatología inmune de COVID-19 requerirá el uso de sistemas modelo preclínicos en concierto con el perfil inmunológico detallado de pacientes con COVID-19, antes y durante el tratamiento con un inhibidor de mediadores inflamatorios.

Si la inmunomodulación de los mediadores inflamatorios es de beneficio clínico en COVID-19 grave, como lo respaldan nuestros datos, plantea la cuestión de qué inhibidor de histamina sería óptimo en este entorno clínico dada la asociación de COVID-19 con arritmias y otras secuelas sistémicas graves del proceso inflamatorio. El Isotimol metil éter, también tiene actividad inhibidora detectable contra la quinasa de células T inducible por IL-2 inmunológicamente importante (ITK) o contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico, un receptor de señalización clave en las células epiteliales.

Los hallazgos clínicos y de laboratorio en pacientes con COVID-19 severo son indicativos del síndrome de activación de macrófagos, que ocurre en diversos entornos clínicos y se caracteriza por PCR elevada, IL-6 y otras citocinas inflamatorias, lo que sugiere que la inmunopatología de graves COVID-19 implica la desregulación de la homeostasis de los macrófagos. De acuerdo con esta hipótesis, el examen post mortem de los pulmones COVID-19 reveló una mayor preponderancia de células monocito / macrófagos en los alvéolos pulmonares. La activación de histamina ocurre en los macrófagos cuando los TLR se unen a ssRNA, como puede ocurrir en la infección por SARS-CoV-2, lo que lleva a la expresión dependiente de NF- κ B de múltiples citocinas y quimiocinas inflamatorias, incluida IL-6, que observamos que fue inducida en COVID-19 monocitos y disminución en plasma después del tratamiento con Isotimol metil éter.

Varias comorbilidades asociadas con COVID-19 grave —obesidad, hipertensión, aterosclerosis y diabetes tipo 2— se han relacionado individualmente y como parte del síndrome metabólico con un estado inflamatorio elevado caracterizado por la activación del inflamasoma en los macrófagos. Estas comorbilidades posiblemente podrían establecer un "punto de ajuste" inflamatorio elevado que afecta la forma en que los macrófagos responden a las infecciones por SARS-CoV-2. Este concepto ha sido denominado "inmunidad entrenada" o "memoria inmune innata" y resulta de cambios epigenéticos en la expresión génica en respuesta a estados de enfermedad o infecciones. Debido a que los agentes infecciosos son poderosos modificadores de la memoria inmune innata, será importante evaluar si la infección por SARS-CoV-2 exacerba los estados de enfermedad comórbidos y si los inhibidores de histamina pueden prevenir esto.

Este estudio prospectivo de pacientes con COVID-19 grave destaca el beneficio potencial de la inhibición de histamina y ha llevado a un ensayo clínico aleatorizado prospectivo confirmatorio internacional. Dada la activación de histamina y la producción de IL-6 que detectamos en monocitos COVID-19, proponemos que los inhibidores de histamina se dirijan a la activación patológica de monocitos / macrófagos y amortigüen la tormenta de citocinas, lo que en consecuencia puede mejorar los resultados en estos pacientes.

En términos más generales, nuestros hallazgos aumentan la posibilidad de que la morbilidad de otros estados de enfermedad asociados con la activación de macrófagos, incluidas las infecciones graves de influenza, también puedan depender de la función histamina, lo que también respalda la evaluación de ensayos clínicos de inhibidores de histamina en estos entornos clínicos.

3.d. Datos relativos al promotor

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).
Carretera Panamericana, Km 11, Altos de Pipe, San Antonio de los Altos, Miranda, Venezuela.
Teléfono: 0212-5041100.

3.e. Centros en que se realizará el ensayo

1. Hospital Dr. Leopoldo Manrique Terrero - Periférico de Coche.
2. Hospital Militar Dr. Vicente Salias Sanoja.
3. Hospital Intermedio de Campaña “El Poliedro”.

3.i. Centros en que se realizará los análisis de muestras biológicas y serológicas

1. Laboratorio Inmuno XXI, Caracas, Venezuela.
2. Mayo Medical Laboratories, Rochester, Minnesota, Estados Unidos.

4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

4.a. Justificación

En el pasado mes de marzo la Organización Mundial de la Salud (OMS) a través de su Director General Dr. Tedros Adhanom declaró a la enfermedad COVID-19 (producida por el agente SARS-CoV-2) como pandemia, y a la fecha de redacción de este informe final (04 de noviembre de 2020), según datos oficiales existen: +47,6 millones de personas contagiadas, +1,22 millones de fallecidos y afortunadamente +31,7 millones de personas recuperadas, siendo los países con mayores afectaciones: EEUU, Brasil, Perú, Rusia, Reino Unido y España. Actualmente el epicentro de la pandemia radica en América, dado por el incremento de casos en EEUU, Brasil y Perú.

La OMS a través de sus portavoces oficiales ha declarado a la comunidad internacional que están en evaluación +100 tratamientos terapéuticos y las posibles vacunas están en fase de pruebas en humanos (III y IV).

En el caso de las Américas, los efectos de la pandemia se suman a los retos preexistentes para los derechos humanos de sus poblaciones, con impactos desproporcionadamente mayores sobre ciertos grupos sociales. Las asimetrías de infraestructura médica y sanitaria en la región, con grandes dificultades de acceso, las situaciones de hacinamiento en hospitales, cárceles y albergues, por ejemplo, tienden a agravar casos de la enfermedad respiratoria causada por el COVID-19. Considerando que las Américas es la región más desigual del planeta, caracterizada por profundas brechas sociales, en la que la pobreza y la pobreza extrema constituyen un problema transversal a todos los Estados de la región, siendo común la falta o precariedad en el acceso al agua potable y al saneamiento; la inseguridad alimentaria, las situaciones de contaminación ambiental, los asentamientos informales densamente poblados en las ciudades y periferias urbanas de la región, la existencia de comunidades y grupos indígenas aislados; así como la falta de viviendas o de hábitat adecuado. A lo que se suman altas tasas de informalidad laboral y de trabajo e ingresos precarios, que hacen aún más preocupante el impacto socioeconómico del COVID-19.

Todo lo cual impide a millones de personas tomar medidas básicas de prevención contra la enfermedad. Teniendo en cuenta, además, la compleja situación de los derechos humanos de la región caracterizada por altos índices de violencia generalizada y violencia de género, así como por la persistencia de flagelos tales como la corrupción y la impunidad. Asimismo, por el ejercicio de la protesta social, en un contexto de represión mediante el uso desproporcionado de la fuerza, así como de actos de violencia y vandalismo; la gravedad de la crisis penitenciaria; y la extensión del fenómeno de la migración forzada; así como por la discriminación estructural en contra de grupos en situación de exclusión.

Debido a la gran problemática mundial, causada por la propagación del agente SARS-CoV-2, se plantea la aplicación del compuesto Isotimol con el objetivo de:

- Reducir el tiempo de estancia intrahospitalaria en el paciente con enfermedad COVID-19.
- Reducir los niveles de fallecidos por causa de la enfermedad COVID- 19.
- Reducir los costos por la aplicación de fármacos sintéticos comerciales importados.
- Sustituir fármacos sintéticos comerciales, que presentan alta toxicidad y resistencia a la actividad viral; por fármacos seguros, que muestren dentro de sus propiedades baja toxicidad, buena biodisponibilidad y compatibilidad, además de ser inocuos y bien tolerados por el organismo.
- Impulsar el Motor Farmacéutico, dado que de él depende el inicio de la activación de la cadena productiva de medicamentos, que tradicionalmente ha funcionado de manera aislada, y en la actualidad se busca integrarlo con los requerimientos de manufactura nacional de principios activos a utilizarse en dicha industria.

Hipótesis del estudio

La administración del Isotimol modificado reduciría en un 60% la posibilidad de tormenta de citoquinas (pacientes graves en fase 2b y 3) ocasionada por la hiperactivación de los mediadores inflamatorios por el agente SARS-CoV-2 (COVID-19).

Objetivos

Objetivo principal:

- Comprobar la eficacia, seguridad y tolerabilidad del compuesto Isotimol modificado contra el agente SARS-CoV-2 en pacientes COVID-19.

Objetivos secundarios:

- Evaluar la inhibición de la glucosilación terminal de la Enzima Convertidora de Angiotensina II (ECA II).
- Comprobar la inhibición de la función de la proteasa principal (M^{pro}) del agente SARS-CoV-2 mediante la unión estable del fármaco/proteína para controlar la replicación viral.
- Comprobar la reacción de oxidación de la amina $R-CH_2-NH_2$ implicada en la hiperactivación de los macrófagos (sistema inmune innato), por interferencia del Isotimol modificado.
- Evaluar el aumento de la tolerancia a la hipersensibilidad de las inmunoglobulinas G (IgG) e inmunoglobulinas M (IgM) en pacientes COVID-19.
- Comprobar la supresión de la producción y la adhesión de superóxidos en neutrófilos (efecto Inmunoestimulador) a través de la regulación de citocinas e IL-6 (interleuquinas) para la inhibición de la tormenta de citoquinas (etapa 2 y 3, paciente infectado).

5. TIPO DE ENSAYO CLÍNICO Y DISEÑO DEL MISMO

5.a. Fase de desarrollo

Estudio en fase II/III

5.b. Descripción detallada del proceso de aleatorización

La asignación de tratamientos se realizará de forma aleatoria en proporción 1:1 a cada uno de los dos grupos de tratamientos definidos según su orden de inclusión en el estudio. Para cada grupo se generará una lista maestra de aleatorización mediante un programa informático validado que emplea un generador de números aleatorios. La aleatorización incluirá a los pacientes a los que se administrará el Isotimol modificado y a los pacientes con placebo (grupo control). Se deberá garantizar homogeneidad en la muestra.

5.c. Tipo de control y diseño

Estudio aleatorizado, doble ciego, multicéntrico con evaluación ciega de eventos, diseñado para comparar la eficacia y seguridad del Isotimol modificado con el placebo en pacientes ≥ 18 años de edad que cumplan con los criterios de inclusión.

- **Esquema de administración del fármaco:** Randomizado y paralelo (Isotimol modificado y placebo).
- **Diseño estadístico:** Superioridad. Permitirá detectar una diferencia entre el fármaco y placebo después de la administración paralela.

5.d. Técnicas de enmascaramiento

El tratamiento asignado no será conocido para los sujetos del estudio, los investigadores participantes y los evaluadores de los criterios de valoración del estudio. El placebo deberá contener las mismas especificaciones técnicas y apariencia física del Isotimol modificado.

Para garantizar la apertura individual del código de aleatorización, se prepararán sobres sellados para cada sujeto, los cuales contendrán el tratamiento específico recibido por cada uno. Estos sobres podrán ser controlados por el Investigador Clínico, el Personal de Enfermería o de la Farmacia disponible las 24 horas. En caso de que se procediera a la apertura del sobre y del código de aleatorización antes de finalizado el ensayo, dicho proceder deberá ser documentado y explicado las causas de la apertura.

5.e. Períodos de preinclusión o lavado

No aplicable

6. SELECCIÓN DE LOS SUJETOS

6.a. Criterios de inclusión y exclusión

La población en estudio serán pacientes de ≥ 18 años con RT-PCR positiva (detección de material genético del SARS-CoV-2 en la muestra analizada), elegibles para COVID-19, que acuden a un centro médico con un programa activo de atención primaria, en las primeras horas desde el inicio de los síntomas. En el caso de los asintomáticos se verificará en el triaje el análisis del hisopado nasofaríngeo, y en función del resultado se incluirán o no en el protocolo clínico.

Se prevé un tamaño muestral de 600 pacientes, que se deberán aleatorizar para la administración paralela del fármaco experimental (300 pacientes) y el placebo (300 pacientes).

Se deberá evaluar previo al inicio del ensayo clínico: Pruebas de diagnóstico rápida (prueba PDR), Reacción en cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa (prueba RT-PCR), presión arterial, pulso, temperatura, peso corporal, análisis de sangre, detección de enfermedades autoinmunes e infecciosas (VIH, lupus, artritis reumatoide, hepatitis, sífilis), detección de anticuerpos (inmunoglobulina G e inmunoglobulina y M), pruebas de orina para detectar drogas y embarazo (en caso de mujeres) y demás condiciones comórbidas caracterizadas en la tabla 6. Además, se deberá realizar radiografía de tórax a cada paciente incluido en el ensayo, y de ser posible realizar una tomografía computarizada (antes y después del tratamiento con Isotimol modificado).

Se contará con un sistema electrónico para cargar todas las variables científicas y clínicas del protocolo establecido en la toma de datos, y también permitirá procesar las variables de salida expeditas, el cual podrá ser auditado en tiempo real.

Para ser elegible, cada paciente deberá cumplir todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión (tabla 3).

Tabla 3. Criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
PDR positivo	PDR positivo
PCR positivo	PCR negativo
Fase I	No querer firmar el consentimiento informado
Fase II	Administración no adecuada del antiviral (por no cumplimiento de los intervalos indicados o fallecimiento del paciente antes de los 15 días indicados del tratamiento)
Fase III con o sin tubo endotraqueal	
Administración estricta del antiviral durante 15 días.	

6.b. Criterios diagnósticos para las patologías en estudio

Pacientes con diagnóstico de COVID-19 que presenten:

- Dolor torácico u otro síntoma compatible con neumonía bilateral atípica, con una de las siguientes alteraciones paraclínicas e imagenológicas:
- Saturación de oxígeno (SpO_2) $\leq 93\%$.
- Elevación del Dímero D ≥ 10 mg/mL.
- Elevación de la Ferritina ≥ 120 ng/mL.
- Elevación de la Fibrinógeno ≥ 400 mg/dL.
- Elevación de la Inmunoglobulina M (IgM) ≥ 200 mg/dL.
- Elevación de la Interleuquina 6 (IL-6) ≥ 1800 pg/mL.
- Rx. de tórax y TAC que evidencien engrosamiento de bronquios, consolidación y opacidades de vidrio esmerilado.

6.c. Criterios de retirada y análisis previstos de las retiradas y los abandonos

Sólo se retirará del estudio si el paciente retira su consentimiento. Pérdida de seguimiento, se ha calculado una pérdida de seguimiento del 1% (6 pacientes).

6.e. Reclutamiento en función del número de pacientes disponibles

El reclutamiento de los pacientes se hará en función de los Centros hospitalarios denominados “Centinelas” y que posean una sala de hospitalización para pacientes COVID-19 avaladas por el Ministerio del Poder Popular para la Salud.

6.f. Sistema automatizado de información para el registro y procesamiento del historial clínico de los pacientes bajo tratamiento con Isotimol modificado durante el estudio

- **Nombre del sistema:**

Sistema automatizado de información para el registro y procesamiento del historial clínico de los pacientes bajo tratamiento durante el estudio de la actividad antiviral e inmunomoduladora del compuesto Isotimol modificado contra el agente SARS-CoV-2 en pacientes covid-19.

- **Objetivo general del sistema:**

Recopilar toda la información resultante de los análisis realizados a los pacientes que forman parte del Estudio Clínico en Fase III: Actividad antiviral e inmunomoduladora del compuesto Isotimol modificado contra el agente SARS-CoV-2 en pacientes COVID-19.

- **Objetivos específicos del sistema:**

- Almacenar y procesar de manera sistematizada los datos generales que identifican a un paciente cuando pasan a formar parte del estudio.
- Almacenar y procesar de manera sistematizada todos los datos relacionados a las comorbilidades en cada paciente que forma parte del estudio.
- Almacenar y procesar de manera sistematizada los datos asociados a los signos vitales de cada paciente que forma parte del estudio.
- Almacenar y procesar de manera sistematizada los datos relacionados a la condición general de cada paciente que forma parte del estudio.

- Almacenar de manera sistemática los resultados de los estudios paraclínicos e imagenológicos con calidad de resolución que permita su análisis y clasificación posterior incluyendo a todas y cada una de las unidades de análisis.
- Proporcionar las relaciones necesarias que permitan construir todos los indicadores matemáticos y estadísticos indispensables para transformar los datos en información útil para el estudio clínico en fase II/III.
- Proporcionar las relaciones necesarias que permitan transformar las bases de datos en información matemática y estadística útil para el estudio clínico en fase II/III.
- Sistematización de indicadores estadísticos necesarios para la evaluación y toma de decisiones entorno a los resultados que forman parte del estudio clínico en fase II/III.
- Sistematización de gráficos y tabulados estadísticos que describen la evolución de Actividad antiviral e inmunomoduladora del compuesto Isotimol modificado contra el agente SARS-CoV-2 en pacientes COVID-19.

- **Variables que se recolectan en la base de datos del sistema automatizado de información**

Datos del paciente:

Nombre
 Apellido
 Sexo
 Número de cédula
 Fecha de nacimiento
 Estado civil
 Dirección de residencia
 Teléfono
 Email

Comorbilidades:

Hipertensión
 Diabetes
 Obesidad
 Apnea
 Asma
 Artritis
 Leucemia
 Cáncer

Cardiopatía

Parkinson

Fallo renal

Signos y síntomas:

Fiebre

Dolor de cabeza

Disnea

Diarrea

Vomito

Dolor abdominal

Perdida del olfato

Condición general del paciente:

Estables condiciones generales

Regulares condiciones generales

Criticas condiciones generales

Exámenes paraclínicos e imagenológicos:

Prueba molecular

PDR

RT-PCR

Estimación carga viral

Hematología completa

Hemostasia y trombosis

Interleuquina 6

IgG

IgM

Ferritina

Tomografía computarizada

Rayos X

Efectos adversos reportados

- **Componentes técnicos****Lenguaje de desarrollo**

Para la construcción del sistema automatizado se utilizó una herramienta informática denominada Scriptcase, la cual está concebida como una plataforma de desarrollo para aplicaciones PHP, está orientada a la web y se puede instalar en un servidor en Internet. Actúa como una plataforma para los desarrolladores y les permite el uso de una interfaz gráfica directamente a través de un navegador web para construir códigos y se puede usar en sistemas operativos Mac, Windows y Linux.

Con Scriptcase, los desarrolladores de PHP pueden generar aplicaciones en línea completas. Scriptcase es una herramienta de desarrollo web rápido que tiene como objetivo reducir el tiempo de desarrollo y aumentar la productividad.

Administración de la base de datos

Los proyectos creados en Scriptcase pueden estar conectados a diferentes DBMS (MySQL, PostgreSQL, SQLite, Interbase, Firebird, MS Access, Oracle, SQL Server, DB2, Sybase, Informix o capa ODBC). Scriptcase gestiona toda la conexión a la base de datos para facilitar el proceso de creación y mantenimiento de las aplicaciones.

Gráficos

Además de los gráficos integrados que vienen con la aplicación Grid, Scriptcase también tiene una aplicación exclusiva para la creación y personalización de gráficos de JavaScript dinámico, con una interfaz de arrastrar y soltar para organizar métricas y dimensiones de una manera fácil y rápida.

Informes

Scriptcase es una poderosa herramienta para generar sistemas web y aplicaciones de negocios. También ayuda a crear informes completos (con paneles, cuadros y tablas dinámicas) de una manera rápida para el análisis de datos de gestión (Business Intelligence).

Formularios

Formularios web sencillos y avanzados utilizando las diversas opciones disponibles en Scriptcase: validación automática de datos, diseño en bloques y pestañas, edición e inclusión de múltiples registros, formulario de cuadrícula editable, relación muchos a muchos, entre otras características.

Dashboards

Aplicación para crear tableros de negocios con indicadores clave de rendimiento (KPI) que son relevantes para un propósito particular o proceso comercial.

Seguridad

Scriptcase, a través del Módulo de seguridad, genera el control completo de aplicaciones, usuarios y grupos automáticamente. Puede crear sistemas seguros para evitar que usuarios no autorizados tengan acceso a ciertas aplicaciones.

Programación

Scriptcase ofrece varias opciones dentro de su entorno para que pueda agregar sus propias reglas comerciales y personalizar el sistema de acuerdo con las necesidades de cada proyecto. Integración con bibliotecas externas, programación IDE (en blanco), Eventos, Macros son algunas de las características disponibles.

Alojamiento en la nube – CLOUD HOSTING – HOSTINGER

Para asegurar la máxima disponibilidad del sistema se contrató un servicio de alojamiento web en la nube y VPS con MySQL, FTP y PHP así como una fácil integración con WordPress, Shopify, Drupal, etc.

Este proveedor de servicio garantiza entre otras cosas:

Sitios web

Cuentas de correo

Ancho de banda ilimitado 48X

Recursos asignados

Certificado SSL

Caché
LiteSpeed
Aceleración de WordPress (LSCWP)
Servidores de nombres protegidos con Cloudflare
Integración con Github
Soporte 24/7/365
Uptime 99,9% garantizado
Gestor de DNS Administrador de acceso
Bases de datos MySQL ilimitadas 100 Subdominios
Cuentas FTP Ilimitadas
Cronjobs ilimitados
Dominio Acceso SSH
Copias de seguridad diarias 4X
Aumento de velocidad
Recursos dedicados
Dirección IP dedicada.

The screenshot shows a web application interface for patient registration. At the top, there is a green header bar with a menu icon on the left and a user profile icon on the right. Below the header, a tab labeled 'Registro' is active. The main content area is titled 'Nuevo registro de paciente' and features a '+ Guardar' button. The form is organized into several sections: 'Nombres' (First and Second Name and Surname), 'Identificación' (Sex, ID Type, ID Number, Date of Birth, and Age), 'Dirección' (State, Municipality, City, Parish, and Address), and 'Contacto' (Mobile Phone, Optional Phone, and Email). Below these, there is a 'Estado General de Salud' section with various medical conditions listed as toggle switches, including 'Días de Síntomas', 'Hospitalizado', 'Entubado', 'Presume Entubación', 'Hipertensión', 'Diabetes Mellitus', 'Obesidad Morbida', 'Cancer', 'Otra Enfermedad', 'Apnea', 'Asma', 'Artritis', 'Leucemia', 'Cardiopatía', 'Parkinson', and 'Fallo Renal'. The form is designed with a clean, modern aesthetic using a light blue and white color scheme.

Figura 5. Vista de la Pantalla de inicio del sistema automatizado.

7. DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO

7.a. Selección y manejo inicial de los pacientes

Inmediatamente después de realizarse el diagnóstico de la enfermedad COVID-19 y de comprobarse la presencia de criterios de inclusión y la ausencia de criterios de exclusión, se obtendrá el consentimiento informado.

Simultáneamente, y en ausencia de contraindicaciones, se administrará una dosis de 6 mg/ml de Isotimol modificado, en caso de que no la hubiera recibido previamente.

Tras la obtención de consentimiento informado, se determinará la estrategia de tratamiento mediante una aleatorización centralizada, utilizando un sistema telefónico. Los pacientes elegibles serán aleatorizados a una de las siguientes estrategias terapéuticas:

1. **Grupo Tratamiento con Isotimol modificado:** Inmediatamente después de la aleatorización se administrará una dosis de 6 mg/ml de Isotimol modificado. Se administrarán las dosis de acuerdo a la tabla 4.

2. **Grupo Tratamiento Placebo:** Inmediatamente después de la aleatorización se administrará una dosis de placebo. Se administrarán las dosis de acuerdo a la tabla 4.

La muestra se estratificará según el riesgo de la enfermedad en 4 grupos de riesgo de mayor a menor:

1. Grupo 1: Pacientes diagnosticados y realización de procedimientos que generan aerosoles (ej. intubación traqueal, lavado bronco-alveolar o ventilación manual).

2. Grupo 2: Pacientes diagnosticados, pero sin realización de procedimientos que generan aerosoles.

3. Grupo 3: Pacientes no diagnosticados, pero con síntomas compatibles con infección.

4. Grupo 4: Pacientes no diagnosticados asintomáticos.

Tabla 4. Administración/dosificación paralela del isotimol modificado y placebo.

Pacientes	Dosis	Intervalos (horas)	Días
Mayor de 18 años			
1- Profiláctico	5 gotas	Cada 5 h	7 días
2- TTO (Fase I-II-III)	10 gotas	Cada 4 h	7 días
3- TTO (Fase III complicada con o sin tubo endotraqueal)	15 gotas	Cada 4 h	10 días
4- Post-COVID19	10 gotas	Cada 5 h	15 días

8. DESARROLLO DEL ENSAYO Y EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA

8.a. Variables de evaluación Variables principales:

- Diagnóstico de presencia de infección por COVID-19 por RT-PCR: día 0 (inicio de tratamiento) y en caso de retirada por infección.
- Diagnóstico de infección por COVID-19 por ausencia de cuadro clínico de infección respiratoria aguda: día 0 (inicio de tratamiento), día +15 (fin de tratamiento) y día 0 y +45 (fin de seguimiento).
- Cumplimiento terapéutico: día 0 y +15 (fin de tratamiento).
- Finalización del estudio: día 0 y +45 (fin de seguimiento).

Variables secundarias:

- Constantes vitales: día 0 (inicio de tratamiento), +15 (fin de tratamiento) y +45 (fin de seguimiento). 50
- Analítica básica: día 0 (inicio de tratamiento), +15 (fin de tratamiento) y +45 (fin de seguimiento).
- Acontecimientos adversos: día +15 (fin de tratamiento) y 45 (fin de seguimiento).
- Defunciones: en el momento de la defunción.
- Uso de EPI: día +15 (fin de tratamiento) y +45 (fin de seguimiento).

8.b. Desarrollo del ensayo: número y tiempo de las visitas durante el mismo

Cada paciente será evaluado para comprobar que cumple todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, firmará el consentimiento informado y se aleatorizará a uno de los dos grupos de tratamiento (con Isotimol modificado y placebo).

Los pacientes incluidos en el estudio realizarán:

1. Visita basal incluyendo historial médico relevante.
2. Evolución hospitalaria de los pacientes incluyendo complicaciones, tratamientos médicos y quirúrgicos.
3. Se hará una visita clínica personal a todos los pacientes aleatorizados a los 4, 7 y 15 días de su inclusión comprobando todos los objetivos del estudio.

4. Se realizará un seguimiento personal, telefónico o por correo a los 2 meses para determinar el estado vital y la ocurrencia de los eventos cardiovasculares definidos.

Evaluaciones de eficacia

El objetivo general de este estudio es, comprobar la eficacia y seguridad del Isotimol modificado como tratamiento terapéutico contra la enfermedad COVID-19.

Evaluaciones de seguridad

Se registrarán en la parte correspondiente del CRD, todos los **AAGs** que presenten los pacientes incluidos, **y que estén relacionados con los tratamientos objeto del EC.**

La seguridad del estudio será controlada a través de un **Comité de Seguridad** constituido por un coordinador general, y otros especialistas en el área inmunológica y virología. Ninguno de ellos podrá estar involucrado directamente en el desarrollo del estudio. El Comité de Seguridad recibirá comunicación, de manera continua, de todos los eventos constituyentes del objetivo principal y los objetivos secundarios que se produzcan durante el periodo del estudio.

8.c. Descripción de los métodos (radiológicos, de laboratorio, etc.), utilizados para la valoración de la respuesta

Se seguirá a todos los pacientes registrados para perseguir los “endpoints” del estudio y, dado que son diagnósticos realizados de forma muy homogénea, se confirmarán según práctica habitual de cada centro. En la tabla 5 se muestra el protocolo de laboratorios y estudios imagenológicos.

Tabla 5. Protocolo de laboratorios y estudios imagenológicos.

Días de Hospitalización	Toma de Muestras
Día 1:	1.- Se tomará PDR y RT-PCR. 2.- Laboratorios: Hematología completa (Hg, Hto, WCB, Neutrófilos, Linfocitos, Plaquetas), PCR, PT – PTT, Ferritina, Fibrinógeno, Dímero D, IL-6, IgM e IgG. 3.- Rx de Tórax AP. 4.- TAC de Tórax.
Día 4:	1.- Laboratorios: Hematología completa (Hg, Hto, WCB, Neutrófilos, Linfocitos, Plaquetas), PCR, PT – PTT, Ferritina, Fibrinógeno, Dímero D, IL-6, IgM e IgG. 3.- Rx de Tórax AP.
Día 7:	1.- Se tomará PDR y RT-PCR. 2.- Laboratorios: Hematología completa (Hg, Hto, WCB, Neutrófilos, Linfocitos, Plaquetas), PCR, PT – PTT, Ferritina, Fibrinógeno, Dímero D, IL-6, IgM e IgG. 3.- TAC de Tórax.
Día 15:	1.- Se tomará PDR y PCR. 2.- Laboratorios: Hematología completa (Hg, Hto, WCB, Neutrófilos, Linfocitos, Plaquetas), PCR, PT – PTT, Ferritina, Fibrinógeno, Dímero D, IL-6, IgM e IgG. 3.- Rx de Tórax AP. 4.- TAC de Tórax.

9. ACONTECIMIENTOS ADVERSOS Y REACCIONES ADVERSAS

9.a. Definición

Un acontecimiento adverso es cualquier signo, síntoma o estado clínico indeseable que tenga lugar después del inicio de la medicación del estudio (o terapia), incluso aunque se considere que no está relacionado con el tratamiento del estudio.

La información sobre todos los acontecimientos adversos, tanto si son comunicados voluntariamente por el paciente, descubiertos por el investigador como resultado de un cuestionario general o detectados en exámenes físicos, en pruebas de laboratorio u otras. ***En este ensayo clínico, se recogerán y se registrarán en el apartado correspondiente del CRD y se controlarán adecuadamente, siempre y cuando sean graves y relacionados con los tratamientos en estudio.***

Las enfermedades / condiciones médicas que estuvieran presentes antes de iniciar la medicación en estudio, sólo se considerarán acontecimientos adversos si empeoran después de iniciado el tratamiento del estudio (cualquier procedimiento especificado en el protocolo).

Los valores de laboratorio o resultados de *tests* anormales sólo se considerarán acontecimientos adversos si causan signos o síntomas clínicos, se consideran clínicamente significativos o requieren tratamiento, y se registrarán en el CRD de AAs utilizando los signos, síntomas o diagnósticos asociados con ellos.

En la medida de lo posible, cada acontecimiento adverso también se describirá en función de:

- Su duración (fechas de inicio y de finalización).
- Su grado de severidad (leve, moderada y grave).
- Su relación con la medicación en estudio (sospechada / no sospechada).
- La(s) acción(es) tomadas para corregirlo.

Dadas las características de este estudio, sólo se recogerán los AA que, a criterio del investigador, sean relevantes y/o relacionados con los tratamientos aleatorizados.

Acontecimientos adversos graves y reacciones adversas graves

Cualquier acontecimiento adverso o reacción adversa que a cualquier dosis:

- Produzca la muerte del sujeto.
- Amenace la vida del sujeto.
- Haga necesaria la hospitalización del sujeto o la prolongación de ésta.
- Produzca invalidez o incapacidad permanente o importante.
- Dé lugar a una anomalía o malformación congénita.

A efectos de su notificación, se tratarán también como graves aquellas sospechas que se consideren importantes desde el punto de vista médico, aunque no cumplan los criterios anteriores, como las que ponen en riesgo al sujeto o requieren una intervención para prevenir alguno de los desenlaces anteriores. Así mismo, a efectos de su notificación, se tratarán como graves todas las sospechas de transmisión de un agente infeccioso a través de un medicamento.

Rangos normales de laboratorio

Los criterios para determinar si un resultado de laboratorio anormal debe considerarse como acontecimiento adverso (AA) son los siguientes:

- El resultado de la prueba se asocia a síntomas acompañantes.
- El resultado de la prueba precisa pruebas diagnósticas adicionales o intervención médica o quirúrgica.
- El resultado de la prueba comporta un cambio del medicamento a estudio aparte de los ajustes estipulados por el protocolo o la retirada del estudio, tratamiento concomitante adicional significativo u otras terapias.
- El investigador o el investigador coordinador consideran el resultado de la prueba como un acontecimiento adverso.

Seguimiento de eventos

Los investigadores del estudio registrarán la evolución hospitalaria de los pacientes incluyendo complicaciones y los tratamientos derivados de las mismas, tanto farmacológicos como no farmacológicos.

Se hará una visita clínica personal a todos los pacientes aleatorizados a los 3 días de su inclusión comprobando todos los objetivos de estudio.

Se realizará un seguimiento personal, telefónico o por correo a los 3 meses, para determinar la situación vital y la ocurrencia de los eventos caracterizados por la OMS como la etapa post-COVID.

Evaluación de eventos

La evaluación de los eventos constituyentes de los objetivos primario y secundarios del estudio se realizará de manera ciega al tratamiento recibido, de acuerdo a las “Normas de Buena Práctica Clínica para Ensayos Clínicos”, por un comité específico de expertos nominado *ad hoc* (Comité de evaluación de eventos) que constará de 5 miembros: un presidente y cuatro miembros: ***un virólogo, un cardiólogo clínico, un inmunólogo, un neumólogo y un patólogo clínico.***

9.b. Indicar criterios de imputabilidad que se van a utilizar

La evaluación de los eventos y su imputación se realizará por el Comité de Evaluación de Eventos basados en las siguientes definiciones. Estas serán revisadas por el Comité una vez formado para optimizar su evaluación:

- Muerte: Muerte del paciente desde la aleatorización hasta los 15 días de cualquier causa. La información se obtendrá de los registros clínicos o de cualquier otra fuente fehaciente.
- Reinfarto (en las primeras 24 horas): Recurrencia de síntomas isquémicos en reposo acompañados de nueva o recurrente elevación del segmento ST $> 0,1$ mV en la menos dos derivaciones contiguas y de duración superior a 30 minutos.

- Reinfarto (a partir de las primeras 24 horas): Aparición de nuevas ondas Q en 2 o más derivaciones o incremento en las cifras de CK, CK MB o troponina por encima del límite superior de la normalidad y por encima de las cifras previstas.
- ACV incapacitante: Desarrollo de sintomatología neurológica focal o multifocal, que a los 15 días del IAM que ocasione inclusión en el estudio, supone una escala modificada de Rankin $\geq$ a 2 puntos. La naturaleza isquémica vs hemorrágica, deberá establecerse mediante pruebas de neuroimagen. En caso contrario, se definirá como de origen indeterminado.
- Insuficiencia cardíaca: Desarrollo a partir de las 24 horas de síntomas o signos compatibles con insuficiencia cardíaca (disnea, ortopnea, 3er ruido, crepitantes húmedos en la auscultación pulmonar asociados a signos de congestión pulmonar en la radiografía de tórax).
- Shock: Desarrollo de hipotensión (Presión arterial sistólica < 90 mmHg sin respuesta a fluidos acompañados por signos clínicos de bajo gasto cardíaco).
- Complicación mecánica: Aparición de datos clínicos de insuficiencia mitral ***severa secundaria a rotura total o parcial del músculo papilar, rotura de septo interventricular o rotura de pared libre confirmada por cualquier método.***
- Hemorragia mayor: Hemorragia cerebral o cualquier hemorragia que precise transfusión o intervención quirúrgica.

9.c. Indicar los procedimientos para la notificación inmediata de los acontecimientos adversos graves o inesperados

Manejo y comunicación de acontecimientos adversos graves reacciones adversas graves

Todas las incidencias de seguridad observadas, o comunicadas por el sujeto, que tengan lugar desde su inclusión y hasta 30 días naturales después de su finalización, se deben registrar en la historia clínica del sujeto y el CRD del estudio independientemente de su causalidad y gravedad.

Como mínimo se deberá recoger la fecha de inicio y fin, una descripción completa incluyendo los resultados de las exploraciones complementarias o pruebas de laboratorio que se consideren de interés, así como su causalidad, gravedad y desenlace. En caso de fallecimiento, deberá rellenarse también el apartado del CRD de “Finalización del sujeto”.

En el CRD siempre se deberá identificar a los sujetos mediante el código de identificación único asignado al sujeto del estudio y no por el nombre del sujeto, número de identificación personal, número de historia clínica o cualquier otra información que permita la identificación personal del sujeto.

La comunicación se hará haciendo uso del “Reporte de notificación de acontecimientos adversos graves” al correo electrónico o número de fax indicado en el mismo. El investigador está obligado a buscar y proporcionar de forma inmediata al promotor toda la información adicional y de seguimiento que se le requiera relacionado con las incidencias de seguridad. Cuando el investigador notifique un fallecimiento deberá facilitar al promotor toda la información complementaria que le soliciten, por ejemplo, el informe de la autopsia y los últimos informes médicos.

El promotor comunicará a las autoridades sólo aquellas reacciones adversas graves (RAG) que hubieran resultado mortales o entrañado riesgo vital para el sujeto, y las reacciones adversas graves que, por no aparecer recogidas en el manual del investigador o ficha técnica del producto en investigación, se consideren inesperadas (RAGI). La comunicación se hará en un plazo máximo de 24 horas desde que tiene conocimiento de la incidencia de seguridad.

Si durante el estudio clínico de la Especialidad Farmacéutica se produjera un evento adverso serio en algún paciente deberá ser reportado ante el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”, empleando el formulario **“Formulario F-RCDM-014: Reporte de Eventos Adversos Serios Nacionales en Estudios Clínicos de Especialidades Farmacéuticas”**.
Versión 1, noviembre 2010.

Número y personas de contacto

Los números de teléfono y correo electrónico de la persona responsable de la ESIC y del médico responsable del estudio, se presentan en la página 2 de este protocolo.

Seguimiento de reacciones adversas

Si los acontecimientos adversos relacionados con la medicación a estudio (RA, RAG y RAGI) o sus secuelas persisten, deberá hacerse un seguimiento después de la finalización del estudio hasta que el evento o sus secuelas se resuelvan o se estabilicen en un nivel aceptable para el investigador y el promotor.

Actualizaciones de seguridad

El promotor llevará a cabo una evaluación continua de la seguridad del medicamento a estudio y notificará rápidamente al investigador cualquier información importante que pudiera afectar negativamente a la seguridad de los sujetos o a la realización del estudio.

10. ASPECTOS ÉTICOS

10.a. Consideraciones generales

Este estudio está científicamente justificado, tal como se describe de forma clara y detallada en el protocolo, y en su diseño se han considerado los riesgos e inconvenientes previsibles en relación con el beneficio esperado, tanto para los sujetos participantes, como para la sociedad en general. El estudio se llevará a cabo de acuerdo con:

- Constitución de la República Bolivariana de Venezuela - Artículo 83.
- Ley del Medicamentos - Artículos 70 al 73.
- Ley del Ejercicio de la Medicina - Artículos 103 al 112.
- Código de Deontología Médica - Artículos 191 al 206.
- Reglamento de Investigación en Farmacología Clínica - Junta Revisora de Productos Farmacéuticos (1998).
- Declaración de Helsinki - última actualización (2008).
- Buenas Prácticas Clínicas - Documento de las Américas - Organización Panamericana de la Salud (2005).
- Lineamientos para la Buena Práctica Clínica - Conferencia Internacional de Armonización (1998).

El investigador accede, con la firma de este protocolo, a seguir las instrucciones y procedimiento descritos en el mismo y por lo tanto cumplirá los principios de Buena Práctica Clínica en los cuales se basa.

Consentimiento informado

El respeto a las personas requiere que los sujetos, en el grado que ellos sean capaces, deben tener la oportunidad de elegir qué ocurrirá o no con ellos. Esta oportunidad se ofrece cuando se adopta un modelo adecuado de consentimiento informado.

El investigador debe explicar a cada paciente (o representante legalmente autorizado) la naturaleza del estudio, sus propósitos, procedimientos, duración prevista y los potenciales riesgos y beneficios relacionados con la participación en el estudio, así como cualquier inconveniente que este le pueda suponer.

Cada uno de los participantes debe ser advertido de que su participación en el estudio es voluntaria y de que puede abandonar el estudio en cualquier momento, sin que esto afecte a su tratamiento médico posterior, ni a su relación con el médico que le trata.

El consentimiento informado será proporcionado mediante un escrito estándar, en lenguaje fácilmente comprensible para el participante. El paciente ha de escribir su nombre y el del médico informante de su puño y letra y, fechar y firmar el consentimiento informado, así como recibir una copia del documento firmado. Deberá disponerse del consentimiento libremente expresado, preferiblemente por escrito (o en su defecto ante testigos) de la persona en la que haya de realizarse el ensayo después de haber sido instruida por el profesional sanitario encargado de la investigación sobre la naturaleza, importancia, alcance y riesgos del ensayo y haber comprendido la información.

Si el sujeto no puede leer o firmar los documentos puede realizarse una presentación oral o puede obtenerse la firma del representante legal autorizado del sujeto, siempre que lo presencie un testigo no involucrado en el estudio y se mencione en el mismo documento y/o historia clínica.

Ningún paciente puede ser incluido en el estudio sin haber otorgado previamente su consentimiento informado.

El consentimiento informado incluye tres elementos:

1. Información veraz del investigador al sujeto.
2. Comprensión del mismo con tiempo suficiente para la toma de decisiones.
3. Voluntariedad en la expresión de su conformidad.

La información al paciente ante testigos se realizará por el investigador en lenguaje inteligible (no técnico) y dará oportunidad para preguntas y discusiones.

Describirá los posibles efectos adversos previsibles y los beneficios que se esperan, tanto para el propio sujeto del ensayo como por generalización a otros; se hará mención de la metodología a utilizar en el ensayo siempre que sea distinta de la habitual.

Así mismo se aclarará que el ensayo es independiente del tratamiento ordinario y que el sujeto del ensayo puede salir voluntariamente del mismo en el momento que lo desee. El consentimiento informado propuesto deberá contener:

1. Descripción/propósito

- a) El ensayo es de carácter experimental.
- b) Explicación del propósito del ensayo.
- c) Duración de la participación.
- d) Descripción de procedimientos.

2. Riesgos

- a) Descripción de riesgos o molestias previsibles.
- b) Posibles reacciones adversas en lenguaje común.
- c) Importancia de las reacciones adversas.

3. Beneficios

- a) Descripción de beneficios para el paciente.
- b) Descripción de beneficios para otros.

4. Tratamiento alternativo

- a) Explicación de tratamientos de carácter alternativo.

5. Confidencialidad

- a) Explicación del grado de confidencialidad que es posible mantener.
- b) Explicación de que las autoridades y el promotor pueden inspeccionar la documentación clínica.

6. Consultas/abandono

- a) Personas a quienes consultar.
- b) Declaración de poder abandonar el ensayo sin efectos negativos sobre la atención médica.
- c) Consecuencias del abandono y procedimiento de terminación correcta del ensayo.
- d) Circunstancias en que la participación en el ensayo puede terminar sin consentimiento del sujeto.

7. Participación voluntaria

- a) Declaración de que la participación es voluntaria.
- b) Negativa a participar.
- c) Copia del formulario entregado al sujeto.

Cualquier cambio en el consentimiento informado propuesto por el investigador deberá ser aprobado por Promotor antes de la presentación al CEIC/CEI, y se entregará una copia de la versión aprobada al monitor de Promotor después de la aprobación del CEIC/CEI.

Comité de bioética

Este comité estará integrado por médicos (uno de los cuales será farmacéuta clínico), farmacéuticos de hospital, personal de enfermería y personas ajenas a las profesiones sanitarias de las cuales al menos uno debe ser jurista.

El Comité tiene que llegar a establecer una valoración clínica y científica de la investigación propuesta, su justificación y validez experimental, competencia del equipo investigador y establecimiento de los riesgos y molestias para el paciente, así como evaluar “a priori” las posibilidades de satisfacer en los plazos establecidos las necesidades de reclutamiento de sujetos del ensayo.

Debe prestarse atención particular a la ética de los ensayos randomizados, perfiles farmacológicos y toxicológicos de los medicamentos, así como a la utilización en el estudio de voluntarios sanos en caso de ser requeridos en la investigación (forma de establecer el grado de salud, reclutamiento, grado de participación, retribución y compensación en caso de daños) o poblaciones especiales (niños, embarazadas, ancianos, enfermos mentales), así como a los aspectos relativos a la información transmitida a los sujetos y la obtención del consentimiento informado.

El comité de bioética deberá interactuar de manera directa con los investigadores principales sobre los resultados preliminares que se recaben en la investigación clínica, y se garantizará el respeto mutuo entre todos los participantes del ensayo clínico sin discriminación ni prejuicios.

El farmacéutico, como miembro del Comité Ético de Investigación Clínica, podrá colaborar por su visión experimental de la investigación junto a una apreciación clínica y un amplio conocimiento de los medicamentos en aspectos tales como química, formulación, farmacología clínica y situación legal del producto.

Sin embargo hay dos aspectos en los que su información puede ser de mayor interés:

- Efectos adversos o riesgos para los sujetos, ya sea porque dispone de información del producto o por sus conocimientos de entidades químicas similares o de las propiedades del grupo terapéutico.
- Arbitrando los estudios randomizados, la utilización de placebo o de fármacos de probada eficacia en situación de igualdad dentro del protocolo.

La presencia del farmacéutico en el Comité Ético de Investigación Clínica facilitará además que el Servicio de Farmacia esté informado de la situación de los ensayos clínicos en el hospital y sus incidencias, sin perjuicio de que reciba notificación oficial de aquellos aspectos que le afectan directamente.

Confidencialidad

Todos los datos de los sujetos participantes están protegidos por la legislación de protección de datos aplicable. Por ello, todos los sujetos serán identificados por un código de sujeto que permita su anonimización a todo el personal ajeno al equipo investigador. Este código de sujeto será registrado en un registro de identificación de sujetos donde se relacione dicho código con la historia clínica del sujeto. El registro de identificación de sujetos será custodiado únicamente por el médico responsable del tratamiento del sujeto, quien deberá proteger la confidencialidad de este registro respetando la privacidad y las normas de confidencialidad de acuerdo con los requisitos legislativos pertinentes.

Los datos originales de los sujetos serán conservados en el centro sanitario y solo tendrán acceso a ellos los investigadores de ese centro para realizar los estudios necesarios para lo que ha sido diseñado, y en su caso las personas encargadas de su monitorización, o en caso de inspección, por parte de las autoridades sanitarias. En todo caso, se deberá garantizar la confidencialidad de los datos de los sujetos y velar en todo momento por el cumplimiento de lo recogido en la legislación aplicable.

En los cuadernos de recogida de datos (CRD) no se recogerán nunca datos de carácter personal ni identificativos de los sujetos incluidos. El investigador informará, tal y como recoge la hoja de información al paciente, que los datos obtenidos en el estudio serán guardados y analizados, y que se seguirán las regulaciones aplicables.

Mediante la firma del protocolo, el investigador se compromete a mantener toda la información proporcionada por el Promotor en estricta confidencialidad y de que insistirá en el mantenimiento de la misma por parte de su equipo y del CEIC/CEI. Los documentos del estudio proporcionados por el Promotor (protocolos, manual del investigador, CRDs y otros materiales) deberán ser guardados convenientemente para asegurar su confidencialidad. La información proporcionada por el Promotor al investigador no podrá ser revelada a terceras partes sin la autorización directa por escrito del primero, excepto en la medida necesaria para obtener el consentimiento informado de los pacientes que quieran participar en este ensayo.

Enmiendas al protocolo

Todos los cambios en el protocolo se especificarán en forma de enmienda de acuerdo a la norma de Buena Práctica Clínica del INH.

Finalización del estudio

El Promotor se reserva el derecho a suspender cualquier estudio bajo las condiciones especificadas en el acuerdo del ensayo clínico.

10.b. Póliza de seguro

El estudio es considerado de bajo nivel de intervención por lo que los daños y perjuicios sobre el sujeto de estudio que pudieran resultar no precisan estar cubiertos por un contrato de seguro o garantía financiera, si los mismos estuvieran cubiertos por el seguro de responsabilidad civil profesional individual o colectivo o garantía financiera equivalente del centro sanitario donde se lleve a cabo el ensayo clínico.

No obstante, en el caso de no estar cubiertos por dicha póliza el promotor (IVIC) se compromete a contratar una póliza de Seguro de Responsabilidad Civil con el fin de cubrir los daños y perjuicios que pueda sufrir un sujeto como consecuencia de su participación en el siguiente ensayo clínico.

11. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS

11.a. Responsabilidades de todos los participantes en el ensayo

Investigador

El investigador deberá cumplir todos los requisitos del protocolo y se responsabilizará de que la información sea exacta y veraz y se haya obtenido de la forma indicada en el protocolo. Especialmente, el investigador deberá velar en todo momento por el mejor cuidado posible del paciente anteponiendo siempre el bienestar y seguridad de sus pacientes.

Monitor

El monitor deberá dar fe de que la información recopilada en el CRD sea veraz, para lo cual deberá contar con toda clase de facilidades por parte del equipo de investigación para desarrollar su labor.

Promotor

El promotor será responsable de velar por el cumplimiento de las normas legales pertinentes.

Procedimientos de monitorización

Antes de iniciar el estudio, en la visita de inicio de cada centro o en una reunión de investigadores, un representante del Promotor revisará el protocolo y los cuadernos de recogida de datos con los investigadores y demás personal implicado en el estudio.

Durante el estudio, el monitor visitará regularmente el centro, para confrontar los datos recogidos en el CRD con los documentos fuente, comprobar la adhesión al protocolo y a la Normas de Buena Práctica Clínica.

El investigador y el personal del ensayo deberán estar disponibles para ayudar al monitor durante estas visitas.

Ningún dato que revele la identidad de los pacientes deberá salir del centro participante.

Auditoría

Además de los procedimientos de monitorización, el estudio podrá ser auditado por las Autoridades Sanitarias (durante el estudio o incluso cuando este haya finalizado), para evaluar el cumplimiento de las normas de Buena Práctica Clínica.

Si una Autoridad Sanitaria solicita una inspección, el investigador deberá informar inmediatamente al Promotor de que se le ha hecho esta petición.

11.b. Registro de los datos y conservación de documentos

El investigador ha de completar los cuadernos de recogida de datos (CRDs) proporcionados por el Promotor y enviar los datos tal como se le haya indicado al principio del estudio.

Deberá guardar en un lugar seguro el archivo del investigador, el cual contiene toda la documentación relevante del estudio.

Los datos de los pacientes recogidos los CRDs durante el ensayo, deberán documentarse de manera anónima y disociada, vinculándose a un código (número de paciente), o a las iniciales del paciente si fuera necesario, de manera que únicamente el investigador podrá asociar tales datos a una persona identificada o identificable.

El investigador guardará los documentos clínicos originales de cada paciente del estudio, que constan de toda la información médica y demográfica incluyendo datos de laboratorio, electrocardiogramas, etc., y una copia del formulario del consentimiento informado firmado, durante 10 años como mínimo tras la finalización o suspensión del estudio.

Mediante la firma del protocolo el investigador accede a seguir los procedimientos de conservación de documentos.

Manejo de la base de datos y control de calidad

El control de la calidad de los resultados del estudio se realizará a través de la monitorización por parte del Ministerio del Poder Popular para la Salud en conjunto con la Misión Médica Cubana, que revisará el 100% de las historias clínicas de los pacientes que sean incluidos en el estudio y comprobará todos los eventos incluidos en los objetivos del estudio.

11.c. Identificación de muestras para investigación clínica y responsables de su suministro y conservación. Etiquetado de las mismas.

El servicio de preparación, embalaje y envío de muestras biológicas para el procesamiento de análisis de sangre será a través de la contratación de un servicio de un Laboratorio externo (*Laboratorio Inmuno XXI y Mayo Medical Laboratories*). En el caso de la toma de muestra del Hisopado Nasofaríngeo para la prueba RT-PCR será responsabilidad del Jefe médico de la sala COVID-19 de cada centro del estudio clínico. Las muestras del hisopado nasofaríngeo serán analizadas por el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” en la ciudad de Caracas.

11.d. Condiciones de publicación Propiedad y Política de Publicación

Los resultados del estudio serán propiedad de la República Bolivariana de Venezuela quienes establecerán a través de un comité científico la política de publicación.

12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

a. Especificar las pruebas estadísticas que se prevé utilizar en el análisis de los resultados, especialmente en lo que a la variable de valoración principal se refiere

Se ha programado la realización de un análisis estadístico final a la finalización del estudio.

Todas las pruebas estadísticas que se usarán para el análisis de los datos recogidos en base a los objetivos planteados del estudio quedarán descritas en el plan de análisis estadístico. Este plan de análisis estadístico será de obligado cumplimiento para el responsable del análisis estadístico. Todas las desviaciones del plan estadístico original quedarán descritas y justificadas en el informe final de resultados.

La calidad de los datos **relevantes será verificada** directamente en la historia clínica por monitores de una organización independiente especializada en investigación clínica.

El análisis estadístico se realizará de acuerdo con el principio de “superioridad”, el cual permitirá detectar una diferencia entre el fármaco y placebo después de la administración paralela.

Se realizará un análisis descriptivo de todas las variables recogidas (variables relacionadas con la eficacia y seguridad y todas las variables que puedan considerarse relacionadas con las anteriores). Este análisis descriptivo se realizará para ambos grupos de tratamiento. Las variables categóricas se expresarán en porcentajes y el número de observaciones. Las variables continuas se expresarán como media **y desviación estándar o mediana y percentiles 25 y 75, mínimo y máximo**. Las variables que se desarrollan en el tiempo serán presentadas también mediante curvas de *Kaplan-Meier*.

Las variables se compararán entre los grupos según la inclusión original del paciente (intención de tratar). Se calcularán y presentarán riesgos relativos del efecto estimado y sus intervalos de confianza al 95%.

Para la comparación de las variables categóricas se empleará el test de la Chi-cuadrado o el test de Fisher cuando sea necesario. Para la comparación de las variables continuas se utilizará el test de la “t” de Student. Para las variables que se desarrollan en el tiempo se realizarán curvas de supervivencia con el método de Kaplan-Meier que se compararán con el test “log-rank”. Se calcularán los “hazard ratio” con su intervalo de confianza al 95%. Para identificar variables relacionadas con los diferentes “endpoint” se utilizarán los análisis multivariado lineal, logístico o proporcional de Cox. Todos los análisis se realizarán con contraste de hipótesis de 2 colas y un nivel de significación del 5%.

Poblaciones de análisis

- Se contemplan las siguientes poblaciones de análisis:
- **Población total:** todos los sujetos seleccionados sean finalmente incluidos o no en el estudio.
- **Población de seguridad:** todos los sujetos incluidos que hayan recibido al menos una vez una de las intervenciones a estudio.
- **Población por intención de tratar:** todos los sujetos incluidos, aunque no terminen el estudio.
- **Población por protocolo:** todos los sujetos que reúnan las siguientes características:
 - Que hayan recibido al menos el 80% de las dosis de tratamiento.
 - Que se disponga al menos de una valoración posterior a su entrada en el estudio de la variable principal.
 - Que cumplan todos los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión.
 - Que no se le haya administrado ninguna mediación prohibida.
 - Que no hayan abandonado el estudio por pérdida de seguimiento durante el periodo de tratamiento.
 - Que no hayan incurrido en ninguna desviación al protocolo que suponga su inclusión en el análisis.

Descripción de las características basales

Las características basales de todos los grupos de tratamientos se presentarán de forma descriptiva en ambas poblaciones de análisis.

Evaluación del objetivo primario

La eficacia clínica se evaluará en la visita fin de estudio analizando la evolución clínica de los sujetos en ambas poblaciones de análisis.

El criterio de valoración primario de eficacia será la evolución clínica del sujeto desde la visita basal hasta la visita fin de estudio. La tasa de incidencia de cada grupo de tratamiento se definirá en la visita fin de estudio como el número de infecciones dividido por el número de sujetos evaluables en esa visita. Para evaluar la no inferioridad, se calculará un intervalo de confianza bilateral del 95% para la diferencia en la tasa de curación en la visita entre grupos de tratamientos, sobre la base de una aproximación normal o distribución binomial. Para establecer la no inferioridad de un grupo de tratamiento, el límite inferior del intervalo de confianza no debe ser inferior a -0,10. Para evaluar la superioridad, se comparará la distribución de la curación clínica entre grupos de tratamientos en base a una prueba de Chi-cuadrado para homogeneidad de proporciones. El nivel de significación estadística es de $<0,05$. No se realizarán ajustes del nivel de significación nominal para comparaciones múltiples.

Se realizará también un análisis de subgrupos por cada uno de los grupos de riesgo definidos.

Evaluación de los objetivos secundarios

Otros análisis de eficacia incluirán la comparación entre grupos de tratamientos de la distribución de signos y síntomas clínicos o tasas de supervivencia.

Para evaluar el efecto del tratamiento se usarán los procedimientos estadísticos adecuados.

Los datos de seguridad estarán sujetos a revisión clínica y se presentarán mediante los estadísticos descriptivos adecuados de acuerdo a lo recogido en el plan de análisis estadístico aplicable en el momento de la recogida y análisis de los datos.

b. Indicar si está prevista la realización de análisis intermedios, especificando cuáles serían los criterios que determinarían la finalización del ensayo

No está prevista la realización de análisis intermedios salvo los indicados por el Comité de Seguridad con el objetivo de salvaguardar la salud de los pacientes incluidos en el estudio

c. Indicar dónde se realizará dicho análisis

El análisis estadístico lo realizará un grupo designado por el Comité de Dirección del estudio que incluirá al menos un especialista en bioestadística y metodología de la investigación independiente.

13. DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS

El promotor del estudio se compromete de forma expresa a publicar toda la información y datos obtenidos tras la finalización del estudio independientemente de su resultado.

Al finalizar el estudio, el investigador, cuando proceda, informará al centro y enviará al comité ético un resumen de los resultados del estudio y a la autoridad reguladora los informes que ésta solicite. Tanto si se completa el estudio como si se finaliza prematuramente, el promotor deberá asegurarse de que los informes del estudio se preparan y se facilitan a las agencias reguladora tal y como especifican los requisitos legales pertinentes.

La publicación de los resultados del estudio seguirá las siguientes normas:

- a. El investigador coordinador aparecerá en el puesto primero en la lista de autores de todas las publicaciones derivadas del estudio.
- b. Los investigadores principales aparecerán en la lista de autores de las publicaciones si incluyen el número de sujetos asignado. No se permitirá la inclusión de investigadores colaboradores.
- c. El orden de aparición de los investigadores principales será en función de número de sujetos incluidos. En caso de igualdad en el número de sujetos incluidos, el orden será asignado en función del tiempo requerido para incluir todos los sujetos.
- d. Si algún investigador principal participante quiere liderar un subestudio desgajado del análisis parcial del estudio principal (ej. validación de un cuestionario de CV) deberá solicitarlo al promotor para su aprobación. Si se autoriza el estudio, podrá figurar primero en esa publicación. El investigador colaborador aparecerá como último autor en la publicación.
- e. Si en alguna revista estuviera limitado el número de autores, se generará un anexo con la relación de todos los investigadores principales participantes según las normas anteriores.

14. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Ksiazek, T. G.; Erdman, D.; Goldsmith, C. S.; Zaki, S. R.; Peret, T.; Emery, S.; Tong, S.; Urbani, C.; Comer, J. A.; Lim, W.; Rollin, P. E.; Dowell, S. F.; Ling, A. E.; Humphrey, C. D.; Shieh, W. J.; Guarner, J.; Paddock, C. D.; Rota, P.; Fields, B.; DeRisi, J.; Yang, J. Y.; Cox, N.; Hughes, J. M.; LeDuc, J. W.; Bellini, W. J.; Anderson, L. J. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2003, 348, 1953-1966.
- (2) Kuiken, T.; Fouchier, R. A.; Schutten, M.; Rimmelzwaan, G. F.; van Amerongen, G.; van Riel, D.; Laman, J. D.; de Jong, T.; van Doornum, G.; Lim, W.; Ling, A. E.; Chan, P. K.; Tam, J. S.; Zambon, M. C.; Gopal, R.; Drosten, C.; van der Werf, S.; Escriou, N.; Manuguerra, J. C.; Stohr, K.; Peiris, J. S.; Osterhaus, A. D. Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003, 362, 263-270.
- (3) Drosten, C.; Gunther, S.; Preiser, W.; van der Werf, S.; Brodt, H. R.; Becker, S.; Rabenau, H.; Panning, M.; Kolesnikova, L.; Fouchier, R. A.; Berger, A.; Burguiere, A. M.; Cinatl, J.; Eickmann, M.; Escriou, N.; Grywna, K.; Kramme, S.; Manuguerra, J. C.; Muller, S.; Rickerts, V.; Sturmer, M.; Vieth, S.; Klenk, H. D.; Osterhaus, A. D.; Schmitz, H.; Doerr, H. W. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2003, 348, 1967- 1976.
- (4) Peiris, J. S.; Yuen, K. Y.; Osterhaus, A. D.; Stohr, K. The severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2003, 349, 2431-2441.
- (5) So, L. K.; Lau, A. C.; Yam, L. Y.; Cheung, T. M.; Poon, E.; Yung, R. W.; Yuen, K. Y. Development of a standard treatment protocol for severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003, 361, 1615- 1617.
- (6) Cinatl, J.; Morgenstern, B.; Bauer, G.; Chandra, P.; Rabenau, H.; Doerr, H. W. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. *Lancet* 2003, 361, 2045-2046.

(7) Stroher, U.; DiCaro, A.; Li, Y.; Strong, J. E.; Aoki, F.; Plummer, F.; Jones, S. M.; Feldmann, H. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus is inhibited by interferon- alpha. *J. Infect. Dis.* 2004, 189, 1164-1167.

(8) Chan, K. S.; Lai, S. T.; Chu, C. M.; Tsui, E.; Tam, C. Y.; Wong, M. M.; Tse, M. W.; Que, T. L.; Peiris, J. S.; Sung, J.; Wong, V. C.; Yuen, K. Y. Treatment of severe acute respiratory syndrome with lopinavir/ritonavir: a multicentre retrospective matched cohort study. *Hong Kong Med. J.* 2003, 9, 399-406.

(9) Chu, C. M.; Poon, L. L.; Cheng, V. C.; Chan, K. S.; Hung, I. F.; Wong, M. M.; Chan, K. H.; Leung, W. S.; Tang, B. S.; Chan, V. L.; Ng, W. L.; Sim, T. C.; Ng, P. W.; Law, K. I.; Tse, D. M.; Peiris, J. S.; Yuen, K. Y. Initial viral load and the outcomes of SARS. *Can. Med. Assoc. J.* 2004, 171, 1349-1252.

(10) Wu, C. Y.; Jan, J. T.; Ma, S. H.; Kuo, C. J.; Juan, H. F.; Cheng, Y. S.; Hsu, H. H.; Huang, H. C.; Wu, D.; Brik, A.; Liang, F. S.; Liu, R. S.; Fang, J. M.; Chen, S. T.; Liang, P. H.; Wong, C. H. Small molecules targeting severe acute respiratory syndrome human coronavirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2004, 101, 10012-10017.

(11) Aanouz I., Belhassan A., El Khatabi K., Lakhlifi T., El Idrissi M., & Bouachrine M. (2020). Moroccan medicinal plants as inhibitors of COVID-19: Computational investigations. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 10.1080/07391102.2020.1758790 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

(12) Abdelli I., Hassani F., Brikci S. B. & Ghalem S. (2020). In silico study the inhibition of Angiotensin converting enzyme 2 receptor of COVID-19 by *Ammoidesverticillata* components harvested from western Algeria. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 10.1080/07391102.2020.1763199 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

(13) Adem S., Eyupoglu V., Sarfraz I., Rasul A., & Ali M. (2020). Identification of potent COVID–19 main protease (Mpro)

inhibitors from natural polyphenols: An in silico strategy unveils a hope against CORONA. Preprints. 10.20944/preprints202003.0333.v1 [CrossRef] [Google Scholar]

(14) Aldeghi M., Bodkin M. J., Knapp S., & Biggin P. C. (2017). Statistical analysis on the performance of molecular mechanics poissonboltzmann surface area versus absolute binding free energy calculations: Bromodomains as a case study. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(9), 2203–2221. 10.1021/acs.jcim.7b00347 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

(15) Anand K., Ziebuhr J., Wadhwani P., Mesters J. R., & Hilgenfeld R. (2003). Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: Basis for design of anti-SARS drugs. *Science (New York, N.Y.)*, 300(5626), 1763–1767. 10.1126/science.1085658 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

(16) Anand K., Yang H., Bartlam M., Rao Z., & Hilgenfeld R. (2005). Coronavirus main proteinase: Target for antiviral drug therapy In Schmidt A., Weber O., & Wolff M. H. (Eds.), *Coronaviruses with special emphasis on first insights concerning SARS* (pp. 173–199). Birkhäuser Basel; 10.1007/3-7643-7339-3_9. [CrossRef] [Google Scholar]

(17) Benson N. C., & Daggett V. (2012). A comparison of multiscale methods for the analysis of molecular dynamics simulations. *The Journal of Physical Chemistry. B*, 116(29), 8722–8731. 10.1021/jp302103t [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

(18) Berendsen H. J. C., van der Spoel D., & van Drunen R. (1995). GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. *Computer Physics Communications*, 91(1–3), 43–56. 10.1016/0010-4655(95)00042-E [CrossRef] [Google Scholar]

(19) Berman H. M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T. N., Weissig H., Shindyalov I. N., & Bourne P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235–242.

10.1093/nar/28.1.235 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

(20) Bhatraju P. K., Ghassemieh B. J., Nichols M., Kim R., Jerome K. R., Nalla A. K., Greninger A. L., Pipavath S., Wurfel M. M., Evans L., Kritek P. A., West T. E., Luks A., Gerbino A., Dale C. R., Goldman J. D., O'Mahony S., & Mikacenic C. (2020). Covid-19 in critically ill patients in the Seattle Region—Case Series. *The New England Journal of Medicine*, 382(21), 2012–2022. 10.1056/NEJMoa2004500 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

(21) S. Garg, L. Kim, M. Whitaker, A. O'Halloran, C. Cummings, R. Holstein, M. Prill, S. J. Chai, P. D. Kirley, N. B. Alden, B. Kawasaki, K. Yousey-Hindes, L. Niccolai, E. J. Anderson, K. P. Openo, A. Weigel, M. L. Monroe, P. Ryan, J. Henderson, S. Kim, K. Como-Sabetti, R. Lynfield, D. Sosin, S. Torres, A. Muse, N. M. Bennett, L. Billing, M. Sutton, N. West, W. Schaffner, H. K. Talbot, C. Aquino, A. George, A. Budd, L. Brammer, G. Langley, A. J. Hall, A. Fry, Hospitalization rates and characteristics of patients hospitalized with laboratory-confirmed coronavirus disease 2019 - COVID-NET, 14 States, March 1-30, 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 69, 458–464 (2020).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(22) C. Owen, N. L. Berinstein, A. Christofides, L. H. Sehn, Review of Bruton tyrosine kinase inhibitors for the treatment of relapsed or refractory mantle cell lymphoma. *Curr. Oncol.* 26, e233–e240 (2019).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(23) C. B. Crayne, S. Albeituni, K. E. Nichols, R. Q. Cron, The immunology of macrophage activation syndrome. *Front. Immunol.* 10, 119 (2019).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(24) S. Volmering, H. Block, M. Boras, C. A. Lowell, A. Zarbock, The neutrophil Btk signalosome regulates integrin activation during sterile inflammation. *Immunity* 44, 73–87 (2016).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(25) J. M. Pasquet, L. Quek, C. Stevens, R. Bobe, M. Huber, V. Duronio, G. Krystal, S. P. Watson, Phosphatidylinositol 3,4,5- trisphosphate regulates Ca^{2+} entry via btk in platelets and megakaryocytes without increasing phospholipase C activity. *EMBO J.* 19, 2793–2802 (2000).Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar.

(26) P. L. R. Nicolson, S. H. Nock, J. Hinds, L. Garcia-Quintanilla, C. W. Smith, J. Campos, A. Brill, J. A. Pike, A. O. Khan, N. S. Poulter, D. M. Kavanagh, S. Watson, C. N. Watson, H. Clifford, A. P. Huissoon, A. Y. Pollitt, J. A. Eble, G. Pratt, S. P. Watson, C. E. Hughes, Low dose Btk inhibitors selectively block platelet activation by CLEC-2. *Haematologica* 10.3324/haematol.2019.218545 (2020). GoogleScholar.

(27) G. Grasselli, A. Zangrillo, A. Zanella, M. Antonelli, L. Cabrini, A. Castelli, D. Cereda, A. Coluccello, G. Foti, R. Fumagalli, G. Iotti, N. Latronico, L. Lorini, S. Merler, G. Natalini, A. Piatti, M. V. Ranieri, A. M. Scandroglio, E. Storti, M. Cecconi, A. Pesenti; COVID- Lombardy ICU Network, A. Nailescu, A. Corona, A. Zangrillo, A. Protti, A. Albertin, A. F. Molinari, A. Lombardo, A. Pezzi, A. Benini, A. M. Scandroglio, A. Malara, A. Castelli, A. Coluccello, A. Micucci, A. Pesenti, A. Sala, A. Alborghetti, B. Antonini, C. Capra, C. Troiano, C. Roscitano, D. Radrizzani, D. Chiumello, D. Coppini, D. Guzzon, E. Costantini, E. Malpetti, E. Zoia, E. Catena, E. Agosteo, E. Barbara, E. Beretta, E. Boselli, E. Storti, F. Harizay, F. D. Mura, F. L. Lorini, F. D. Sigurtà, F. Marino, F. Mojoli, F. Rasulo, G. Grasselli, G. Casella, G. De Filippi, G. Castelli, G. Aldegheri, G. Gallioli, G. Lotti, G. Albano, G. Landoni, G. Marino, G. Vitale, G. B. Perego, G. Evasi, G. Citerio, G. Foti, G. Natalini, G. Merli, I. Sforzini, L. Bianciardi, L. Carnevale, L. Grazioli, L. Cabrini, L. Guatteri, L. Salvi, M. D. Poli, M. Galletti, M. Gemma, M. Ranucci, M. Riccio, M. Borelli, M. Zambon, M. Subert, M. Cecconi, M.

G. Mazzone, M. Raimondi, M. Panigada, M. Belliato, N. Bronzini, N. Latronico, N. Petrucci, N. Belgioirno, P. Tagliabue, P. Cortellazzi, P. Gnesin, P. Grosso, P. Gritti, P. Perazzo, P. Severgnini, P. Ruggeri, P. Sebastiano, R. D. Covello, R. Fernandez-Olmos, R. Fumagalli, R. Keim, R. Rona, R. Valsecchi, S. Cattaneo, S. Colombo, S. Cirri, S. Bonazzi, S. Greco, S. Muttini, T. Langer, V. Alaimo, U. Viola, Baseline characteristics and outcomes of 1591 patients infected with SARS-

CoV-2 admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA* 323, 1574–1581 (2020).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(28) H. Guo, J. B. Callaway, J. P.-Y. Ting, Inflammasomes: Mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat. Med.* 21, 677–687 (2015).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(29) T. Strowig, J. Henao-Mejia, E. Elinav, R. Flavell, Inflammasomes in health and disease. *Nature* 481, 278–286 (2012).CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar.

(30) M. G. Netea, J. Domínguez-Andrés, L. B. Barreiro, T. Chavakis, M. Divangahi, E. Fuchs, L. A. B. Joosten, J. W. M. van der Meer, M. M. Mhlanga, W. J. M. Mulder, N. P. Riksen, A. Schlitzer, J. L. Schultze, C. Stabell Benn, J. C. Sun, R. J. Xavier, E. Latz, Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 20, 375–388 (2020).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(31) E. Joyce, A. Fabre, N. Mahon, Hydroxychloroquine cardiotoxicity presenting as a rapidly evolving biventricular cardiomyopathy: Key diagnostic features and literature review. *Eur. Heart J. Acute Cardiovasc. Care* 2, 77–83 (2013).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(32) C. Spada, R. Gandhi, S. R. Patel, P. Nuccio, G. L. Weinhouse, P.-S. Lee, Oxygen saturation/fraction of inspired oxygen ratio is a simple predictor of noninvasive positive pressure ventilation failure in critically ill patients. *J. Crit. Care* 26, 510–516 (2011).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(33) D. Bates, M. Mächler, B. Bolker, S. Walker, Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* 67, 10.18637/jss.v067.i01, (2015).Google Scholar.

(34) L. Sun, S. Liu, Z. J. Chen, SnapShot: Pathways of antiviral innate immunity. *Cell* 140, 436–436.e2 (2010).CrossRefPubMedGoogle Scholar

(35) M. K. Atianand, V. A. Rathinam, K. A. Fitzgerald, SnapShot: Inflammasomes. Cell 153, 272–272.e1 (2013).CrossRefPubMedGoogle Scholar.

(36) Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. Autorización de Protocolos Clínicos. Ministerio del Poder Popular para la Salud. “Formulario F-RCDM-011: Solicitud de Autorización de Protocolos Clínicos para Especialidades Farmacéuticas”. Versión 1, noviembre 2010. http://www.inhrr.gob.ve/protocolos_clinicos_ef.php

(37) Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. Autorización de Protocolos Clínicos. Ministerio del Poder Popular para la Salud. “Formulario F-RCDM-014: Reporte de Eventos Adversos Serios Nacionales en Estudios Clínicos de Especialidades Farmacéuticas”. Versión 1, noviembre 2010. http://www.inhrr.gob.ve/protocolos_clinicos_ef.php

(38) World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. Disponible en: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>

(39) Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación. Ministeriode Sanidad. Actualización nº 60. Enfermedad por el coronavirus(COVID-19). 30/03/2020. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/Actualizacion_60_COVID-19.pdf

(40) S. Zhao, Q. Lin, J. Ran, S.S. Musa, G. Yang, W. Wang, et al. Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: a data-driven analysis in the early phase of the outbreak. Int J Infect Dis, 92 (2020), pp. 214-217

(41) Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z et al Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan,

China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar 11. pii: S0140-6736(20)30566-3.

(42) Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2020 Feb 17;41(2):145-151. doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.02.003. [Epub ahead of print]

(43) Liu W, Tao ZW, Lei W, Ming-Li Y, Kui L, Ling Z, et al. Analysis of factors associated with disease outcomes in hospitalized patients with 2019 novel coronavirus disease. *Chin Med J (Engl)*. 2020 Feb 28. doi: 10.1097/CM9.0000000000000775. [Epub ahead of print]

(44) Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020 Feb 28. doi: 10.1056/NEJMoa2002032. [Epub ahead of print]

(45) Chen F, Chan K.H, Jiang Y., Kao R.Y.T, Lu H.T., Fan K.W. In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds *Journal of Clinical Virology* 31 (2004) 69–75.

(46) Chung-Yi , Jia-Tsong J, Shiou-Hwa M, Chih-Jung K, Hsueh-Fen J, Yih-Shyun E. C et al Small molecules targeting severe acute respiratory syndrome human coronavirus *PNAS* July 6, 2004 101 (27) 10012-10017

(47) Ministerio de sanidad. Documento técnico. Manejo clínico del COVID-19: tratamiento médico. Versión 19 de marzo de 2020.

(48) Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res*. 2020 Mar;30(3):269-271.

(49) White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolu OA, Dondorp AM. Malaria. *Lancet* 2014; 383:723–35.

(50) Cortegiani A, Ingoglia G, Ippolito M, Giarratano A, Einav S. A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19. J Crit Care. 2020 Mar 10. pii: S0883-9441(20)30390-7

(51) Gautret et al. (2020) Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. International Journal of Antimicrobial Agents – In Press 17 March 2020 – DOI : 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949

(52) Vincent M.J. Bergeron E, Benjannet S, Erickson BR, Rollin PE, Ksiazek TG. Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread Virol J 2, 69 2005.

(53) Ministerio de Sanidad. Documento técnico. Manejo de urgencias del COVID-19. Versión de 17 de marzo de 2020. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCovChina/documentos/Manejo_urgencias_pacientes_con_COVID-19.pdf

(54) Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ministerio de Sanidad. Medidas excepcionales aplicables a los ensayos clínicos para gestionar los problemas derivados de la emergencia por COVID-19. 16/03/2020. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/informa/notasinformativas/medicamentosusohumano-3/2020-medicamentosusohumano-3/medidas-excepcionales-aplicables-a-los-ensayos-clinicos-para-gestionar-los-problemas-derivados-de-la-emergencia-por-covid-19/>

Tabla 6. Características de los pacientes sintomáticos en etapa I, II y III (n=600).

	Isotimol (n=300)	Placebo(n=300)
Masculinos / Femeninos		
Edad (media)		
Días con síntomas		
Días de tratamiento		
Número de pacientes que requieren intubación después del tratamiento		
Pacientes extubados		
	CONDICIONES	
Hipertensión		
Diabetes mellitis		
Obesidad mórbida		
Apnea		
Asma		
Artritis reumatoide		
Leucemia		
Cáncer de próstata		
Cardiopatía		
Parkinson		
Fallo renal		
Fiebre		
Dolor de cabeza		
Disnea		
Diarrea		
Vómito		
Dolor abdominal		
Pérdida de olfato (anosmia y/o hiposmia)		
Recuento absoluto de leucocitos(Cells/ μ L)		
<1000		
>1000		
Proteína C reactiva (mg/dl)		
≥ 10		
Entre 3 y 10		
<3		
Ferritina (ng/ml)		
≥ 500		
<500		
Fibrinógeno		
≥ 400		
<400		
Dímero D		
$\geq 0,5$		

Tabla 7. Condición clínica de los pacientes COVID-19 de acuerdo a la escala ordinal en el modelo estadístico (1-8).

Condición clínica de los pacientes de acuerdo a la escala ordinal en el modelo estadístico (1-8)	Total (n)	Isotomol (n)	Placeto (n)
4. Hospitalizados, que no requieren oxígeno suplementario			
5. Hospitalizado, que requiera oxígeno suplementario			
6. Hospitalizados, que requieren ventilación no invasiva o el uso de dispositivos de oxígeno de alto flujo			
7. Hospitalizado, recibiendo ventilación mecánica invasiva u oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO)			
8. Muerte			

Tabla 8. Características de la TC en los pacientes con COVID-19 tratados.

Característica de la TC	%
Opacidad en vidrio esmerilado (OVE)	
Consolidación	
OVE + consolidación	
Sin OVE ni consolidación	
Engrosamiento de la pared bronquial	

Tabla 9. Características tomográficas de las opacidades pulmonares en pacientes con COVID-19 tratados.

Características tomográficas de las opacidades pulmonares	%
Redondeadas	
Lineales	
Adoquín desordenado	
Distribución periférica	
Sin distribución axial en el pulmón	

INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Versión 1

Fecha:

Título del estudio

Estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego con placebo para comprobar la eficacia, seguridad y tolerabilidad del compuesto Isotimol modificado contra el agente SARS-CoV-2 en pacientes COVID-19.

Investigadores Principales

Nombre de los investigadores principales

Miembros Comité Bioética:

Pertenecen al grupo de especialistas de carácter institucional, interdisciplinario, plural y de carácter consultivo, creado para evaluar y dictaminar protocolos de investigación en seres humanos.

Entidad donde se desarrolla la investigación o patrocinador

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

Naturaleza y Objetivo del estudio

Explicación de forma sencilla y en lenguaje entendible para las personas que son invitadas a participar en un estudio de investigación de la naturaleza del estudio de investigación.

Propósito

Este consentimiento tiene el propósito de solicitar su autorización para participar en este estudio que pretende conocer la eficiencia del antiviral Carvativir® contra la enfermedad COVID-19.

Procedimiento

Explicar todos los procedimientos que se realizarán durante su participación en el estudio.

Ejemplo:

Si usted acepta participar se le solicitará responder a una encuesta y/o permitir la toma de muestras de sangre que se utilizarán únicamente

para este estudio y/o permitir se le tomen signos vitales y/o permitir grabar sus respuestas, se le solicitará acudir nuevamente al lugar de investigación o ser contactado por el investigador una o dos veces. Además, le pedimos permiso para tener acceso a revisar su historia clínica de donde obtendremos información relevante para este proyecto enfatizando.

Riesgos asociados a su participación en el estudio

Explicar los riesgos reales y potenciales causados por su participación en el estudio. Identificar el riesgo de la investigación de acuerdo a:

- Constitución de la República Bolivariana de Venezuela - Artículo 83.
- Ley del Medicamentos - Artículos 70 al 73.
- Ley del Ejercicio de la Medicina - Artículos 103 al 112.
- Código de Deontología Médica - Artículos 191 al 206.
- Reglamento de Investigación en Farmacología Clínica - Junta Revisora de Productos Farmacéuticos (1998).
- Declaración de Helsinki - última actualización (2008).
- Buenas Prácticas Clínicas - Documento de las Américas - Organización Panamericana de la Salud (2005).
- Lineamientos para la Buena Práctica Clínica - Conferencia Internacional de Armonización (1998).

Ejemplo: Participar en estudio tiene para usted un riesgo mínimo ya que usted responderá 15 preguntas de una encuesta que no toca aspectos sensitivos de su conducta, o se le tomaran muestras de sangre (cantidad) una o dos veces.

Beneficios de su participación en el estudio

Explicar los beneficios si los hay o no, de participar en el estudio.

Ejemplo:

Participar en el estudio no genera un beneficio directo para usted, pero los resultados obtenidos del estudio podrán generar beneficio futuro para muchas personas.

Voluntariedad

Explicar que las personas involucradas o invitadas a participar lo hacen de forma voluntaria libre de coacción, pueden retirarse del estudio y revocar el consentimiento sin que esto genere perjuicio o rechazo por parte del investigador.

Ejemplo:

Su participación es voluntaria. Si usted decide no participar ó retirarse del estudio en cualquier momento, aun cuando haya iniciado su participación del estudio puede hacerlo sin que esto ocasione una sanción o castigo para usted.

Confidencialidad

Explicar que la información del participante será manejada confidencialmente, no se divulgaran los datos personales y el investigador se hace responsable de la custodia de los mismos.

Ejemplo:

Si usted decide participar, garantizamos que toda la información suministrada será manejada con absoluta confidencialidad, sus datos personales no serán publicados ni revelados, el investigador principal se hace responsable de la custodia y privacidad de los mismos.

Compartir los resultados

Describir que los resultados de la investigación se compartirán en tiempos adecuados en publicaciones, revistas, conferencias, etc., pero la información personal permanecerá confidencial.

Conflicto de interés del investigador

Explicar que el investigador no tiene conflicto de interés con los participantes ni con los patrocinadores (en caso de participación de estudiantes estos no deben ser subordinados del investigador principal).

Contactos:

Identificar el nombre completo del investigador principal, sub-investigadores, dirección, teléfonos y correo electrónico. Identificar el comité de ética que avala el proyecto de investigación, el representante, dirección y teléfono.

He entendido la información que se expone en este consentimiento y me han respondido las dudas e inquietudes surgidas.

Autorización

Estoy de acuerdo o acepto participar en el presente estudio.

Para constancia, firmo a los ____ días del mes de _____ del año

Firma y Cedula del participante

Declaración del investigador

Yo certifico que le he explicado a esta persona la naturaleza y el objetivo de la investigación, y que esta persona entiende en qué consiste su participación, los posibles riesgos y beneficios implicados. Todas las preguntas que esta persona ha hecho le han sido contestadas en forma adecuada. Así mismo, he leído y explicado adecuadamente las partes del consentimiento informado. Hago constar con mi firma.

Nombre _____ del
investigador _____

Firma _____

Fecha (dd/mm/aaaa) _____