

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 408**

51 Int. Cl.:

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2002 E 02766045 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **26.05.2004 EP 1420828**

54 Título: **Composiciones de fármaco lipófilas**

30 Prioridad:

23.08.2001 US 314092 P
29.04.2002 US 134329

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.02.2013

73 Titular/es:

SUNG, MICHAEL T. (100.0%)
1604 RESTON COURT
RALEIGH, NC 27614, US

72 Inventor/es:

SUNG, MICHAEL T.

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 395 408 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones de fármaco lipófilas

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a composiciones de fármaco lipófilas que comprenden agentes biológicamente activos en asociación con componentes lipídicos, a los métodos de fabricación de tales composiciones y a los métodos de uso de tales composiciones en la administración de fármacos.

10

Antecedentes de la invención

El intestino delgado es el sitio primario de absorción de fármacos administrados por vía oral. El elemento más importante en el intestino delgado que controla la absorción es la membrana del borde en cepillo. Consiste en una bicapa de fosfolípidos en la que se incorporan polisacáridos y proteínas. Esta membrana crea barreras a la absorción de muchos fármacos polares. Un enfoque de éxito en la industria farmacéutica ha sido sintetizar profármacos con permeabilidad creciente a la membrana por esterificación de las funcionalidades de las cargas. Por ejemplo, el profármaco de 6-azauridina para el tratamiento de la psoriasis y la enfermedad neoplásica se acetila para formar 2',3',5'-triacetil-6-azauridina con el fin de potenciar la biodisponibilidad (Bloch, A., "The Design of Biologically Active Nucleoside", Drug Design, vol. IV, capítulo 8, Ariens, EJ (Ed.), Academic Press, Nueva York, 1973) (véanse también, Sinkula, AA, "Application of the Prodrug Approach to Antibiotics", Pro-drug as Novel Drug Delivery Systems, págs. 116-153, Higuchi, T. y Stella, V. (Eds.), ACS Symposium Series 14, American Cancer Society, Washington DC, 1975; Yalkowski, SH y Morozowich, W., Drug Design, Vol. 9, pág. 121, Ariens, EJ (Ed.), Academic Press, Nueva York, 1980).

25

La farmacocinética mide el destino de los fármacos en el momento de la ingestión hasta su eliminación del organismo. La biodisponibilidad de un fármaco después de una dosificación oral se determina por su farmacocinética. Por lo menos tres factores determinan la eficacia de un fármaco: 1) el grado de absorción del fármaco a través del tracto GI; 2) la facilidad con la que es inactivado por los mecanismos de biotransformación del hígado y 3) la tasa de eliminación del organismo. La industria farmacéutica se centra normalmente en la fórmula farmacéutica para aumentar la eficacia del fármaco aumentando la absorción del fármaco. Por lo tanto, en los últimos años, ha habido una explosión de la tecnología de encapsulación de fármacos. La premisa básica de la encapsulación de fármacos es mejorar la administración de los fármacos, disminuir la toxicidad y mejorar la eficacia.

30

El uso de la tecnología de liposomas como sistema de administración de fármacos ha sido un área de investigación especialmente activa. Estas vesículas lipídicas son generalmente lípidos neutros o zwitteriónicos dispuestos en bicapas que inmovilizan un espacio (unilaminar) o más espacios (multilaminar). En los liposomas convencionales, con frecuencia resulta difícil inmovilizar una alta concentración de un fármaco. Además, durante el almacenamiento a largo plazo, un fármaco inmovilizado dentro de liposomas puede tener fugas. El costo de los fosfolípidos de calidad farmacéutica utilizados en liposomas es también prohibitivo. Por lo tanto, resulta preferente su uso en formulaciones inyectables más que en la formulación oral (véase M. Ostro, "Liposomes", Marcel Dekker, Nueva York, 1983).

40

En el documento EE.UU. 6.080.725 se describen vacunas que comprenden uno o más antígenos bacterianos, virales, o asociados a tumores y uno o más conjugados de saponina-lipófilo.

45

Sigue existiendo en la técnica la necesidad de métodos rentables para mejorar la eficacia y la biodisponibilidad del fármaco y para disminuir la toxicidad del fármaco.

Sumario de la invención

50

La presente invención proporciona una composición lipófila biológicamente activa, especialmente una composición sólida adaptada para su administración oral. La composición lipófila de la invención presenta una biodisponibilidad mejorada y una toxicidad reducida en comparación con los compuestos de fármaco precursor no lipófilos. La composición lipófila biológicamente activa de la invención comprende un agente biológicamente activo, que es un 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido, unido covalentemente a un lípido no anfipático a través de un enlace para formar un conjugado lipófilo, en la que el lípido unido al agente biológicamente activo está seleccionado de entre ácidos grasos y triglicéridos, y por lo menos un lípido no anfipático que encapsula el conjugado lipófilo, en la que el lípido de encapsulación está seleccionado de entre ácidos grasos, triglicéridos y mezclas de los mismos.

55

En una forma de realización preferente, el agente biológicamente activo se une covalentemente a un ácido graso C4-C30 y a continuación se encapsula dentro de una mezcla de por lo menos un triglicérido y por lo menos un ácido graso. El enlace entre el agente biológicamente activo y el lípido es de preferencia hidrolíticamente estable y enzimáticamente escindible. Ejemplos de enlaces adecuados incluyen éteres, tioéteres, imidas, amidas, sulfonamidas, fosfonamidas, disulfuros, y carbamidas.

65

La encapsulación del agente biológicamente activo se puede llevar a cabo fácilmente disolviendo una primera composición lipídica (por ejemplo, un ácido graso C4-C30) en un disolvente, mezclando el lípido disuelto con el agente biológicamente activo con suficiente intensidad de mezcla para formar una mezcla emulsionada, añadiendo una segunda composición lipídica (por ejemplo, uno o más triglicéridos) a la mezcla emulsionada mientras se continúa mezclando la mezcla emulsionada, solidificando la mezcla, y secando la mezcla para formar una composición sólida seca.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición lipófila biológicamente activa de la invención como se ha definido anteriormente para su uso en el tratamiento de una infección en un mamífero o animal. La infección puede ser una infección parasitaria, bacteriana, viral o fúngica.

Breve descripción de los dibujos

Habiendo descrito así la invención en términos generales, a continuación se hará referencia a las figuras adjuntas, en las que:

La Figura 1 ilustra la velocidad de degradación de la aspirina y de la aspirina encapsulada en carbonato de sodio;

La Figura 2 ilustra la biodisponibilidad *in vitro* de la NTZ y de la NTZ encapsulado cuando se somete a disolución;

La Figura 3 ilustra el perfil farmacocinético de la ivermectina en un caballo al que se administró el fármaco encapsulado Sterotex®;

La Figura 4 es una micrografía electrónica de criofractura obtenida con aumento de aproximadamente 27K de la NTZ encapsulado en Sterotex®/palmatato;

La Figura 5 es una micrografía electrónica de criofractura obtenida con aumento de 8,3K de la NTZ encapsulado en Sterotex®/palmatato;

La Figura 6 es una segunda micrografía electrónica de criofractura obtenida con aumento de aproximadamente 8,3K de la NTZ encapsulado en Sterotex®/palmatato;

La Figura 7 ilustra un método de síntesis para el compuesto BA 3540;

La Figura 8 es un gráfico de los espectros UV para el compuesto BA 3540;

La Figura 9 es un gráfico de los datos de HPLC para el compuesto BA 3540; y

La Figura 10 ilustra el compuesto encapsulado BA 3540 formado coalescencia con las colas del triglicérido y el ácido graso de encapsulación.

Descripción detallada de la invención

A continuación se describirá la presente invención más detalladamente en lo sucesivo en el presente documento. Sin embargo, esta invención se puede realizar de muchas formas diferentes y no debe interpretarse como limitada a las formas de realización presentadas en el presente documento; más bien, estas formas de realización se proporcionan de manera que esta divulgación sea exhaustiva y completa, y transmita completamente el alcance de la invención a los expertos en la materia.

I. Definiciones

Las expresiones “grupo funcional”, “resto activo”, “grupo de activación”, “sitio reactivo”, “grupo químicamente reactivo” y “resto químicamente reactivo” se utilizan en la técnica y en el presente documento para referirse a unidades o partes definibles distintas de una molécula. Las expresiones son en alguna medida sinónimos en las técnicas químicas y se utilizan en el presente documento para indicar las partes de las moléculas que realizan determinada función o actividad y que reaccionan con otras moléculas. El término “activo”, cuando se utiliza junto con grupos funcionales, pretende que incluya aquellos grupos funcionales que reaccionan fácilmente con grupos electrófilos o nucleófilos en otras moléculas, a diferencia de aquellos grupos que requieren catalizadores fuertes o condiciones de reacción muy poco factibles a fin de reaccionar (es decir, grupos “no reactivos” o “inertes”). Por ejemplo, como se entiende en la técnica, la expresión “éster activo” incluye aquellos ésteres que reaccionan fácilmente con grupos nucleófilos tales como las aminas. Ésteres activos ejemplares incluyen ésteres de N-hidroxisuccinimidilo o ésteres de 1-benzotriazolilo. Por lo general, un éster activo reaccionará con una amina en medio acuoso en cuestión de minutos, mientras que determinados ésteres, tales como los ésteres metílicos o etílicos, requieren un catalizador fuerte a fin de reaccionar con un grupo nucleófilo.

El término “enlace” o “conector” se utiliza en el presente documento para referirse a grupos o enlaces que se forman normalmente como resultado de una reacción química y que son por lo general enlaces covalentes. Enlaces hidrolíticamente estables se refiere a que los enlaces son prácticamente estables en agua y no reaccionan con el agua a valores de pH útiles, por ejemplo, en condiciones fisiológicas durante un largo periodo de tiempo, quizás incluso indefinidamente. Enlaces degradables o hidrolíticamente inestables se refiere a que los enlaces son degradables en agua o en soluciones acuosas, incluyendo por ejemplo la sangre. Enlaces enzimáticamente inestables, degradables o escindibles se refiere a que el enlace puede ser degradado por una o más enzimas.

- El término “alquilo” se refiere a cadenas de hidrocarburos que tienen por lo general una longitud comprendida entre aproximadamente 1 y aproximadamente 24 átomos de carbono, e incluye cadenas lineales y ramificadas. Las cadenas de hidrocarburo pueden ser saturadas o insaturadas. La expresión “alquilo sustituido” se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno o más sustituyentes no interferentes, tales como, pero no limitados a, cicloalquilo C3-C6, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, y similares; acetileno; ciano; alcoxi, por ejemplo, metoxi, etoxi, y similares; alcanoiloxi inferior, por ejemplo, acetoxi; hidroxilo; carboxilo; amino; dialquilamino y alquilamino inferior, por ejemplo, metilamino; cetona; halo, por ejemplo, cloro o bromo; fenilo; fenilo sustituido, y similares.
- 5 “Alcoxi” se refiere a un grupo -O-R, en el que R es alquilo o alquilo sustituido, preferentemente alquilo C1-C6 (por ejemplo, metoxi o etoxi).
- 10 “Ariilo” se refiere a uno o más anillos aromáticos, cada uno de 5 ó 6 átomos de carbono en el núcleo. Pueden estar condensados múltiples anillos de ariilo, como en el naftilo o no condensados, como en el bifenilo. Los anillos de ariilo también pueden estar condensados o no condensados con uno o más anillos heterocíclicos, heteroarillos o hidrocarburos cíclicos.
- 15 “Ariilo sustituido” es ariilo que tiene como sustituyentes uno o más grupos no interferentes. Para sustituciones en un anillo de fenilo, los sustituyentes pueden estar en cualquier orientación (es decir, orto, meta o para).
- 20 “Heteroarillo” es un grupo ariilo que contiene de un átomo a cuatro átomos N, O, o S o una combinación de los mismos, cuyo grupo heteroarillo está opcionalmente sustituido en el átomo o átomos de carbono o nitrógeno con alquilo C1-6, -CF₃, fenilo, bencilo, o tienilo, o un átomo de carbono en el grupo heteroarillo junto con un átomo de oxígeno forma un grupo carbonilo, o cuyo grupo heteroarillo está opcionalmente condensado con un anillo de fenilo. Los anillos de heteroarillo también pueden estar condensados con uno o más anillos de heteroarillo, hidrocarburo
- 25 cíclico, heterocíclico o ariilo. Heteroarillo incluye, pero no está limitado a, heteroarillos de 5 miembros que tienen un heteroátomo (por ejemplo, tiofenos, pirroles, furanos); heteroarillos de 5 miembros que tiene dos heteroátomos en las posiciones 1,2 ó 1,3 (por ejemplo, oxazoles, pirazoles, imidazoles, tiazoles, purinas); heteroarillos de 5 miembros que tienen tres heteroátomos (por ejemplo, triazoles, tiadiazoles); heteroarillos de 5 miembros que tienen 3 heteroátomos; heteroarillos de 6 miembros con un heteroátomo (por ejemplo, piridina, quinolina, isoquinolina, fenantrina,
- 30 5,6-cicloheptenopiridina); heteroarillos de 6 miembros con dos heteroátomos (por ejemplo, piridazinas, cinolinas, ftalazinas, pirazinas, pirimidinas, quinazolininas); heteroarillos de 6 miembros con tres heteroátomos (por ejemplo, 1,3,5-triazina), y heteroarillos de 6 miembros con cuatro heteroátomos.
- 35 “Heteroarillo sustituido” es heteroarillo que tiene como sustituyentes uno o más grupos no interferentes.
- “Heterociclo” o “heterocíclico” se refiere a uno o más anillos de 5, 6 ó 7 átomos con o sin insaturación o carácter aromático y por lo menos un átomo del anillo que no es carbono. Los heteroátomos preferentes incluyen azufre, oxígeno, y nitrógeno. Pueden estar condensados múltiples anillos, como en la quinolina o el benzofurano.
- 40 “Heterociclo sustituido” es un heterociclo que tiene una o más cadenas laterales formadas a partir de sustituyentes no interferentes.
- “Sustituyentes no interferentes” son aquellos grupos que producen compuestos estables. Radicales o sustituyentes no interferentes adecuados incluyen, pero no están limitados a, halo, alquilo C1-C10, alqueno C2-C10, alquino C2-C10, alcoxi C1-C10, aralquilo C7-C12, alcarilo C7-C12, cicloalquilo C3-C10, cicloalqueno C3-C10, fenilo, fenilo sustituido, tolueno, xileno, bifenilo, alcoxialquilo C2-C12, alcoxiarilo C7-C12, ariloxialquilo C7-C12, oxiarilo C6-C12, alquilsulfino C1-C6, alquilsulfonilo C1-C10, -(CH₂)_m-O-(alquilo C1-C10) en el que m es de 1 a 8, ariilo, ariilo sustituido, alcoxi sustituido, fluoroalquilo, radical heterocíclico, radical heterocíclico sustituido, nitroalquilo, -NO₂, -CN, -NRC(O)-(alquilo C1-C10), -C(O)-(alquilo C1-C10), tioalquilo C2-C10, -C(O)O-(alquilo C1-C10), -OH, SO₂, =S, -COOH, -NR, carbonilo, -C(O)-(alquilo C1-C10)-CF₃, -C(O)-CF₃, -C(O)NR₂, -(alquilo C1-C10)-S-(ariilo C6-C12), -C(O)-(ariilo C6-C12), -(CH₂)_m-O-(CH₂)_m-O-(alquilo C1-C10) en el que cada m es de 1 a 8, -C(O)NR, -C(S)NR, -SO₂NR, -NRC(O)NR, -NRC(S)NR, sales de los mismos, y similares. Cada R tal como se utiliza en el presente documento es H, alquilo o alquilo sustituido, ariilo o ariilo sustituido, aralquilo o alcarilo.
- 45 El término “fármaco”, la expresión “molécula biológicamente activa”, “resto biológicamente activo” o “agente biológicamente activo”, cuando se utilizan en el presente documento, se refieren a cualquier sustancia que pueda influir en las propiedades físicas y bioquímicas de un organismo biológico, incluyendo pero sin limitarse a, virus, bacterias, hongos, plantas, animales y seres humanos. En concreto, tal como se utiliza en el presente documento, moléculas biológicamente activas incluye cualquier sustancia prevista para el diagnóstico, la curación, el alivio, el tratamiento o la prevención de enfermedades en seres humanos u otros animales, o bien para potenciar el bienestar físico o mental de los seres humanos o de los animales. Ejemplos de moléculas biológicamente activas incluyen, pero no se limitan a, péptidos, proteínas, enzimas, fármacos de molécula pequeña, colorantes, nucleósidos, oligonucleótidos, oligosacáridos, polisacáridos, vacunas, células, o virus. Las clases de agentes biológicamente
- 50 activos incluyen, pero no se limitan a, antiparasitarios, antibióticos, fungicidas, agentes antivirales, agentes antiinflamatorios, agentes antitumorales, agentes cardiovasculares, agentes ansiolíticos, hormonas, factores de crecimiento, agentes esteroideos, y similares.
- 55
- 60
- 65

“Lipófilo” o hidrófobo se refiere a moléculas que tienen una mayor solubilidad en octanol que en agua, que tienen por lo general una solubilidad mucho mayor en octanol. A la inversa, “hidrófilo” se refiere a moléculas que tienen una mayor solubilidad en agua que en octanol.

5 “Lípido” incluye aceites, grasas y sustancias similares a las grasas que se producen en los organismos vivos y que son característicamente solubles en disolventes orgánicos relativamente no polares (por ejemplo, benceno, cloroformo, acetona, éter, y similares) y poco solubles en disolventes acuosos. El término incluye, pero no se limita a, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos tales como los triglicéridos, alcoholes grasos de cadena larga y ceras, desoxicolato, esfingoides, glicolípidos, fosfolípidos, esfingolípidos, e isoprenoides, tales como esteroides.

10 “Ácido graso” se refiere a ácidos monocarboxílicos alifáticos. Los ácidos grasos son por lo general ácidos de cadena predominantemente lineal de 4 a aproximadamente 30 átomos de carbono y pueden ser saturados o insaturados. También se incluyen en el término los ácidos grasos ramificados y los ácidos grasos hidroxilados.

15 “Triglicérido” se refiere a un éster de un ácido graso y glicerol.

“No anfipático”, tal como se utiliza para describir los lípidos, se refiere a moléculas que no contienen los segmentos hidrófobo e hidrófilo que forman bicapas en solución acuosa.

20 II. Composiciones de fármaco lipófilas

La presente invención proporciona un método para aumentar la lipofilia (es decir, la hidrofobicidad) de una molécula de fármaco, que es un 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido, utilizando dos enfoques distintos que se utilizan conjuntamente de una manera complementaria. El primer enfoque implica la unión covalente de una molécula lipídica no anfipática a la molécula de fármaco biológicamente activa. La molécula lipídica no anfipática está seleccionada de entre ácidos grasos y triglicéridos. El segundo enfoque comprende la encapsulación del fármaco en por lo menos un lípido no anfipático seleccionado de entre ácidos grasos, triglicéridos y mezclas de los mismos. Uniendo una molécula lipídica a una molécula de fármaco o encapsulando un fármaco en un lípido, la composición de fármaco resultante se vuelve más lipófila, lo que facilita el transporte de la composición en el sistema linfático en lugar de transportarla sólo a través de plasma sanguíneo. La capacidad observada del nitrotiazol con cola lipídica para alcanzar y matar a los parásitos en el sistema nervioso central de los caballos aquejados de EPM (como se describe más detalladamente más adelante) sugiere un transporte linfático, ya que la mayoría de los fármacos tienen dificultad para cruzar la barrera hematoencefálica.

35 Las vías linfáticas comienzan como capilares linfáticos, que son tubos microscópicos de extremo cerrado que forman redes complejas. La linfa es esencialmente líquido tisular que ha entrado en un capilar linfático. Estos capilares se fusionan con otros capilares para formar los vasos linfáticos y a su vez se convierten en los troncos linfáticos. El conducto torácico es el tronco linfático principal y es similar a la aorta en estructura y función. La sangre y la linfa son los fluidos extracelulares que se transportan a, y se recogen de, los tejidos y los órganos. Después de una comida grasa, se pueden recuperar en el conducto torácico por lo menos dos tercios de la grasa ingerida. La linfa más el líquido tisular constituye dos tercios del líquido extracelular. Este volumen linfático sumado es casi tres veces mayor que el volumen de sangre. Las bacterias y los virus entran en los líquidos tisulares y son transportados como partículas extrañas por el sistema linfático hacia los ganglios linfáticos. Las partículas extrañas no pueden entrar fácilmente en los capilares sanguíneos, mientras que los capilares linfáticos se pueden adaptar fácilmente para recibirlas.

La administración de moléculas de fármaco a través del sistema linfático proporciona una serie de beneficios importantes. Por ejemplo, se puede eliminar o reducir en gran medida el efecto de la toxicidad aguda de muchos fármacos. Se cree que la mezcla o conjugado lípido/fármaco es más aceptable para el organismo, debido a que es más “similar a los alimentos”. En esencia, la presencia de la molécula lipídica disfrazada el fármaco y estimula al organismo a procesar simplemente el compuesto como lo haría con cualquier molécula lipídica ingerida en los alimentos. Por lo tanto, las mezclas o conjugados lipófilos se procesan de una manera que se diferencia claramente de la manera en que se procesan muchas moléculas de fármaco convencionales. Muchos fármacos son reconocidos inmediatamente como materia extraña y sometidos a rechazo por los mecanismos bioquímicos de detoxificación del paciente.

Además, la lipofilización de las moléculas de fármaco aumenta la absorción y la biodisponibilidad del fármaco, y retarda la liberación del fármaco. Se cree que las composiciones de fármaco lipófilas de la invención se administran al tejido diana a través de los líquidos del tejido linfático, más que pasar únicamente a través del hígado. El metabolismo de muchos fármacos por las enzimas hepáticas, tales como el citocromo P450, es bien conocido. La biotransformación de Fase 1 es originada por las enzimas citocromo P450 y una segunda fase de biotransformación, originada por muchos de los mecanismos de detoxificación, añade un grupo hidrófilo, tal como ácido glucurónico, sulfato o glutatión, y da como resultado la inactivación del fármaco. Sin embargo, las composiciones de fármaco lipófilas de la invención, tales como gotitas de conjugados fármaco/lípido, se absorben y transportan a través del sistema linfático y se cree que permanecen activas durante más tiempo y presentan perfiles de liberación más lentos. Un fármaco de tipo lípido que entra en la linfa puede permanecer en circulación mucho más tiempo que las

moléculas de fármaco convencionales, debido en parte al gran tamaño del sistema linfático en comparación con el volumen sanguíneo. El fármaco lipofilizado también se puede depositar en el tejido adiposo, en el que se almacena y se libera a una velocidad baja.

- 5 En la industria farmacéutica, existe una creencia general de que la lipofilia de un fármaco debe ser moderada (es decir, ni demasiado alta ni demasiado baja). Existe una relación en forma de campana entre la velocidad de absorción y el coeficiente de partición, denominada $\log P$, en octanol/agua. A valores bajos de P ($\log P < -2$) (es decir, compuestos polares), la molécula de fármaco no puede penetrar la membrana intestinal lipídica. A la inversa, a valores altos de P ($\log P > 3$), el compuesto se vuelve tan soluble en los lípidos, que la difusión a través de la capa mucosa de la membrana intestinal se vuelve la etapa limitante de la velocidad en el proceso de absorción global. El punto de vista convencional es que un fármaco debe tener un valor de P de aproximadamente $-1 < \log P < 2$ (véase Houston, *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther., 195, 67-92, 1975). Por lo tanto, la unión de una cola lipídica a una molécula de fármaco representa un alejamiento radical del enfoque convencional de diseño de fármacos. La naturaleza no convencional de esta técnica es especialmente evidente cuando se observa que nada en el atestado campo de las oxazolidinonas sugiere el tipo de lipidización de una molécula de fármaco descrita en el presente documento y ejemplificada en el Ejemplo 13.

Además, la unión de una "cola" lipídica a la molécula de fármaco o la encapsulación de un fármaco en un lípido pueden hacer que la molécula sea más agradable al paladar para el paciente. La utilidad de algunos fármacos de administración oral se ve obstaculizada por la dificultad en la administración del fármaco a un nivel de dosificación suficiente debido al sabor desagradable del fármaco. Esto puede ser especialmente problemático en veterinaria. Al incorporar un componente lipídico en la composición de fármaco, el sabor de un fármaco es mejor aceptado por el paciente y se puede mejorar la administración oral del fármaco.

- 25 En la invención, se utilizan ambos enfoques de manera complementaria. Por lo tanto, la molécula de fármaco, un 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido, se une covalentemente a una molécula lipídica no anfipática seleccionada de entre ácidos grasos y triglicéridos y a continuación se encapsula dentro de por lo menos un lípido no anfipático seleccionado de entre ácidos grasos, triglicéridos y mezclas de los mismos. Todos los beneficios anteriormente descritos de lipidización del fármaco se ven potenciados por el uso complementario de ambos enfoques de lipidización. Además, la unión de la molécula lipídica a la molécula de fármaco antes de la encapsulación mejora la compatibilidad química de la molécula de fármaco y los componentes del lípido de encapsulación.

A. Unión covalente de una "cola" lipídica

- 35 El lípido no anfipático y la molécula de fármaco se unen covalentemente a través de un enlace, como se ilustra mediante la estructura general que se proporciona a continuación:

D-L-LÍPIDO

- 40 en la que D es la molécula de fármaco, un 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido, L es un resto de unión, y LÍPIDO es un residuo de un lípido no anfipático seleccionado de entre ácidos grasos y triglicéridos. Como se entenderá, el término "residuo" pretende referirse a una parte de una molécula que permanece después de la reacción química con otra molécula. Cuando se utiliza un ácido graso como componente lipídico, el residuo del componente lipídico comprenderá un grupo alquilo de cadena larga, tal como un grupo alquilo C4-C30.

45 La molécula lipídica es preferentemente un lípido no anfipático que es sólido a temperatura ambiente (25°C), tal como triglicéridos o ácidos grasos C4-C30. Cuando se utiliza un ácido graso, el ácido graso es preferentemente un ácido graso C7-C30, más preferentemente un ácido graso C10-C30. Por lo tanto, es preferible utilizar ácidos grasos que tengan una longitud de cadena de por lo menos 7 átomos de carbono, más preferentemente por lo menos aproximadamente 10 átomos de carbono.

50 Como se entenderá en la técnica, la molécula de fármaco se puede unir covalentemente al lípido por reacción de un grupo reactivo terminal en la molécula lipídica con un grupo reactivo en la molécula de fármaco. Por ejemplo, con respecto a la síntesis del nuevo fármaco, 2-lauramida-5-nitrotiazol, que se describe con mayor detalle más adelante, la función carboxi del ácido láurico se hace reaccionar con el grupo amino del 2-amino-5-nitrotiazol en una reacción de condensación para formar un enlace amida entre la molécula de fármaco y la molécula lipídica.

55 En caso necesario, la molécula de fármaco o el componente lipídico, o ambos, se pueden modificar químicamente para formar los grupos reactivos necesarios para la conjugación. Por ejemplo, se pueden "activar" ácido láurico u otros ácidos grasos para formar una especie reactiva que reaccionará fácilmente con un grupo amino en una molécula de fármaco para formar un conector amida. Ejemplos de tales derivados activados incluyen acil haluros de ácidos grasos y ésteres activos de ácidos grasos, tales como ésteres de N-hidroxisuccinimido. Los lípidos también se pueden activar con carbodiimidazol o carbodiimida. A la inversa, un sustituyente de la molécula de fármaco, tal como un grupo carboxilo, se puede activar y hacer reaccionar con una alquilamina de cadena larga, tal como una alquilamina C4-C30. En otra forma de realización más, se puede utilizar un conector bifuncional, tal como bromoacetobromuro, para bromoacetilar una alquilamina, que a continuación se hace reaccionar con una

funcionalidad amino en una molécula de fármaco para formar un conjugado que tiene la estructura general LÍPIDO-NH-CH₂-CO-NH-FÁRMACO. En los tres ejemplos, se genera un enlace peptídico que puede ser escindido enzimáticamente por una endopeptidasa no específica.

- 5 Existen numerosos ejemplos de grupos funcionales reactivos que se pueden formar en la molécula lipídica o en la molécula de fármaco para la reacción con otras moléculas. Los grupos funcionales ejemplares incluyen hidroxilo, ésteres activos (por ejemplo, N-hidroxisuccinimidilo, 1-benzotriazolilo, p-nitrofenilo, o ésteres de imidazolilo), carbonatos activos (por ejemplo, N-hidroxisuccinimidilo, 1-benzotriazolilo, p-nitrofenilo, o carbonato de imidazolilo), acetal, aldehído, hidratos de aldehído, sulfonato de arilo o alquilo, haluro, derivados de disulfuro, tales como
- 10 o-piridilo disulfidilo, alquenilo, acrilato, metacrilato, acrilamida, sulfona activa, amina, hidrazida, tiol, ácido carboxílico, isocianato, isotiocianato, maleimida, vinilsulfona, ditiopiridina, vinilpiridina, yodoacetamida, epóxido, glicoxales, dionas, mesilatos, tosilatos, o tresilato.

15 El enlace, L, es cualquier tipo de enlace derivado de la reacción de un grupo funcional en el lípido y un grupo funcional en la molécula de fármaco, o derivado de la reacción de un conector bifuncional con una molécula de fármaco y una alquilamina. Ejemplos de enlaces adecuados incluyen ésteres de ácidos carboxílicos, fosfoésteres, tioésteres, éteres, tioéteres, imidas, amidas, sulfonamidas, fosfonamidas, disulfuros, y carbamidas. El enlace, L, formado entre la molécula de fármaco y la molécula lipídica es preferentemente un enlace hidrolíticamente estable, tal como éteres, tioéteres, imidas, amidas, sulfonamidas, fosfonamidas, disulfuros, y carbamidas. El resto de unión

20 también debe ser enzimáticamente escindible, tal como un enlace escindible por esterasa, peptidasa, hidrolasa y similares. De esta manera, el compuesto de fármaco precursor será liberado de la cola lipídica por interacción con una o más enzimas. Los enlaces amida e imida son enlaces hidrolíticamente estables y enzimáticamente escindibles especialmente preferentes. En algunas formas de realización también se pueden utilizar enlaces hidrolíticamente degradables, tales como determinados ésteres.

25 B. Encapsulación del fármaco dentro del componente lipídico

Los conjugados molécula de fármaco/lípido son encapsulados por una matriz inerte de uno o más componentes lipídicos para potenciar la lipidezación de la molécula de fármaco y facilitar el transporte linfático. Al encapsular un

30 fármaco en un entorno hidrófobo protector, también se potencia la estabilidad del producto. El lípido de encapsulación es no anfipático, es decir, la composición lipídica utilizada para la encapsulación está prácticamente libre de fosfolípidos, glicolípidos u otros lípidos anfipáticos que forman bicapas en solución. El producto farmacéutico encapsulado de la invención comprende preferentemente una única fase (por ejemplo, sólida o líquida). Preferentemente, el producto farmacéutico encapsulado es un sólido seco, es decir, un sólido prácticamente libre de

35 agua u otros disolventes. En una forma de realización, la composición lipídica de encapsulación comprende lípidos que son sólidos a 25°C, tales como triglicéridos, ácidos grasos C4-C30 o mezclas de los mismos. La expresión "encapsulación" se refiere a que la composición lipídica está en contacto con, y físicamente rodea e inmoviliza, una parte sustancial del fármaco combinado con la misma de manera que una parte sustancial del fármaco ya no está físicamente expuesta al ambiente circundante.

40 Cuando el conjugado lípido/fármaco está encapsulado, el lípido de encapsulación puede ser isólogo (es decir, el lípido utilizado para formar el conjugado es idéntico en longitud de cadena al lípido utilizado en la encapsulación), homólogo (es decir, los lípidos son similares pero difieren en longitud de cadena), o heterólogo (es decir, el lípido de conjugación es sustancialmente diferente del lípido de encapsulación, tal como siendo uno insaturado y el otro saturado). Por ejemplo, si un ácido graso C12 está unido al agente biológicamente activo, entonces una composición lipídica de encapsulación isóloga comprenderá, por ejemplo, triglicéridos y/o ácidos grasos C12 que comprenden cadenas de alquilo C12. Una composición lipídica de encapsulación homóloga comprenderá componentes lipídicos que tienen longitudes de cadena de alquilo, por ejemplo, dentro de aproximadamente 5 átomos de carbono de la longitud de la cola lipídica unida al agente biológicamente activo, preferentemente dentro de aproximadamente 3

50 átomos de carbono. En general, es preferible unir el fármaco a un lípido que sea químicamente compatible y estructuralmente similar a los componentes lipídicos de encapsulación, de manera que la cola lipídica y el lípido de encapsulación sean composiciones lipídicas isólogas u homólogas.

55 El método de encapsulación de la invención implica mezclar el componente lipídico con la molécula de fármaco, y es simple y económico a la vez. El fundamento de este enfoque se basa en los conocimientos bioquímicos básicos del metabolismo de las grasas. En los mamíferos superiores, incluyendo los seres humanos, el metabolismo, la deposición y el transporte de la grasa es una transformación bioquímica conocida. Las grasas neutras o triglicéridos están compuestas por tres cadenas largas de ácidos grasos esterificados con el alcohol trihidrico de glicerol. Las grasas ingeridas son emulsionadas en el intestino delgado por las sales biliares para convertirse en micelas o gotitas de aceite que son absorbidas desde el lumen intestinal por los capilares linfáticos. Las micelas de grasa absorbidas relativamente grandes conocidas como quilomicrones pasan del intestino a la sangre a través de la linfa. Al encapsular la molécula de fármaco en una composición lipídica, la invención imita las micelas de grasa con el fin de potenciar la absorción del fármaco desde el intestino medio.

65 En una forma de realización preferente, se emulsionan cristales de fármaco con ácidos grasos y a continuación se encapsulan en triglicéridos. Una composición de triglicérido preferente es Sterotex® NF, un aceite de semilla de

algodón completamente hidrogenado disponible en Albitec Corp. de Janesville, WI. Sterotex® NF comprende ésteres de glicerina de ácidos grasos C14-C22. En la fabricación de productos farmacéuticos, es un excipiente bien conocido, que normalmente se añade como lubricante durante el proceso de granulación en la formación de comprimidos. Sin embargo, en esta aplicación, Sterotex se utiliza como un componente de una formulación de administración entérica de fármaco.

Aunque la encapsulación con Sterotex® en solitario ha demostrado ser eficaz (véanse los Ejemplos de Referencia 1 a 3) para la administración de fármacos a través del sistema linfático, se observa una administración de fármacos mejorada cuando se incorpora en el proceso un ácido graso, tal como ácido palmítico. El ejemplo de Referencia 4 proporciona un proceso general para encapsular un fármaco en un complejo de triglicérido/ácido graso. En términos generales, el proceso comprende la mezcla de alta cizalladura del conjugado fármaco/lípido con uno o más ácidos grasos, tales como ácidos grasos C4-C30, en presencia de un disolvente, para formar una emulsión. Mientras se sigue sometiendo la emulsión a mezcla de alta cizalladura, se añade a la emulsión un triglicérido o una mezcla de triglicéridos, tal como Sterotex®, y se mezcla con la misma mezcla utilizando alta cizalladura. A continuación se enfría la mezcla para formar una composición sólida, y se seca. Es importante mezclar el fármaco con los componentes lipídicos con suficiente intensidad de mezcla para formar una emulsión. La mezcla de alta cizalladura se puede lograr utilizando equipos de mezcla de alta velocidad o de alta presión o por sonicación. Ejemplos de aparatos de mezcla adecuados conocidos en la técnica incluyen mezcladores, sonificadores, homogeneizadores, procesadores Microfluidizer® así como otros aparatos de mezcla. La energía de mezcla generada por la mezcla de alta cizalladura da como resultado la formación de la emulsión de manera que los lípidos de encapsulación y el conjugado fármaco/lípido encapsulado formen coalescencia en una estructura ordenada, en capas, como queda demostrado por las fotografías de ME de criofractura mencionadas en el Ejemplo de Referencia 7.

Existe una serie de razones para incorporar ácidos grasos en el complejo de fármaco/lípido. En primer lugar, los ácidos grasos en las gotas de grasa controlan el metabolismo de la grasa mediante la lipasa pancreática. En el curso normal del metabolismo de las grasas, los triglicéridos se degradan a diglicéridos + ácidos grasos y los diglicéridos se degradan a monoglicéridos + más ácidos grasos y los monoglicéridos se degradan a ácidos grasos y glicerol. En presencia de ácidos grasos libres, las lipasas son menos activas hacia los triglicéridos. Si la lipasa sigue siendo muy activa, el fármaco cristalino puede quedar sin recubrimiento por la conversión de triglicéridos en glicerol y ácidos grasos. Los ácidos grasos actúan como una inhibición del producto final de la enzima lipasa y evitan así la eliminación del recubrimiento lipídico de los cristales de fármaco encapsulado. En segundo lugar, algunos fármacos polares son difíciles de emulsionar con grasa, mientras que los ácidos grasos que poseen un resto carboxílico pueden interactuar mejor con el fármaco. Por último, el 85% del fármaco unido encontrado en el Ejemplo de Referencia 2 sugiere que el complejo con Sterotex® se podría mejorar aún más.

Los disolventes y los ácidos grasos utilizados para emulsionar un fármaco dado se pueden modificar para adaptarse a la química del fármaco. Por ejemplo, el etanol o el agua se pueden sustituir por el metanol utilizado en el Ejemplo de Referencia 4. El ácido palmítico, ejemplificado en el Ejemplo de Referencia 4, es un ácido graso de cadena de carbono C-16. Se ha descubierto que resultan adecuadas las sustituciones con cadenas de carbono más cortas o más largas e incluso ácido desoxicólico. Preferentemente, el ácido graso es un ácido graso C4-C30. En algunas formas de realización, es preferible utilizar un ácido graso C7-C30, más preferentemente un ácido graso C10-C30. Por lo tanto, es preferible utilizar ácidos grasos que tengan una longitud de cadena de por lo menos 7 átomos de carbono, más preferentemente por lo menos aproximadamente 10 átomos de carbono.

Preferentemente, la relación ponderal entre el componente lipídico de encapsulación y el fármaco en la composición final es de aproximadamente 4:1 a aproximadamente 0,25:1, preferentemente de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 0,5:1, más preferentemente aproximadamente 1:1. Si se utiliza como lípido de encapsulación una combinación de triglicéridos y de ácidos grasos, la relación ponderal entre triglicérido y ácido graso es preferentemente de aproximadamente 4:1 a aproximadamente 1:4, más preferentemente de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 1:3, lo más preferentemente de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 1:2 o aproximadamente 1:1.

Antes de la degradación *in vivo*, es preferible que no más de aproximadamente el 50 por ciento en peso, más preferentemente no más de aproximadamente el 30 por ciento en peso, y lo más preferentemente no más del 10 por ciento en peso del fármaco unido quede físicamente expuesto dentro de la composición. Por físicamente expuesto se entiende que una parte de la molécula de fármaco está expuesta al medio externo a la composición lipídica de encapsulación.

El uso más ventajoso de la formulación encapsulada de la invención está en la medicación oral. Prácticamente todos los medicamentos entéricos tienen un sabor desagradable y son con frecuencia amargos. Sterotex® es inodoro e insípido y por lo tanto se puede añadir a los alimentos y resulta aceptable para los receptores.

El proceso de encapsulación de la invención es sencillo y económico (Sterotex® y el ácido palmítico cuestan menos de 0,02 dólares/g). El complejo de fármaco encapsulado es estable y sin embargo está biológicamente disponible. Es agradable al paladar para los seres humanos y los animales y la absorción del fármaco a través del tracto digestivo está potenciada. Evita liberaciones intensas de fármaco y evita la toxicidad de muchos fármacos citotóxicos

potentes.

C. El agente biológicamente activo

- 5 El fármaco o resto biológicamente activo es un 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido.

El fármaco se puede utilizar *per se* o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. En caso de ser utilizada, una sal del compuesto de fármaco debe ser farmacológica y farmacéuticamente aceptable, pero se pueden utilizar convenientemente sales no farmacéuticamente aceptables para preparar el compuesto activo libre o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y no quedan excluidas del alcance de esta invención. Tales sales farmacológicamente y farmacéuticamente aceptables se pueden preparar por reacción del fármaco con un ácido orgánico o inorgánico, utilizando métodos convencionales detallados en la literatura. Ejemplos de sales útiles incluyen, pero no se limitan a, las preparadas a partir de los siguientes ácidos: clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, maleico, acético, salicílico, p-toluenosulfónico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, fórmico, malónico, succínico, naftaleno-2-sulfónico y bencenosulfónico, y similares. Además, se pueden preparar sales farmacéuticamente aceptables como sales alcalinotérricas o de metales alcalinos, tales como sales de calcio, sodio o potasio de un grupo ácido carboxílico.

20 III. Composiciones de fármaco lipófilas ejemplares

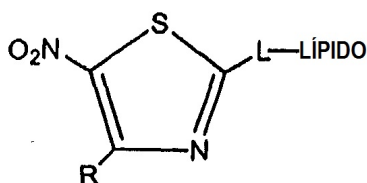
A. Composiciones lipófilas de nitrotiazol

La mieloencefalitis protozoaria equina (EPM) es causada por el organismo protozoario intracelular *Sarcocystis neurona* que infecta el SNC. En los caballos afectados clínicamente, los protozoos infectan las neuronas e inducen una respuesta inflamatoria. Los síntomas clínicos de la enfermedad neurológica derivan más comúnmente en coordinación asimétrica (ataxia), debilidad y/o atrofia muscular. La infección empeora progresivamente y, finalmente, los animales no tratados se desploman y mueren. Hasta el 60% de los caballos en algunas zonas del país, incluyendo el sureste, han estado expuestos a *S. neurona*. Se estima que el 10% de los caballos expuestos presentan síntomas neurológicos de EPM.

La nitazoxanida (2-acetoliloxi-N-5-nitro-2-tiazolilo también conocido como NTZ) es una composición farmacéutica muy eficaz contra una amplia variedad de parásitos, bacterias y virus en animales y seres humanos. En el tratamiento de la EPM, ha demostrado ser eficaz contra el parásito causante *S. neurona*. La ventaja de esta composición farmacéutica es que es un antibiótico de amplio espectro y su modo de acción es bactericida más que bacteriostática. La desventaja del fármaco es que en la forma libre es relativamente tóxico. Tampoco es agradable al paladar y causa anorexia, depresión y diarrea o heces blandas en los caballos. Se ha sabido que en los seres humanos la NTZ genera malestar gastrointestinal durante el tratamiento de la diarrea por *Cryptosporidium*. El fármaco también tiene algunos problemas de seguridad debido principalmente al nitrotiazol. La propia naturaleza de su constructo junto con la conjugación con aspirina agrava aún más los daños y la intolerancia gastrointestinal. Los salicilatos dañan las células epiteliales y amplían los espacios de unión intracelulares y los poros de la célula epitelial (véase Kingham *et al.* Gut 17:354-359 (1976)). El fármaco, como la aspirina, es inestable debido a que es susceptible a la degradación por humedad del éster de la forma desacetilada. En los estudios de estabilidad, el fármaco a granel se degrada progresivamente. Además, el azufre también se oxida a sulfona y a continuación a sulfóxido, como se puede visualizar por exploración UV de una UV max de 350 nm. Se desplaza al rojo a 354 nm (sulfona) y a continuación 358 nm (sulfóxido). Cuando el fármaco se calienta por encima de 50°C la oxidación es más pronunciada. El fármaco a granel tiene una caducidad de dos años. Una serie de patentes analizan derivados de 5-nitrotiazol, incluyendo las patentes de EE.UU. N° 3.950.351; 4.315.018; 5.856.348; 5.859.038; 5.886.013; 5.935.591; 5.965.590; 5.968.961; 6.020.353 y 6.117.894

50 La presente invención proporciona una composición farmacéutica segura y eficaz que comprende nitrotiazol para el tratamiento contra microbios oportunistas en seres humanos y animales. Supera muchas cuestiones de seguridad y especialmente el problema de la estabilidad de la nitazoxanida. La composición lipófila de la invención comprende una molécula lipídica no anfipática, seleccionada de entre ácidos grasos y triglicéridos unidos covalentemente mediante un enlace, a un compuesto de 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido, que incluye compuestos de 55 2-benzamido-5-nitrotiazol, en la que el anillo de arilo del grupo benzamido puede estar sustituido o no sustituido (los sustituyentes preferentes incluyen hidrógeno, aciloxi, tal como acetoxi o propionoxi, halógeno y alcoxi). La composición comprende adicionalmente por lo menos un lípido no anfipático que encapsula el conjugado lipófilo, en la que el lípido de encapsulación está seleccionado de entre ácidos grasos, triglicéridos y mezclas de los mismos. En la presente invención se puede utilizar cualquiera de los compuestos de 5-nitrotiazol descritos en las patentes mencionadas anteriormente. La molécula lipídica se puede unir a cualquier átomo de cualquier estructura de anillo 60 en la molécula (por ejemplo, el anillo de tiazol o el anillo de arilo del grupo benzamido), a través de un enlace, tal como un enlace amida.

Un conjugado lipídico preferente de un compuesto de 5-nitrotiazol se muestra como Fórmula I, que se presenta a 65 continuación:



Fórmula I

en la que L es un enlace, tal como -NH-C(O)-, R es hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical heterocíclico, o radical heterocíclico sustituido, y LÍPIDO es un residuo de un ácido graso C4-C30. Una forma de realización específica de un compuesto de Fórmula I, 2-lauramida-5-nitrotiazol, también se denomina en el presente documento BA 3540. BA 3540 se sintetiza químicamente por condensación de la función carboxilo del ácido láurico con el grupo amino del 2-amino-5-nitrotiazol (véase el Ejemplo 8). Como es conocido para el experto en la materia, los agentes de activación que se pueden utilizar para formar el enlace amida incluyen muchos compuestos intermedios activados de lauril-acil-haluros, lauril-ésteres activos tales como éster de lauril-n-hidroxisuccinimida y también por activación con carbodiimidazol y carbodiimida.

La eficacia terapéutica del nuevo fármaco 2-lauramida-5-nitrotiazol es notable. El nuevo constructo de fármaco debe encontrar su camino desde el intestino hasta el SNC y tiene que poseer la actividad bactericida de la NTZ con el fin de erradicar el parásito. El mecanismo de acción del nuevo fármaco es actualmente desconocido. Sin embargo, los antibióticos peptídicos con anillos de tiazol múltiples naturales producidos por los estreptomicetos tales como tiostreptona y micrococcina arrojan luz sobre esta cuestión. El mecanismo de acción del antibiótico es debido a la unión del anillo de tiazol, que inhibe la traducción y la actividad GTPasa ribosómica. Esta unión es a una región limitada y conservada en el ARNr de subunidad grande encontrado en eubacterias y orgánulos (plastidios) y no a la región correspondiente en eucariotas. El tratamiento eficaz de *Cryptosporidium*, *Plasmodium* y *Toxoplasma* mediante nitrotiazol también puede deberse a la inhibición de los orgánulos de tipo plastidio contenidos en estos parásitos. Aunque no se restringe a ninguna teoría concreta, es razonable suponer que el nuevo fármaco 2-lauramida-5-nitrotiazol también funciona de la misma manera. Este descubrimiento, en vista de la presente divulgación, tiene profundas implicaciones.

Se ha propuesto la NTZ para el tratamiento contra una amplia variedad de parásitos, hongos, bacterias y virus. El nuevo fármaco 2-lauramida-5-nitrotiazol es tan efectivo como la NTZ en el tratamiento de la EPM. Por lo tanto, es lógico pensar que el nuevo fármaco pueda ser igualmente eficaz contra la misma clase de, hongos, bacterias, virus y parásitos oportunistas. En concreto, el conjugado nitrotiazol/lípido de la invención resulta útil como tratamiento de la infección bacteriana, vírica, fúngica o por parásitos, incluyendo la infección por nematodos, cestodos, trematodos, y bacterias Gram+ o Gram-, al administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del conjugado al mamífero infectado (véanse los Ejemplos 9 a 12). Por ejemplo, los conjugados nitrotiazol/lípido han demostrado ser eficaces contra parásitos protozoarios, tales como los parásitos que causan la EPM y la coccidiosis, así como contra los virus.

Se ha demostrado que el metabolismo de la nitazoxanida implica la desacetilación a tiazonixida. En vista de la presente divulgación, el metabolito activo no puede deberse únicamente a la tiazonixida. La comunalidad entre los dos fármacos activos es el precursor de 2-amino-5-nitrotiazol. *In vivo*, una endopeptidasa específica puede escindir ambas moléculas a 2-amino-5-nitrotiazol. Esto puede dar una pista de la identidad del metabolito primario para ambos fármacos.

En la presente invención, el 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido, que se conjuga con un lípido no anfipático seleccionado de entre ácidos grasos y triglicéridos, pueden ser encapsulado por dicho por lo menos un lípido no anfipático seleccionado de entre triglicéridos, ácidos grasos y mezclas de los mismos, utilizando la metodología descrita anteriormente (véanse los Ejemplos de Referencia 3 y 6). Como se ha indicado anteriormente y en los ejemplos adjuntos, la encapsulación de NTZ u otros derivados de nitrotiazol en una composición lipídica puede mejorar la eficacia y la biodisponibilidad y reducir la toxicidad.

B. Composiciones lipófilas de ivermectina

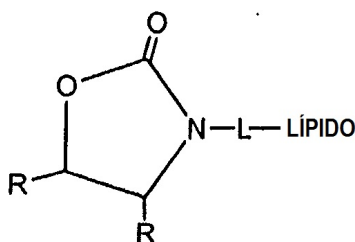
Como se indica en los ejemplos de referencia 5 y 6, se encapsuló ivermectina dentro de una composición lipídica y demostró ser eficaz y bien tolerada por el paciente. El método de encapsulación mostrado en el presente documento también se puede utilizar con compuestos relacionados de abamectina, avermectina, moxidectina, y milbemicina.

C. Composiciones lipófilas de oxazolidinona

Como se indica en el Ejemplo de Referencia 13, la metodología de encapsulación y/o de unión al lípido descrita en el presente documento también se puede utilizar con 2-oxazolidinonas. Como se muestra en el ejemplo adjunto, un

derivado de 2-oxazolidinona se puede unir covalentemente a una molécula lipídica, tal como un ácido graso C4-C30 para formar un derivado lipófilo. Las oxazolidinonas resultan útiles como agentes antibacterianos. En las patentes de EE.UU. N° 3.931.213; 4.186.129; 5.643.907; 5.565.571; 5.668.286; 5.688.792; 5.700.799; 5.719.154; 6.166.056; 6.288.238 y 6.337.329, así como en el documento EP 0 316 594 A1, se describen numerosos derivados de 2-oxazolidinona. Cualquier compuesto de 2-oxazolidinona se puede encapsular con una composición lipídica y/o unir covalentemente a una molécula lipídica, ya sea directamente o a través de un resto de unión. Por ejemplo, se podría utilizar cualquiera de las oxazolidinonas descritas en las referencias anteriores. Preferentemente, los derivados de 2-oxazolidinona están sustituidos en uno o más de los átomos de la estructura de anillo, siendo preferentes los sustituyentes del anillo incluyen hidrógeno, arilo, arilo sustituido, alquilo, alquilo sustituido incluyendo alcoxi, halógeno, CF₃, acilo, amino, amino sustituido, y RS(O)_n-, en la que n es 1-2 y R es alquilo o alquilo sustituido. Se puede unir una molécula lipídica a cualquier átomo disponible del anillo de oxazolidinona o cualquier átomo de cualquier anillo de arilo unido al anillo de oxazolidinona.

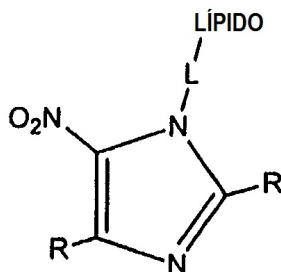
El conjugado lípido/oxazolidinona puede tener la Fórmula II que se presenta a continuación:



en la que L es un enlace, tal como un enlace imida, cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical heterocíclico, o radical heterocíclico sustituido, y LÍPIDO es un residuo de un lípido, tal como un ácido graso C4-C30.

D. Composiciones lipófilas de nitroimidazol

Como se muestra en el Ejemplo de Referencia 14, se pueden formar composiciones lipófilas de 5-nitroimidazol. Por ejemplo, las moléculas lipídicas se pueden unir covalentemente, directamente o a través de un enlace, a cualquier átomo disponible en un anillo de 5-nitroimidazol. El conjugado lípido/fármaco puede tener la estructura que se muestra a continuación como Fórmula III:



en la que L es un enlace, tal como imida, cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical heterocíclico, o radical heterocíclico sustituido, y LÍPIDO es un residuo de un lípido, tal como un ácido graso C4-C30.

IV. Composición farmacéutica que comprende la composición de fármaco lipófila

En el presente documento se describen formulaciones o composiciones farmacéuticas, de uso veterinario y médico, que comprenden una composición de fármaco lipófila como se ha descrito anteriormente que comprende un fármaco unido covalentemente a, y encapsulado dentro de, un lípido.

La formulación farmacéutica puede incluir uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente cualquier otro estabilizador, ingrediente terapéutico, o similares. El vehículo o vehículos deben ser farmacéuticamente aceptables en el sentido de ser compatibles con los demás ingredientes de la formulación y no excesivamente nocivos para el receptor de los mismos. Las composiciones de la invención también pueden incluir vehículos o excipientes/aditivos poliméricos, por ejemplo, polivinilpirrolidonas, celulosas derivatizadas tales como hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, e hidroxipropilmetilcelulosa, Ficolls (un azúcar polimérico), hidroxietilalmidón (HES), dextratos (por ejemplo, ciclodextrinas, tales como 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina y sulfobutiléter-β-ciclodextrina), polietilenglicoles, y pectina. Las composiciones pueden incluir adicionalmente diluyentes, tampones, aglutinantes, disgregantes, espesantes, lubricantes, conservantes (incluyendo antioxidantes), saporíferos, enmascaradores del sabor, sales inorgánicas (por ejemplo, cloruro de sodio), agentes antimicrobianos (por ejemplo,

cloruro de benzalconio), edulcorantes, agentes antiestáticos, tensioactivos (por ejemplo, polisorbatos tales como "TWEEN 20" y "TWEEN 80", y plurónicos tales como F68 y F88, disponibles en BASF), ésteres de sorbitán, lípidos (por ejemplo, fosfolípidos tales como lecitina y otras fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas, ácidos grasos y ésteres grasos, esteroides (por ejemplo, colesterol)), y agentes quelantes (por ejemplo, EDTA, cinc y otros cationes adecuados de este tipo). Otros aditivos y/o excipientes farmacéuticos adecuados para su uso en las composiciones de acuerdo con la invención se enumeran en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19ª ed., Williams & Williams, (1995), y en "Physician's Desk Reference", 52ª ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), y en Handbook of Pharmaceutical Excipients", Tercera ed., Ed. A.H. Kibbe, Pharmaceutical Press, 2000.

Las composiciones de fármaco lipófilas de la invención se pueden formular en composiciones que incluyen aquellas adecuadas para la administración oral, bucal, rectal, tópica, nasal, oftálmica, o parenteral (incluyendo la inyección intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, o intramuscular). Las composiciones de fármaco lipófilas también se pueden utilizar en formulaciones adecuadas para la inhalación. La administración oral es una vía de administración especialmente ventajosa de la presente invención a la luz de las características de palatabilidad y absorción intestinal aumentada de las composiciones de fármaco de la presente invención, como se ha descrito anteriormente. Las composiciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Todos los métodos incluyen la etapa de poner en asociación la composición de fármaco con un vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan poniendo en asociación las composiciones de fármaco de la invención con un vehículo líquido para formar una solución o una suspensión, o, como alternativa, poniendo en asociación la composición de fármaco con componentes de formulación adecuados para formar un sólido, opcionalmente un producto particulado, y a continuación, si se considera necesario, conformando el producto en una forma de administración deseada. Las formulaciones sólidas de la invención, cuando están particuladas, comprenden por lo general partículas con tamaños comprendidos entre aproximadamente 1 nanómetro y aproximadamente 500 micrómetros. En general, para formulaciones sólidas destinadas a la administración intravenosa, las partículas variarán por lo general de aproximadamente 1 nm a aproximadamente 10 micrómetros de diámetro.

La cantidad del fármaco o agente biológicamente activo en la formulación variará dependiendo del fármaco específico empleado, de su peso molecular, y de otros factores tales como la forma de dosificación, la población de pacientes diana, y otras consideraciones, y en general será determinada fácilmente por un experto en la materia. La cantidad de agente biológicamente activo en la composición será la cantidad necesaria para administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco a un paciente que lo necesite para conseguir por lo menos uno de los efectos terapéuticos asociados con el fármaco. En la práctica, esto variará ampliamente dependiendo del fármaco concreto, su actividad, la gravedad de la afección a tratar, la población de pacientes, la estabilidad de la formulación, y similares. Las composiciones contendrán generalmente cualquier cantidad comprendida entre aproximadamente el 1% en peso y aproximadamente el 80% en peso de fármaco, por lo general entre aproximadamente el 10% y aproximadamente el 60% en peso de fármaco, y más generalmente entre aproximadamente el 25% y aproximadamente el 50% en peso de fármaco, y también dependerá de las cantidades relativas de excipientes/aditivos contenidas en la composición. Más concretamente, la composición contendrá por lo general por lo menos aproximadamente uno de los siguientes porcentajes de fármaco: 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% o más en peso.

V. Método de utilización de las composiciones de fármaco lipófilas

Como se ha indicado anteriormente, las composiciones de fármaco lipófilas de la invención se puede utilizar para mejorar la eficacia, la biodisponibilidad y la absorción, así como para reducir la toxicidad, de una variedad de moléculas de fármaco. Por consiguiente, las composiciones de la invención se pueden utilizar como vehículos de administración de fármacos inmovilizando un fármaco dentro de, o uniendo un fármaco a, un componente lipídico, tal como un triglicérido o un ácido graso, y administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición resultante a un mamífero.

Las composiciones de fármaco de la invención se pueden utilizar como vehículos de administración de fármacos para cualquier afección sensible a la molécula de fármaco unida o inmovilizada. Por lo tanto, las composiciones de fármaco de la invención se pueden utilizar en formulaciones farmacéuticas útiles para tratar cualquier afección sensible a la molécula de fármaco en mamíferos, incluyendo seres humanos. El método de tratamiento comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición o formulación que contiene la composición de fármaco lipófila descrita anteriormente. La dosis terapéuticamente eficaz de cualquier formulación específica variará algo de fármaco a fármaco, de paciente a paciente, y dependerá de factores tales como la afección del paciente y la vía de administración. Como propuesta general, una dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal tendrá eficacia terapéutica. Por ejemplo, en determinadas formas de realización, la dosis será de aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 50 mg/kg, aproximadamente 75 mg/kg o aproximadamente 100 mg/kg. Cuando se administra conjuntamente con otros agentes farmacéuticamente activos, puede ser terapéuticamente eficaz una cantidad incluso menor de la composición de fármaco.

La composición de fármaco se puede administrar una vez o varias veces al día. La duración del tratamiento puede ser una vez al día durante un período de dos a tres semanas y puede continuar durante un período de meses o incluso años. La dosis diaria se puede administrar mediante una dosis única en forma de una unidad de dosificación individual o varias unidades de dosificación más pequeñas o mediante administración múltiple de dosis subdivididas a intervalos determinados. Las vías de administración posibles incluyen la administración bucal, subcutánea, transdérmica, intramuscular, intravenosa, oral o por inhalación.

VI. Parte experimental

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar la invención, pero no deben considerarse una limitación de la invención.

Ejemplo de Referencia 1

15 Encapsulación del fármaco en triglicérido

En la patente de EE.UU. N° 6.153.119 se describe un proceso general que se puede adaptar para la encapsulación directa de cristales de fármaco en triglicérido o mezcla del mismo, tales como Sterotex®.

20 Como un ejemplo de tal proceso, se pesan 10 g de Sterotex® en un frasco con tapón de rosca de 100 ml mediante el que se añaden 30 ml de isoctano o hexano y se calienta para disolverlo lentamente. El Sterotex® solubilizado se mantiene a 50°C. Se añade al Sterotex® solubilizado un peso igual de fármaco, 10 g, y la mezcla se agita vigorosamente durante 5 a 10 minutos. La mezcla resultante se enfría rápidamente en un baño de hielo mientras se agita y/o se remueve. La mezcla de enfriamiento se fundirá y a continuación se solidificará lentamente. Se transfiere a un recipiente y se seca generando vacío durante toda la noche para eliminar todos los disolventes volátiles. El rendimiento es de 20 g de complejo de Sterotex®/fármaco 1:1 que es normalmente un producto de color blanco que se puede deshacer en un polvo fino. Prácticamente todos los productos farmacéuticos se pueden emulsionar e inmovilizar de esta manera.

30 Ejemplo de Referencia 2

Encapsulación de aspirina en triglicérido

La aspirina posee una función éster activa y es susceptible de degradación alcalina. En este ejemplo, la aspirina se encapsula en Sterotex® utilizando el método descrito en el Ejemplo 1. En la aspirina, la especie desacetilada es el ácido salicílico, que tiene una absorbancia característica a 296 nm. La comparación de la estabilidad farmacológica del Sterotex®/aspirina frente a la de la aspirina se realizó en NaCO₃ 0,1 M (10 pH) y la cinética de degradación se supervisó mediante espectrofotometría UV. En la Figura 1, se compara la aparición de ácido salicílico entre la aspirina encapsulada en Sterotex® y la aspirina libre. La aspirina se disuelve lentamente y se hidroliza a ácido salicílico en una solución básica de NaCO₃ 0,1 M. A las 27 horas, se ha hidrolizado aproximadamente un 38%. Por el contrario, la aspirina encapsulada en Sterotex® es bastante estable incluso a las 27 horas y sólo se ha degradado menos de un 2%. Este ejemplo ilustra el aumento en la estabilidad farmacológica proporcionada por la encapsulación en un componente lipídico.

45 Ejemplo de referencia 3

Encapsulación de acetilbenzamida nitrotiazol en triglicérido

La acetilbenzamida nitrotiazol, también conocida como NTZ, es un fármaco antibiótico útil como tratamiento para los parásitos protozoarios. La acetilbenzamida nitrotiazol también posee una función éster activa que es susceptible a la degradación alcalina para formar hidroxibenzamida nitrotiazol con una absorbancia característica a 360 nm. En agua, el fármaco precursor es poco soluble y la solución es incolora. Después de reposar durante toda la noche, el fármaco precursor se convierte en el homólogo desacetilado y se forma una solución de color amarillo intenso. La acetilbenzamida nitrotiazol encapsulada mediante Sterotex® como se ha descrito en el Ejemplo 1 es hidrófoba y flota en la superficie del agua. Después de muchas horas a temperatura ambiente se produce una solución de color amarillo claro.

Una estimación razonable del fármaco unido frente al libre por espectrometría UV sugiere que aproximadamente el 85% de los cristales de fármaco están totalmente incrustados en Sterotex®. Al aumentar la relación entre el Sterotex® y el fármaco, este porcentaje de fármaco expuesto no mejora. Este porcentaje mayor de lo esperado de fármaco libre sugiere que cuando el complejo de Sterotex®/nitrotiazol se deshace en un polvo fino, algunos cristales de fármaco pueden quedar parcialmente expuestos y quedar disponibles para el medio acuoso. La cinética de degradación de la acetilbenzamida nitrotiazol en NaCO₃ 0,1 M es similar a la curva de la aspirina de la Figura 1. A efectos comparativos, el fármaco encapsulado presentaba a las 3 horas una densidad óptica de 0,1, mientras que el fármaco libre tiene una densidad óptica de 1,9. Este ejemplo también ilustra el efecto estabilizador de la encapsulación lipídica.

El Sterotex® encapsula el fármaco en un ambiente hidrófobo y es de suma importancia para demostrar que el fármaco está biodisponible. Se examinó adicionalmente la biodisponibilidad *in vitro* de la acetilbenzamida nitrotiazol en el complejo unido mediante ensayos de disolución. Se comparó el complejo frente al nitrotiazol libre en un aparato de disolución Distek® a 37°C, empleando el método de paletas (Aparato I) en HCl 0,1 M con y sin un detergente (Triton X100 al 1%). La disolución de fármaco libre y complejo con Sterotex® (en una relación Sterotex®:fármaco de: 0,5, 2,0 y 2,5) se comparó primero a 100 rpm durante 120 minutos. En estas condiciones, todas las muestras presentan aproximadamente el mismo grado de liberación del fármaco y al final de la disolución la D.O. máxima fue 0,2. Cuando se añadió a los medios de disolución Triton X100 al 1%, la disolución del fármaco fue más rápida, aunque todavía incompleta. El perfil de velocidad de disolución muestra que el del Sterotex®/nitrotiazol es aproximadamente el mismo que el del fármaco libre (véase la Figura 2).

Ejemplo de referencia 4

Encapsulación del fármaco dentro de ácido graso y triglicérido

En el proceso que se describe más adelante, el fármaco se emulsiona primero con la mezcla de alta cizalladura de un ácido graso libre, tal como ácido palmítico, en un disolvente, tal como una mezcla de metanol e iso octano. El complejo formado se recubre una segunda vez con Sterotex®. A 125 g de fármaco, se añaden 135 ml de metanol en un mezclador Waring de velocidad variable. El mezclador se hace funcionar de 2 a 3 veces a velocidad intermedia y se detiene a intervalos para evitar el sobrecalentamiento. El tiempo total de molienda es de 10 minutos a velocidad máxima. En esta etapa, se añaden 25 g de ácido palmítico (C-16) y 50 ml de iso octano. El mezclador se activa durante diez minutos a velocidad intermedia. Se supervisa cuidadosamente la formación de una emulsión y se puede añadir más iso octano si la pasta es demasiado espesa. A continuación se hace funcionar el mezclador a la máxima velocidad durante 30 minutos y teniendo cuidado de nuevo de no permitir que la temperatura se eleve por encima de 55°C. Cuando la emulsión se espesa, se añaden lentamente al mezclador 100 g de Sterotex® fundido a aproximadamente 60°C mientras funciona a baja velocidad. Repetir las etapas de molienda en emulsión a velocidad máxima como se ha indicado anteriormente. A continuación, se enfría rápidamente el mezclador en un baño de hielo. El Sterotex®/palmítico/fármaco solidificado se seca durante toda la noche en una cámara de vacío. La relación final de Sterotex®:ácido palmítico es de ~ 4:1, y su relación ponderal combinada respecto al fármaco permanece en ~ 1:1.

Ejemplo de Referencia 5

Ensayos *in vivo* de Sterotex®/ivermectina y Sterotex®/palmítico/ivermectina

Se administraron a dos caballos dos formulaciones orales de Sterotex® del fármaco anátoma, ivermectina. Las formulaciones convencionales consisten en ivermectina en una pasta o en un brebaje oleoso que tiene que administrarse por alimentación forzada. Los caballos tienen que ser desparasitados mensualmente con un tratamiento con ivermectina. La ivermectina se encapsuló mediante cualquiera de las dos formulaciones, Sterotex®/ivermectina y Sterotex®/palmítico/ivermectina, tal como se ha descrito anteriormente en los Ejemplos 1 y 4. Se realizó el ensayo de palatabilidad añadiendo Sterotex®/fármaco 1:1 y Sterotex®:palmítico/fármaco a un puñado de alimento dulce que consistía en melaza y alfalfa. Se grabó el tiempo de ingestión y los caballos encontraron cualquiera de las formulaciones aceptable y consumieron ambas en aproximadamente la misma cantidad de tiempo que el alimento dulce de control. El consumo oral voluntario por los caballos del complejo de fármaco en este y otros experimentos demostró su aceptabilidad como formulación entérica.

Se evaluó la biodisponibilidad *in vivo* estudiando la farmacocinética del fármaco en caballos individuales que son tratados con cualquiera de las dos formulaciones de ivermectina. Se tomaron muestras de sangre en diversos momentos después de la dosificación y los plasmas se prepararon y se mantuvieron congeladas hasta que todas las muestras habían sido recogidas. En la Figura 3, el perfil farmacocinético es el resultado del análisis HPLC (cromatografía líquida de alta presión) por fluorescencia de la ivermectina recuperada en las muestras de sangre. Como se muestra, las formulaciones encapsuladas presentaron un perfil farmacocinético normal después de una sola dosis.

Ejemplo de referencia 6

Eficacia de Sterotex®/ivermectina y Sterotex®/acetilbenzamida nitrotiazol en caballos

Se evaluó la eficacia de la formulación Sterotex/ivermectina por recuento de huevos de parásito presentes en las heces de los caballos antes y después del tratamiento con el fármaco. El recuento de huevos antes del tratamiento fue de 350 huevos/l y después del tratamiento fue cero.

Se utiliza la pasta de acetilbenzamida nitrotiazol convencional como tratamiento para los caballos durante 6 días a una dosis de 25 mg/Kg y a continuación a una dosis de 50 mg/kg de peso corporal diariamente durante un total de 28 tratamientos. En los ensayos clínicos, se utilizó una formulación encapsulada de NTZ (formulada como en el Ejemplo 4 con Sterotex® y ácido palmítico) para tratar a 4 caballos con síntomas clínicos de mieloencefalitis

protozoaria equina (EPM) con media dosis (es decir, 25 mg/kg) y se trató a un caballo con un tercio de dosis (es decir, 16,7 mg/kg). Los caballos infectados con los parásitos protozoarios neurológicos se recuperaron completamente después de 28 tratamientos. El tratamiento con NTZ convencional en otros estudios se mantuvo en un 80% de eficacia.

5 La eficacia de los resultados indica que la absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal es enormemente mejorada por la formulación de encapsulación de Sterotex/palmítico. También puede deberse al hecho de que parte del fármaco puede transportarse a través del sistema linfático y administrarse de manera más eficaz a través de los fluidos tisulares/corporales a los órganos neurológicos diana.

10 Ejemplo de referencia 7

Estudio de microscopía electrónica de criofractura del complejo encapsulado de Sterotex®/palmítico/nitrotiazol

15 Para la microscopía electrónica de criofractura, se ultracongelaron las muestras utilizando una técnica de sándwich y propano enfriado con nitrógeno líquido. Los planos de fractura se sombrearon con platino durante 30 segundos a un ángulo de 25 a 35 grados y con carbono durante 35 segundos. Las réplicas se limpiaron con HNO₃ fumante concentrado durante 24 a 36 horas. Las micrografías electrónicas de la Figura 4 tomada con un aumento final de 27.390 presentaron extensas áreas de estructuras estratificadas. Se supone que son capas de lípidos ordenadas
20 debido a que en las zonas de fracciones cruzadas, se pueden observar etapas de unos 4 nm a 6 nm. También son discernibles algunas de las características estructurales que se asemejan a la fase lipídica H_{II} y el comienzo del desarrollo de túbulos de lípidos.

25 La Figura 5 se tomó con aumentos 8,3K. En el aumento final, 1 μm = 3,2 cm. En la fotografía electrónica, las áreas marcadas C = Cristal de fármaco 8 X 5,7 μm² y CL = capas de cristal a 5,6, 18,7 y 57,8 nm de lípido de encapsulación. La Figura 6 se tomó aproximadamente con el mismo aumento y C = cristales a 6 X 3 μm y 2,8 X 1,7 μm; CL = capas de cristal a 5,8, 19,2, 69,2 nm. Esta electromicrografía y otras muestran cristales con longitudes de borde comprendidas entre 0,6 y 8 μm. El tamaño real de los cristales puede ser mucho mayor, ya que han pasado por un tratamiento de criofractura. En la ME se ve un gran número de capas de cristal CL y, de hecho,
30 todos los cristales parecen abarcar estas capas delgadas. Al tomar mediciones totales en aproximadamente 200 capas de aproximadamente 20 zonas de fracciones cruzadas de 4 electromicrografías, se observan tres espesores principales de capas de cristal: siendo el más delgado el de ~6 nm, y el resto son de ~20 nm y ~60 nm. No hay certeza en cuanto al límite superior del espesor y la anchura de estas capas de cristal.

35 Los resultados de la ME de criofractura ilustran la manera en la que estaba recubierto el lípido. Si se trata de un proceso aleatorio, la ME no mostrará repeticiones en la estratificación. Dado que se observa evidencia de capas ordenadas o estructuradas, esto sugiere que existe un orden en el que se alinean los ácidos grasos y triglicéridos, ya que en el proceso de encapsulación los dos componentes se emulsionan y se deja que formen coalescencia.

40 Ejemplo de referencia 8

Diseño complementario de cola lipídica para el fármaco para la encapsulación lipídica

45 El nuevo fármaco, 2-lauramida-5-nitrotiazol, también se denomina en el presente documento BA3540. Como se ha descrito anteriormente, se sintetiza químicamente condensando la función carboxilo del ácido láurico con el grupo amino del 2-amino-5-nitrotiazol. Como saben los expertos en la materia, los agentes de activación que se pueden utilizar para formar el enlace amida incluyen muchos compuestos intermedios activados de lauril-acil-haluros, lauril-ésteres activos, tales como éster de lauril-n-hidroxisuccinimida, y también por activación con carbodiimidazol y carbodiimida. El esquema de reacción general se muestra en la Figura 7.

50 En un ejemplo típico, se activa una relación equimolar (aproximadamente 2,5 moles) de ácido láurico con dicitclohexil-carbodiimida (DCC) en 500 ml de dimetilformamida. Después de 90 minutos, se elimina la dicitclohexilurea insoluble formada por filtración al vacío. A continuación se añade la solución activada de ácido láurico en una relación de aproximadamente 1:1 del 2-amino-5-nitrotiazol nucleófilo en 600 ml de cloruro de metileno, 60 ml de piridina y se completa hasta 3,5 litros con dimetilformamida. Se deja que la reacción transcurra durante 40 a 48 horas revolviendo, agitando o calentando a 50°C. El producto formado se obtiene y purifica por precipitación y recristalización en metanol y/o acetona. Este esquema de síntesis se representa como 2-lauramida-5-nitrotiazol y es un bonito microcristal con forma de aguja. El fármaco a granel tiene el color de la harina de avena y es insoluble en agua, poco soluble en metanol y más soluble en cloruro de metileno y dimetilformamida. Para promover la disolución completa, el fármaco tiene que calentarse ligeramente. De hecho, el nuevo compuesto es notablemente estable y se puede calentar en disolventes orgánicos de metanol, acetona cloruro de metileno y dimetilformamida a 60°C-80°C sin detrimento apreciable.

65 La identificación estructural se realizó mediante (1) análisis elemental, (2) espectro UV y HPLC (3). Los resultados de la identificación son: C15, H25, N3, O3, S1; 327, Calculado C 55%, H 7,6% N 12,8%, S 14,7%, S 9,8% Encontrado 56,25%, 7,5%, 12,8%, (O-no determinado) y S 10,02%. Lambda submáxima = 350 nm. En la Figura 8 se

muestran los espectros UV para BA3540. El UV max depende del disolvente y está en aproximadamente 340 nm-350 nm. Para el análisis de HPLC mostrado en la Figura 9, la columna fue C-18 y la fase móvil fue en acetonitrilo y agua. El punto de fusión es 136°C. La característica lipoidal del fármaco disminuía el punto de fusión muy sustancialmente aproximadamente 67 grados en comparación con un conjugado conocido de aspirina/NTZ.

5 Se realizaron síntesis similares con ácido caprílico para producir un aducto C-8 y con ácido salicílico para producir nitazoxanida (NTZ).

Ejemplo 9

10 Eficacia de BA3540 frente a EPM en caballos

Se sintetizaron, purificaron y cristalizaron aproximadamente 2 kg del BA3540, 2-lauramida-5-nitrotiazol. El nuevo fármaco se encapsuló como en el Ejemplo 4 con ácido palmítico al 27% y Sterotex® al 73%. En la Figura 10 se muestra una ilustración del producto BA3540 encapsulado. El fármaco encapsulado se convirtió en una formulación de pasta para caballos como se ha indicado anteriormente y se sometió a ensayo en tres caballos que presentaban síntomas clínicos de EPM.

20 Caso 1: "Chris" es un caballo de cuarto de milla castrado de 7 años de edad. El caballo tenía ataxia con cojera de origen inespecífico, sólo dio una resistencia moderada al cruce de un anterior sobre el otro y era inestable en ambos lados a la tracción lateral de la cola. El caballo dio positivo para EPM en un ensayo de inmunotransferencia (transferencia de Western). Chris recibió tratamiento oral diario con la nueva formulación de pasta que contenía 2-lauramida-5-nitrotiazol encapsulado en lípido durante un total de 28 dosificaciones con 25 g/jeringa. (Los días 22 a 28, no se administró el fármaco y a continuación se reanudó la medicación la semana siguiente).

25 El día 9 del examen clínico, tropezaba posteriormente al trote. Al estar de pie, alternaba constantemente sus patas traseras, pero resistió la tracción lateral de la cola. El día 15 del examen, Chris alternó ligeramente los cuartos traseros al estar de pie, pero al trote tropezó con ambas patas traseras. El día 22 del examen, Chris resistió la tracción lateral de la cola y ya no alternaba los cuartos traseros estando de pie. Parecía haber mejorado un grado completo. Para el día 30 del examen, se mantenía de pie relajadamente en la superficie firme, resistía la tracción lateral de la cola y no tenía pérdida de masa muscular aparente. En base a la estadificación de la EPM general, Chris pasó de Grado 3 a Grado 0/1 por el tratamiento con pasta del nuevo fármaco. La observación del propietario desde el día 30 hasta el día 84 indicó que el caballo comía bien, jugaba en su paddock, y recuperaba una actitud de alerta y agresiva. Chris había recuperado aparentemente la buena salud.

35 Caso 2: "Brooke" es una yegua pura sangre de 18 años de edad. El caballo dio positivo para la exposición a EPM en el ensayo serológico mediante transferencia de Western. Tenía respuesta de la pata delantera derecha notable y no podía resistir el cruzamiento durante períodos breves. Además había atrofia muscular y edema del cuarto trasero izquierdo. El cuarto trasero derecho no podía resistir la tracción lateral de la cola. Su síndrome de EPM se relacionaba con la pérdida rápida de peso, especialmente en el cuarto trasero derecho, lo que afectaba también a las babillas. Otros ensayos (recuento completo de sangre y análisis de enzimas séricas) indicaban un aumento de globulinas proteicas al comienzo del tratamiento con el fármaco y una vuelta a la normalidad al final del tratamiento. De nuevo se administró diariamente al caballo tratamientos orales con la dosis actual de un caballo típico de 1000 1b a aproximadamente 50 mg/Kg de peso corporal o 25 g/día. La yegua mantuvo el buen apetito por la comida durante todo el ensayo.

50 El día 7 del examen clínico, la yegua resistió el cruzamiento de la pata delantera en ambos lados pero se rindió a la tracción lateral de la cola en ambas direcciones. Arrastraba ligeramente el pie trasero izquierdo tras un ejercicio de 2 a 3 minutos, pero sin tropezar. La pata trasera izquierda estaba hinchada desde el pie hasta el corvejón. El día 16 del examen, la pérdida de masa muscular en el cuarto trasero izquierdo no era tan evidente. Durante el ejercicio en sentido horario en círculo, iba con rigidez y dejaba caer la cabeza para mantener el equilibrio.

55 El día 21, su reacción a la tracción lateral de la cola había cambiado; la pata trasera derecha resistía con fuerza y el lado izquierdo sólo tenía una resistencia moderada. Para el día 29, hubo una fuerte resistencia al cruzamiento de la pata delantera. Sin embargo durante el ejercicio todavía dejaba caer la cabeza. En la puntuación del grado empezó en un Grado 2 y permanece como Grado 2 en ese momento. A partir del día 29, la yegua siguió mejorando sin medicación adicional. Continuó ganando peso, actitud y agresividad. Para el día 84, de acuerdo con el propietario, estaba corriendo y corcoveando en su paddock y parecía tener buena salud.

60 Caso 3: "Foundation Man" es un caballo Appaloosa castrado de 22 años de edad. El caballo fue examinado por tres veterinarios que sospecharon de una infección de encefalomiелitis protozoaria equina en base a los síntomas clínicos de tropiezos repetidos en un terreno familiar nivelado. El caballo se había tropezado y caído con el jinete al trote en su propio paddock. El caballo dio positivo para exposición a EPM en un ensayo serológico mediante transferencia de Western. Se administró diariamente a Foundation Man tratamientos orales con la misma cantidad de medicamento durante 28 días. Los síntomas clínicos a destacar en los exámenes semanales fueron: (1) espasmo muscular en la región lumbar derecha y (2) rigidez de movimiento durante el ejercicio circular en sentido horario en círculo.

Este caballo era más sensible a la medicación. Mantuvo un excelente apetito por la comida durante todo el ensayo. Hubo una mejoría notable en la energía, agresividad y vigor el día 15, que mantuvo en todo momento. Los breves tropiezos durante el ejercicio se hicieron menos pronunciados hasta dejar de afectar al movimiento de avance controlado en cualquier dirección. El espasmo en la región lumbar también se redujo para el día 14 y después desapareció. En respuesta a esto, su movimiento de avance se hizo más fluido. En base a las características generales de estadificación de la EPM, Fundación Man pasó de Grado 2/3 a Grado 0 para el día 28 de tratamiento con el nuevo fármaco.

Como se indica en el ensayo descrito anteriormente, el conjugado lipídico, BA3540 (2-lauramida-5-nitrotiazol) es a la vez eficaz y seguro. A diferencia de la NTZ, el fármaco es agradable al paladar y que no causa anorexia, depresión, diarrea o heces blandas en los caballos. Los tres caballos tratados aceptaron la formulación sin efectos secundarios. Casi todos los caballos aumentaron de peso incluso durante la primera semana de tratamiento y continuaron aumentando de peso durante el tratamiento de 28 días. Los tres caballos tratados tenían diversos síntomas neurológicos y sin embargo todos presentaron mejoras progresivas durante el período de tratamiento de 28 días. Continuaron mejorando incluso después del período de tratamiento con el fármaco, sin medicación o complementos. Los informes de los propietarios indicaron que los tres caballos se recuperaron completamente de la EPM y no mostraron ninguna recaída el día 84.

Ejemplo 10

Eficacia de BA 3540 en el tratamiento contra la coccidiosis en pollos

Se realizó un ensayo inicial que implicaba 120 pollos (pollos de 4 semanas de edad) para el tratamiento contra la coccidiosis. Se utilizaron tres grupos de tratamiento: (1) de control, (2) tratamiento con dosis baja de 10 mg de BA 3540/kg, y (3) tratamiento con dosis alta de 50 mg de BA 3540/kg. Se separaron los pollos en seis corrales, cada uno con 10 aves. Se comenzó la recolección de heces para verificar la presencia de coccidios. A continuación, se asignaron los tratamientos, y se inició el ensayo. Se añadió el tratamiento a una dieta de mezcla y fueron alimentados a discreción durante siete días. Al final del período de tratamiento, se analizaron las nuevas recolecciones fecales para cada grupo de tratamiento para verificar la presencia de coccidios.

La fórmula farmacéutica fue aceptada por los pollos sin efectos adversos y todos los pollos se mantuvieron en buen estado de salud a lo largo de las siete semanas sin mortalidad. Se tomaron dos muestras fecales de cada corral y se realizó una flotación fecal para verificar los niveles de ooquistes. Se tuvieron en cuenta los niveles de ooquistes para determinar el coccidio adulto presente en el tracto intestinal. El nivel de infestación por coccidios al comienzo del ensayo fue moderado.

Después de las siete semanas de tratamiento, el grupo al que se había administrado una dosis alta (50 mg/kg) sólo tenía de 1 de 4 muestras con ooquistes detectables. Por lo tanto, el fármaco es eficaz en el grupo de tratamiento con dosis alta. En el grupo de tratamiento con dosis baja (10 mg/kg), la cantidad de ooquistes es aproximadamente la misma que la del grupo de control. El recuento de oocitos no es lo suficientemente selectivo para diferenciar entre el grupo con tratamiento con dosis baja y el grupo de control.

Se llevó a cabo un ensayo de confirmación con 10 pollos Arbor Acres de siete semanas de edad. Las aves se dividieron en dos grupos: los grupos de control y de tratamiento con 50 mg/kg. Los dos grupos de jaulas estaban alejadas del suelo para evitar cualquier posible contaminación. El ensayo se supervisó durante cuatro días y se utilizaron flotaciones fecales para verificar la población de oocitos para determinar la eficacia. Se recogieron dos muestras fecales de cada jaula. Las muestras fecales de control presentaron niveles similares de oocitos de coccidios, mientras que el grupo de tratamiento no presentó oocitos visibles.

Ejemplo de Referencia 11

Actividad antifúngica de BA 3540

Se ha demostrado la actividad antifúngica para NTZ (véanse las patentes de EE.UU. N° 5.578.621 y 3.950.351). En estas patentes se sugiere que la levadura y diversos dermatofitos, *in vitro*, son susceptibles al nitrotiazol (nitazoxanida). En el presente estudio, se trató a pacientes con los dedos de los pies amarillos por hongos con un porcentaje en peso del 3% de BA3540 en una formulación en gel (el gel comprende propilenglicol y Carbopol® Gel al 0,8%) durante 5 días consecutivos mediante aplicación tópica de la formulación en gel en la zona de la cutícula que rodea la uña, seguido de tratamiento semanal con la formulación en gel durante las siguientes 4 semanas. El engrosamiento de la uña causada por el crecimiento de los hongos desapareció después de dos semanas, y varios meses después comenzó a aparecer una uña sana por debajo de la uña gruesa.

Ejemplo de Referencia 12

Actividad antiviral de BA 3540

Se ha descrito a NTZ como poseedor de actividad antiviral, y específicamente contra virus del herpes, tales como virus de Epstein Barr (EBV), virus de la varicela zoster (VZV), virus simple humano (HSV) y el citomegalovirus humano (HCMV). Se realiza una evaluación preliminar de las actividades anti-HSV y anti-HCMV de BA3540 utilizando NTZ como control positivo.

5 Los fármacos, NTZ y BA 3540, se hicieron solubles a 10 mg/ml en dimetilsulfóxido y a continuación se diluyeron en medio a concentraciones de 50 µg/ml, 5 µg/ml, 2,5 µg/ml, y 1,5 µg/ml. Se propagaron fibroblastos embrionarios humanos en medio esencial mínimo y se complementaron con suero fetal bovino al 10%. Las células se trataron previamente con los dos fármacos a las 4 concentraciones especificadas más un control nulo durante 45 minutos.

10 Se infectó cada placa con 300 a 400 partículas virales de HSV o HCMV durante 1 hora. Se añadió a cada placa medio libre de fármaco y se continuó la incubación durante 3 días para propagar el virus. Al final de los tres días, se separó el sobrenadante de cada una de las placas para los ensayos de reducción de placas.

15 Ambos fármacos resultaron eficaces como agentes antivirales. Esto es especialmente cierto con respecto al HCMV. En los controles, había 300 placas. El BA 3540 a una concentración de 1,5 µg/ml y 2,5 µg/ml presentó 3 placas y 1 placa, respectivamente, y ninguna a las concentraciones de fármaco más altas. El control de NTZ presentó 310 placas, mientras que no hubo placas virales a las cuatro concentraciones de fármaco. El intervalo terapéutico previsto para BA 3540 es de aproximadamente 1,5 µg/ml a 2,5 µg/ml para HCMV. El intervalo terapéutico de BA 3540 con respecto al HSV es aproximadamente 5 µg/ml a 10 µg/ml. En el control de HSV infectado productivamente había 110 placas, mientras que a una concentración de 1,5 µg/ml, hubo 90 placas. Los presentes datos establecen que BA 3540, al igual que NTZ, es eficaz como agente antiviral para el virus del herpes.

Ejemplo de Referencia 13

25 Síntesis de BA11671, N-dodecil-2-oxazolidinona (N-lauril-oxazolidinona)

La 2-oxazolidinona es una nueva clase de antibiótico comercializado con la marca comercial, Zyvox®, por Pharmacia Upjohn. Se trata de la primera clase completamente nueva de antibióticos comercializada en 35 años. Los inyectables y comprimidos de Linezolid se utilizan para el tratamiento contra bacterias gram-positivas y neumonía causada por *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina. La estructura nuclear de oxazolidinona es un anillo de cinco miembros. Los derivados del fármaco se construyen alrededor del nitrógeno del núcleo en la posición 3 en el anillo de oxazolidinona. Por lo tanto, se han descrito diversas permutaciones y combinaciones de análogos de feniloxazolidinonas (Patente de EE.UU. N° 6.166.056). Obviamente, el anillo de fenilo no es un prerrequisito para la actividad, debido a que las 3-cloro-2-oxazolidinonas han demostrado presentar actividad antibacteriana (Patente de EE.UU. N° 3.931.213). Sin embargo, se sabe que el enantiómero (S) es farmacológicamente activo. La mezcla racémica resulta útil, pero requerirá el doble de material para el mismo efecto antibacteriano. La identificación de esta estructura del núcleo constituye la primera etapa en el desarrollo de un nuevo agente farmacológico para las técnicas de lipofilización descritas en el presente documento.

40 Un enfoque de química sintética ejemplifica la facilidad con la que se puede generar un nuevo análogo utilizando los métodos descritos en el presente documento. La reacción fue una condensación molar igual de cloruro de laurilo y 2-oxazolidinona en dimetilformamida. Se utilizó piridina para neutralizar el HCl generado en la condensación de un enlace imida. Después de la incubación a 50°C durante 24 horas, los reactivos se diluyeron con dos volúmenes de metanol y se cristalizaron en frío. El nuevo fármaco, N-(lauril)-2-oxazolidinona, se recristalizó de nuevo una segunda vez para asegurar la pureza.

50 El análisis elemental resultante confirmó la composición del nuevo análogo. La composición química estructural es: C15, H27, N1, O3, siendo el peso de la fórmula 269. La composición teórica es: C 67%, N 5,2%, H 10,04%, O 17,76%; encontrado, C 66,96%, N 5,23%, H 10,08%, (O-no determinado). El punto de fusión es 69°C y es significativamente inferior al de la 2-oxazolidinona (90°C) debido a que el fármaco es más similar a un lípido.

Ejemplo de Referencia 14

55 Síntesis de BA 91346, N-dodecil-2-metil-nitroimidazol, (N-(lauril)-2 metil-nitroimidazol)

El nuevo fármaco, BA 91346, es un análogo del metronidazol (N-etanol-2-metil-5-nitroimidazol). El fármaco precursor es un antibiótico utilizado en el tratamiento contra bacterias anaerobias y en concreto para el tratamiento de la úlcera causada por la bacteria (*Helicobacter pylori*). También se utiliza como fármaco antiparasitario.

60 La síntesis química de BA 91346 implica la reacción de cloruro de lauroilo con el grupo imidazol del 2-metil-5-nitroimidazol en dimetilformamida y piridina. Se mezclan cantidades molares iguales de los dos reactivos y la reacción dura 24 horas a 50°C. La solución se diluyó dos veces con metanol y se enfrió para cristalizar el compuesto. Después del secado, el compuesto se volvió a purificar por cristalización a partir de metanol.

65 La fórmula estructural del nuevo compuesto es C 16, N 3, H 28 y O 3; y el peso de la fórmula es 310. La composición teórica del análisis elemental de C 62%, N 13,5%, H 9,03%, O 15,47%; encontrado C 62,6%, N

13,05%, H 9,08% y O-(no determinado). La temperatura de fusión para el BA91346 es 74°C, mientras que para el metronidazol precursor es 161°C. De nuevo, la menor temperatura de fusión observada se debe a la lipidización del derivado del fármaco.

5 Ejemplo de Referencia 15

Síntesis de BA 61274, CH₃-(CH₂)₁₁-NH-CO-CH₂-S-CH₂-CH(CH₃)-CO-Pro

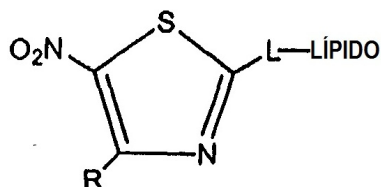
10 La estructura del núcleo biológicamente activa del inhibidor de la acetilcolinesterasa (inhibidor de la ACE) ha sido descrita como un dipéptido. En el Captopril, hay una funcionalidad mercapto de que se puede explotar para la unión a un ácido graso. El enfoque más simple es la reacción con cloruro de lauroilo para producir un tioéster. Se hacen reaccionar cantidades molares iguales de captopril y cloruro de lauroilo en dimetilformamida y piridina durante 6 horas a 40°C. Después de la reacción, se añaden 20 volúmenes de metanol y tres volúmenes de agua. El conjugado se precipita en frío y se recristaliza una vez más en metanol.

15 El segundo enfoque es utilizar dodecilmuro y el sulfhidrido de captopril para formar un enlace tioéter. En esta reacción se añaden cantidades molares iguales de los dos reactivos en dimetilformamida y piridina a temperatura ambiente durante tres días. Después de la reacción, se añaden el metanol y el agua como se ha indicado anteriormente y el producto se precipita y se recristaliza.

20 Los dos productos anteriormente indicados forman un enlace tioéster, que es hidrolizable, o tioéter, que no es enzimáticamente escindible. Por esta razón, una tercera opción de síntesis preferente implica la creación de un conector amida que es hidrolíticamente estable y, sin embargo, enzimáticamente escindible. En la reacción, se emplea un conector bifuncional bromuro de bromoacetilo. Este conector se une primero al resto lipídico por bromoacetilación. En la reacción, se hacen reaccionar 165 g (1 mol) de n-dodecanoamina mediante la adición lenta de 222 g (1,1 moles) de bromuro de bromoacetilo a temperatura ambiente durante 2 horas en 800 ml de dimetilformamida y 80 ml de piridina. Después de la reacción, el aducto precipitado se filtra por filtración al vacío. El producto se vuelve a suspender en 800 ml de acetato de etilo y hexano (1:1) y se vuelve a filtrar. El producto, dodecilamido-acetil-bromuro, tiene un peso molecular de 306 Da y es cristalino y de color blanco. La reacción de conjugación se da con 1,42 g de dodecilamido-acetil-bromuro y 1 g de captopril en 2 ml de dimetilformamida y 0,25 ml de piridina durante 3 días a temperatura ambiente. Después de la reacción, se añaden 20 volúmenes de metanol y tres volúmenes de agua. El conjugado se precipita en frío y se vuelve a cristalizar una vez más en metanol.

REIVIINDICACIONES

1. Composición lipófila biológicamente activa, que comprende un 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido unido covalentemente a un lípido no anfipático a través de un enlace para formar un conjugado lipófilo, en la que el lípido unido al 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido está seleccionado de entre ácidos grasos y triglicéridos, y por lo menos un lípido no anfipático que encapsula el conjugado lipófilo, en la que el lípido de encapsulación está seleccionado de entre ácidos grasos, triglicéridos y mezclas de los mismos.
2. Composición según la reivindicación 1, en la que el lípido unido covalentemente al 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido está seleccionado de entre un ácido graso C4-C30, un ácido graso de por lo menos 10 átomos de carbono de longitud, y un triglicérido.
3. Composición según la reivindicación 1, en la que el enlace está seleccionado de entre éteres, tioéteres, imidas, amidas, sulfonamidas, fosfonamidas, disulfuros, y carbamidas.
4. Composición según la reivindicación 1, en la que el enlace es $\text{-NH-CH}_2\text{-C(O)-NH-}$.
5. Composición según la reivindicación 1, en la que el lípido de encapsulación comprende una mezcla de por lo menos un triglicérido y por lo menos un ácido graso.
6. Composición según la reivindicación 5, en la que el lípido de encapsulación comprende una mezcla de por lo menos un éster de glicerina de ácidos grasos C14-C22 y por lo menos un ácido graso C4-C30.
7. Composición según la reivindicación 1, en la que el lípido unido covalentemente al 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido es un ácido graso C4-C30 y la composición lipídica de encapsulación comprende una mezcla de por lo menos un éster de glicerina de ácidos grasos C14-C22 y por lo menos un ácido graso C4-C30.
8. Una composición según la reivindicación 1, en la que la composición lipídica de encapsulación y el lípido unido al 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido son isólogos u homólogos.
9. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición lipófila biológicamente activa está en forma sólida y se adapta a la administración oral.
10. Composición según la reivindicación 1, en la que el 5-nitrotiazol sustituido o no sustituido unido covalentemente a un lípido tiene la estructura:



- en la que L es el enlace, R es hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical heterocíclico, o radical heterocíclico sustituido, y LÍPIDO es un residuo de un ácido graso C4-C30.
11. Composición según la reivindicación 10, en la que L es -NH-C(O)- .
12. Composición según la reivindicación 10, en la que el conjugado lipófilo es 2-lauramida-5-nitrotiazol.
13. Composición según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para su uso en el tratamiento de una infección en un mamífero o en un animal.
14. Composición para su uso según la reivindicación 13, en la que la infección es una infección parasitaria, bacteriana, viral o fúngica.
15. Composición para su uso según la reivindicación 13, en la que la infección es la mieloencefalitis protozoaria equina (EPM) o la coccidiosis.

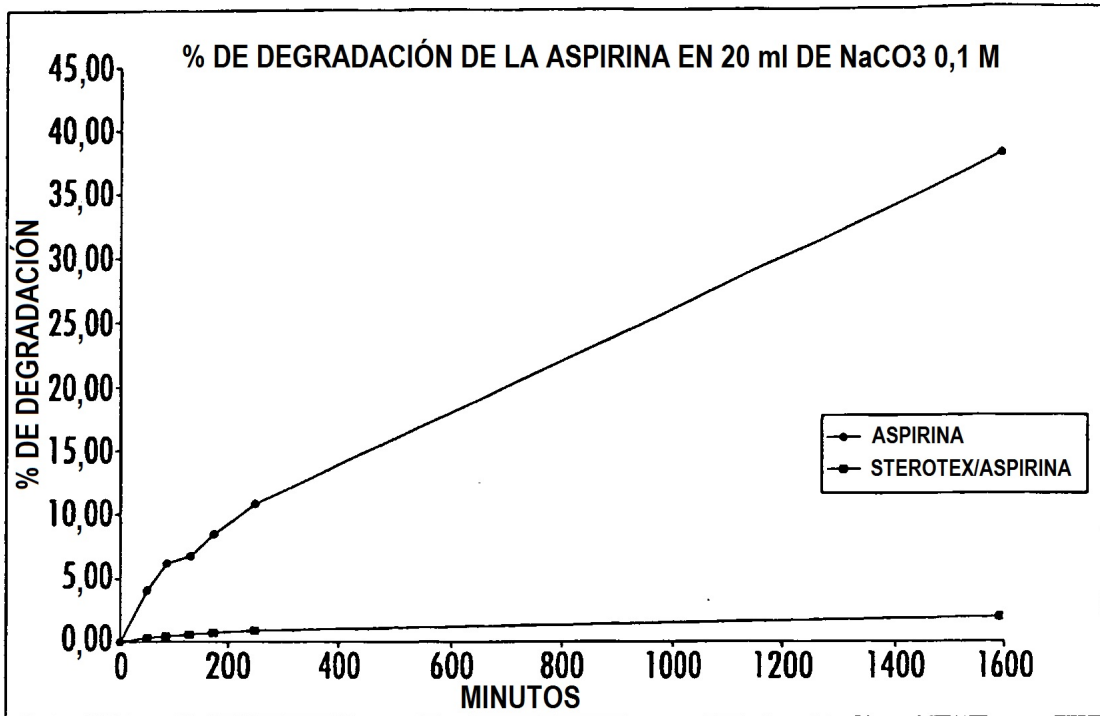


FIG. 1.

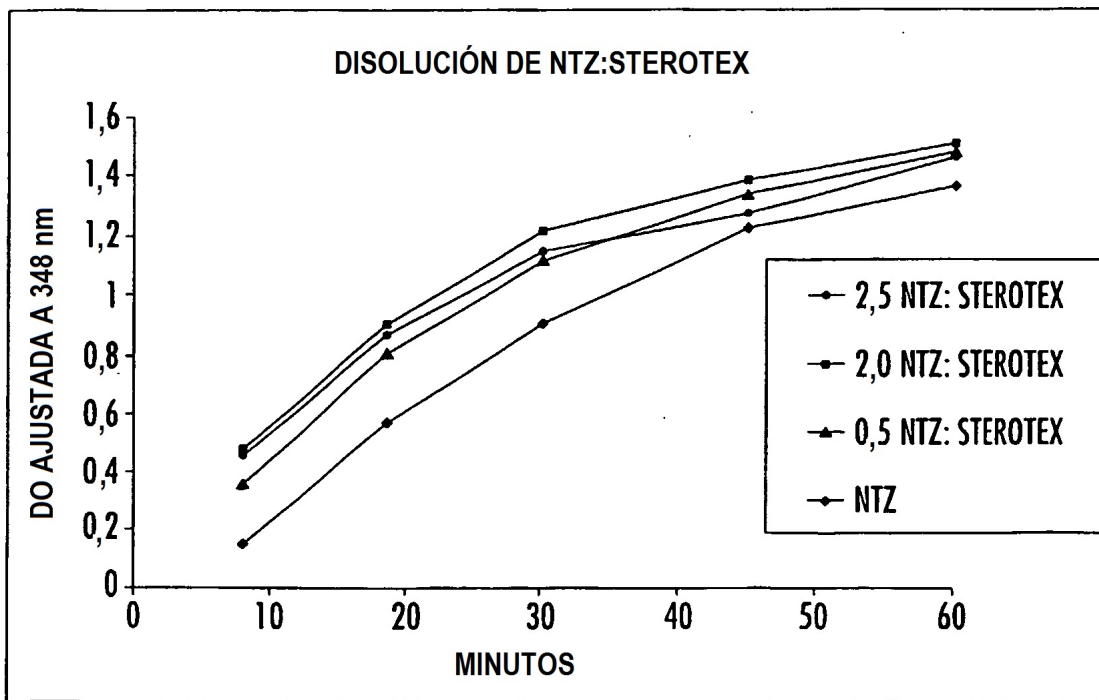


FIG. 2.

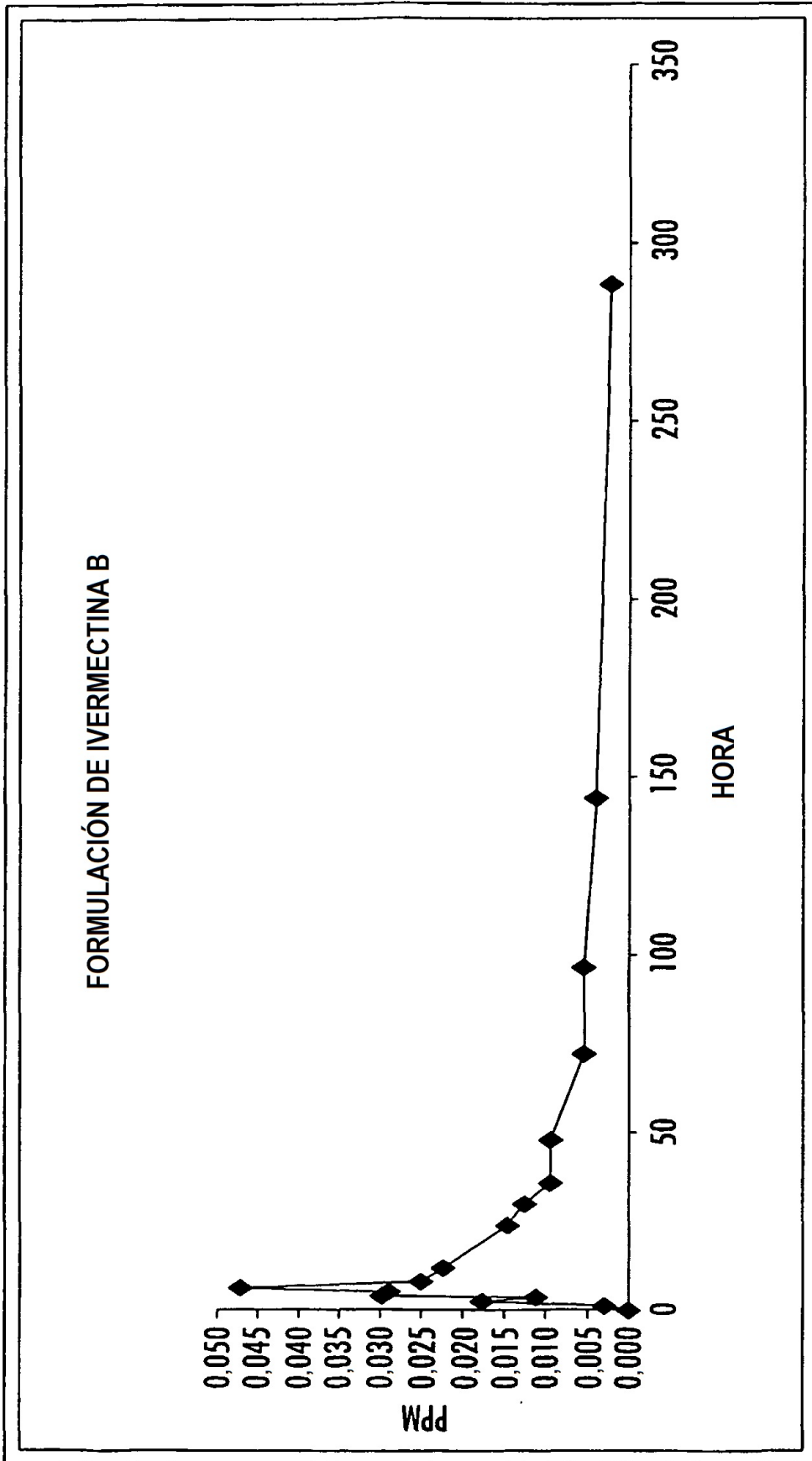


FIG. 3.



FIG. 4

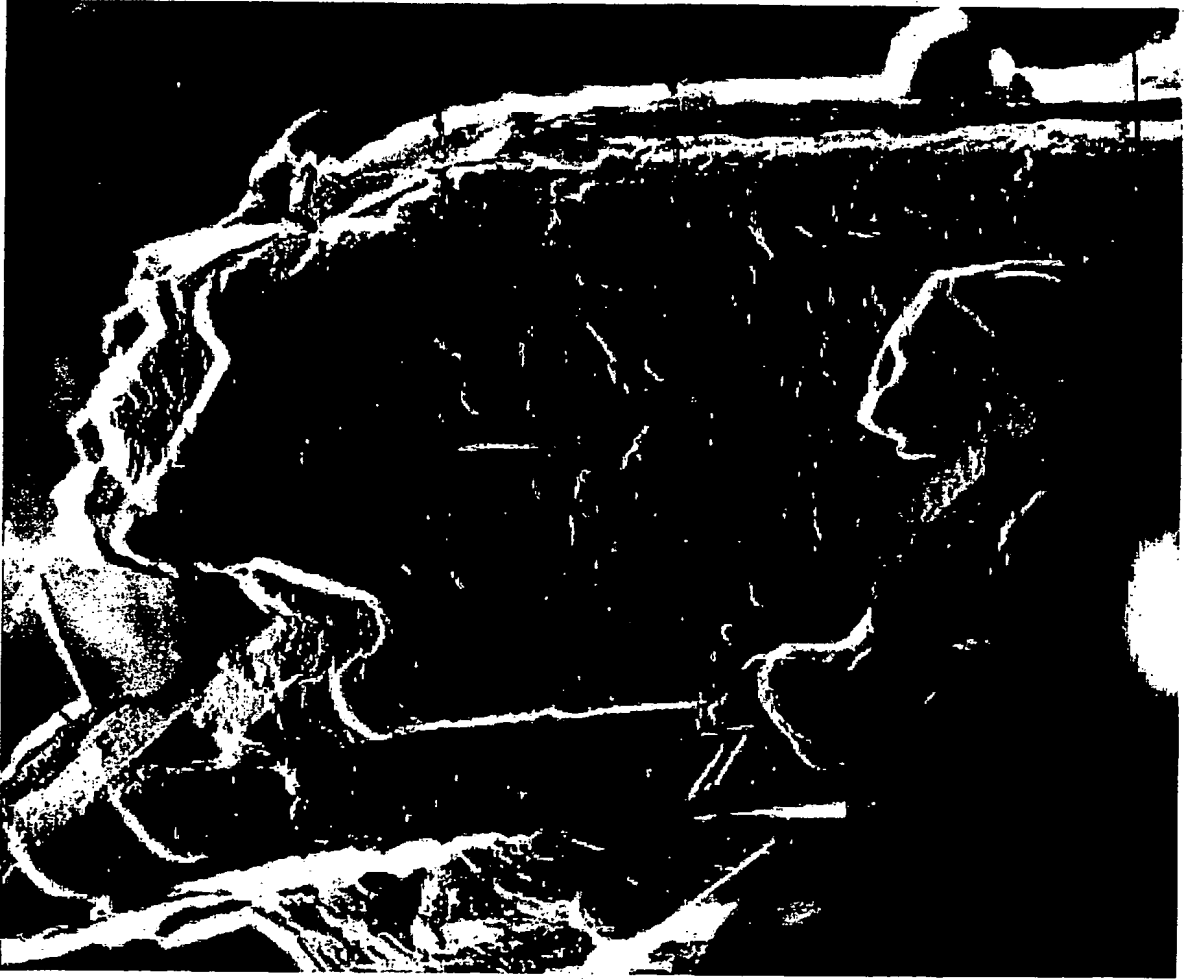


FIG. 5



FIG. 6

SÍNTESIS DE NITROTIAZOLIL-LAURAMIDA

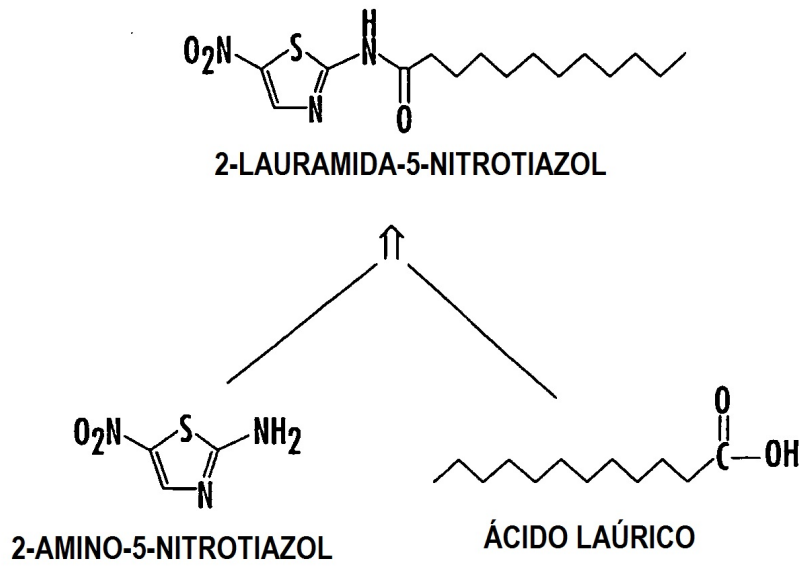


FIG. 7.

ESPECTRO UV DE BA 3540

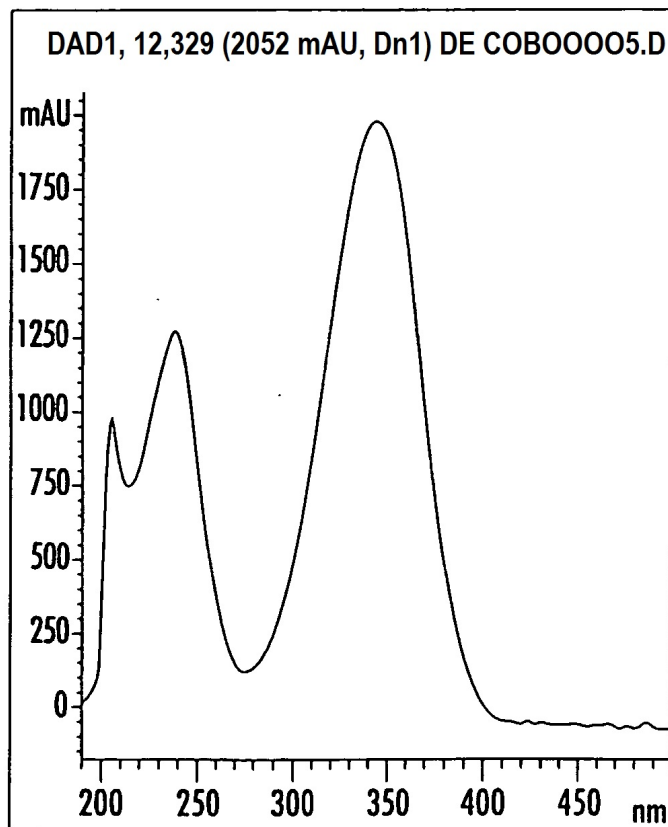


FIG. 8.

ANÁLISIS HPLC DE BA 3540

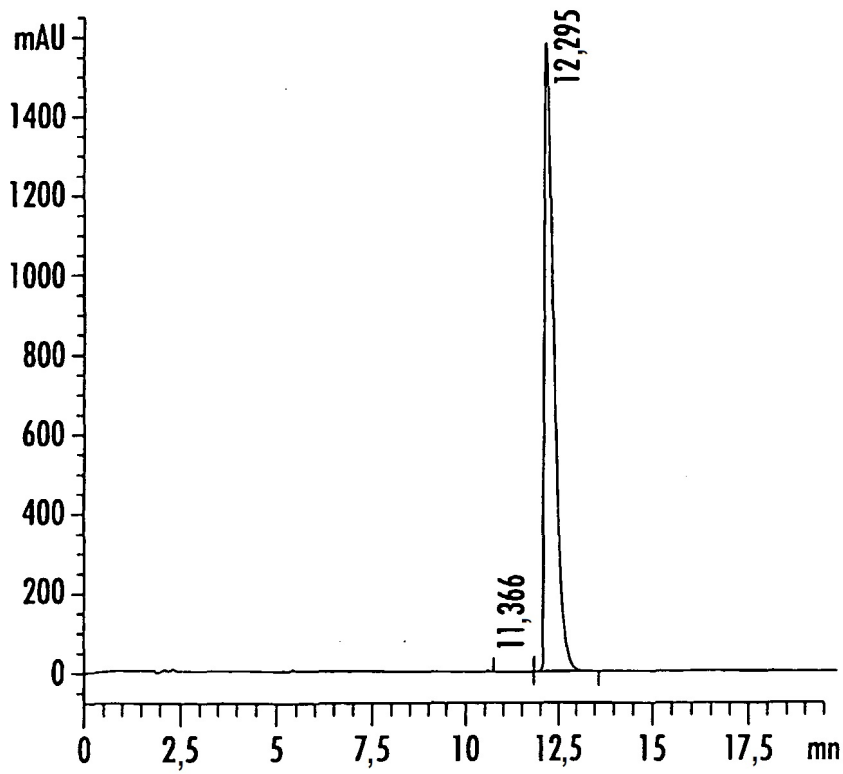


FIG. 9.

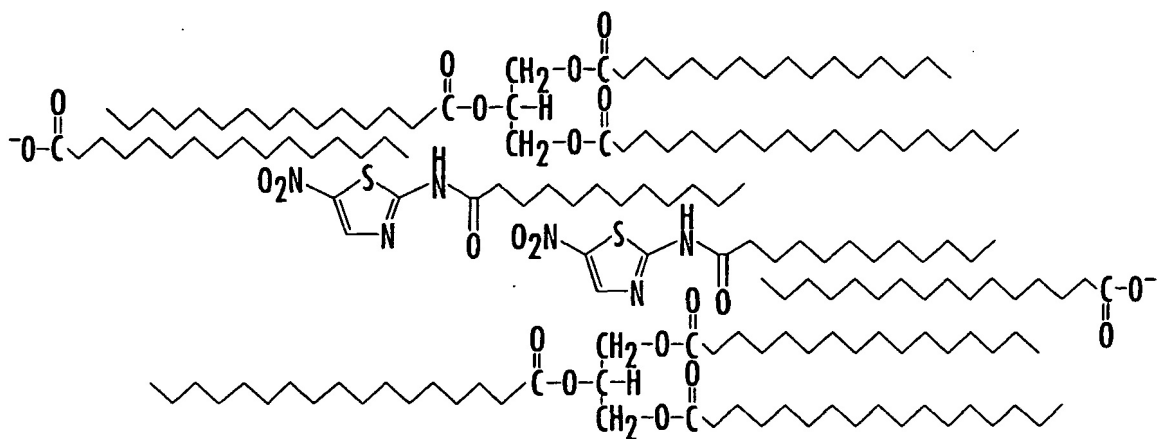


FIG. 10.