

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 433 678**

51 Int. Cl.:

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2000** **E 05009311 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2013** **EP 1582204**

54 Título: **Formulaciones farmacéuticas de equinocandina que contienen tensioactivos formadores de micelas**

30 Prioridad:

03.03.1999 US 122623 P

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

12.12.2013

73 Titular/es:

**ELI LILLY & COMPANY (100.0%)
LILLY CORPORATE CENTER
INDIANAPOLIS, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**MILTON, NATHANIAL;
MODER, KENNETH PHILIP;
SABATOWSKI, JAMES LAWRENCE y
SWEETANA, STEPHANIE ANN**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 433 678 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

Formulaciones farmacéuticas de equinocandina que contienen tensioactivos formadores de micelas.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a formulaciones farmacéuticas que contienen un compuesto de equinocandina, en particular, a la incorporación de tensioactivos formadores de micelas para potenciar la estabilidad y la solubilidad en agua.

Antecedentes de la invención

10 Las formulaciones parenterales (ip) de fármacos farmacéuticos se pueden administrar a pacientes mediante metodología intramuscular (im), intravenosa (iv) o subcutánea. La formulación que se desarrolla para un fármaco particular depende de una variedad de cuestiones. Por ejemplo, se sabe bien en la técnica que una formulación debe ser soluble en agua y estable. Si está liofilizada, la formulación debe ser capaz de formar una torta bien formada y poder reconstituirse fácilmente (normalmente en menos de 1 minuto). Finalmente, la formulación debe tener un aspecto aceptable y prepararse a partir de excipiente seguros generalmente aceptados.

15 La estabilidad es una consideración importante cuando se diseña una formulación, en especial para aplicaciones ip. Por razones prácticas, se debe poder almacenar la formulación durante al menos 2 años. Por lo tanto, a menudo es conveniente liofilizar la formulación para conseguir una mejor vida en anaquel y almacenamiento a temperatura ambiente.

20 La inestabilidad y poca solubilidad en agua (<0,1 mg/ml) de los compuestos de equinocandinas, los hacen particularmente difíciles de formular. La mayoría de las formulaciones ensayadas hasta la fecha tienen una vida en anaquel menor de 1 año. En general, se requiere una vida en anaquel de dos años o más. Por consiguiente, una formulación que contiene un compuesto de equinocandina puede requerir liofilización para lograr la estabilidad necesaria.

25 La poca solubilidad en agua de los compuestos de equinocandinas proporciona otro reto en la formulación de una formulación ip que contiene materiales activos de equinocandinas. Un método de formulación de dichos compuestos es por la adición de un tensioactivo que potencia la solubilidad del fármaco. Sin embargo, se conoce en general en la técnica que el uso de un tensioactivo por encima de una determinada concentración en general limita la capacidad de liofilización de la formulación. Una formulación liofilizada típica tiene una concentración de tensioactivo menor de 5% en peso. De acuerdo con un estudio de mercado de formulaciones farmacéuticas liofilizadas que contienen tensioactivos, la concentración de tensioactivo normalmente es menor de 5% en peso del producto liofilizado. Véase, Carpenter et al., *Pharm. Res.*, 14 (8), 969-975, 1977 to 1997, Physicians Desk Reference. 50th edition, Medical Economics, Co. NJ (1996). Se cree en general que una formulación con concentraciones mayores de tensioactivo no es probable que forme un producto liofilizado con características deseables. Específicamente, la presencia de tensioactivo hace que la torta liofilizada "colapse" dando como resultado un residuo en el fondo del vial en lugar de una torta bien formada. El residuo en general es menos estable, difícil de reconstituir y no reproducible.

35 Debido a la poca solubilidad en agua de los compuestos de equinocandinas, en general se requiere 2-4% (en peso por volumen) de un tensioactivo para obtener una concentración aceptable del compuesto de equinocandina en disolución. Como se ha discutido antes, la liofilización está dificultada con este nivel de tensioactivo. Por lo tanto, es necesaria una formulación que mejore la solubilidad de los compuestos de equinocandinas en agua, pero que permita la liofilización para obtener una estabilidad óptima.

40

El documento EP- A-561639 describe agentes antifúngicos peptídicos cíclicos y procedimientos para su preparación.

Resumen de la invención

45 Los autores de la invención han descubierto un grupo de tensioactivos que solubilizan compuestos de equinocandinas en altas concentraciones y sorprendentemente retienen la capacidad de liofilización de la formulación. La presente invención proporciona una formulación liofilizada que comprende:

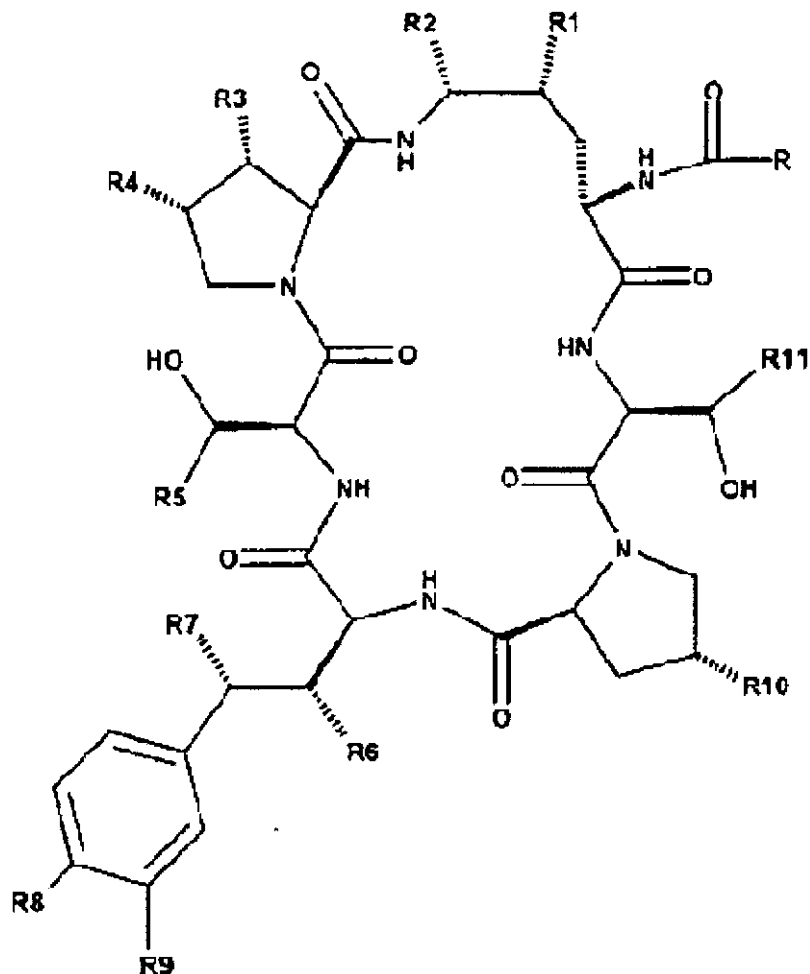
(i) un compuesto de equinocandina, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable;

(ii) un tensioactivo formador de micelas farmacéuticamente aceptable que es polisorbato 80, polisorbato 40 o polisorbato 20 en una cantidad mayor de 5% en peso de la formulación; en donde la relación en peso de (i) a (ii) es de 1:1,75 a 1:25; y

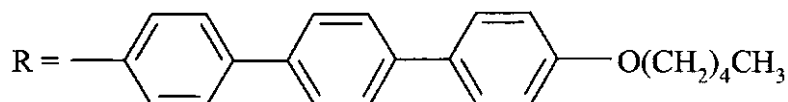
50 (iii) un agente de carga que es manitol;

(iv) un tampón que es ácido tartárico;

en donde dicho compuesto de equinocandina se representa por la siguiente estructura:



en donde:



5 R₁, R₂, R₃, R₆, R₇ y R₁₀ son hidroxi;

R₄ es metilo;

R₅ y R₁₁ son metilo;

R₈ es -OH;

R₉, es -H; y

10 sales del mismo farmacéuticamente aceptables.

La presente invención también proporciona un procedimiento para hacer esta formulación liofilizada, comprendiendo el procedimiento, en el siguiente orden, las etapas de:

15 (i) disolver en un disolvente acuoso un compuesto de equinocandina como se ha definido antes o un complejo de equinocandina/hidrato de carbono que contiene dicho compuesto de equinocandina, en presencia del tensioactivo formador de micelas farmacéuticamente aceptable, en donde dicho tensioactivo está presente en una cantidad mayor de 1% en peso por volumen de disolución,

(ii) esterilizar por filtración dicha disolución; y

(iii) liofilizar dicha disolución.

en donde el agente de carga y el tampón se añaden antes de la etapa (iii).

Opcionalmente, se pueden añadir uno o más agentes estabilizantes, agentes de tonicidad o combinaciones de los mismos, antes de la etapa (iii) de liofilización.

5 La presente invención también proporciona un procedimiento para preparar una formulación parenteral que comprende preparar una formulación liofilizada por un procedimiento como se ha definido antes y reconstituir la formulación liofilizada en un disolvente no tóxico.

10 La formulación de la disolución farmacéutica puede contener opcionalmente un agente de tonicidad. La relación en peso de equinocandina a tensioactivo es de 1:1,75 a 1:25 (más preferiblemente una relación de 1:2 a 1:3) y el compuesto de equinocandina está presente en una cantidad mayor o igual a 1 mg/ml. El tensioactivo en general está presente en una cantidad mayor de 1% en peso por volumen.

En la formulación farmacéutica liofilizada, el tensioactivo formador de micelas está presente en una cantidad mayor de 5% en peso en el producto liofilizado, y la relación de equinocandina a tensioactivo es de 1:1,75 a 1:25 (preferiblemente una relación de 1:2 a 1:3). La formulación farmacéutica liofilizada contiene un tampón.

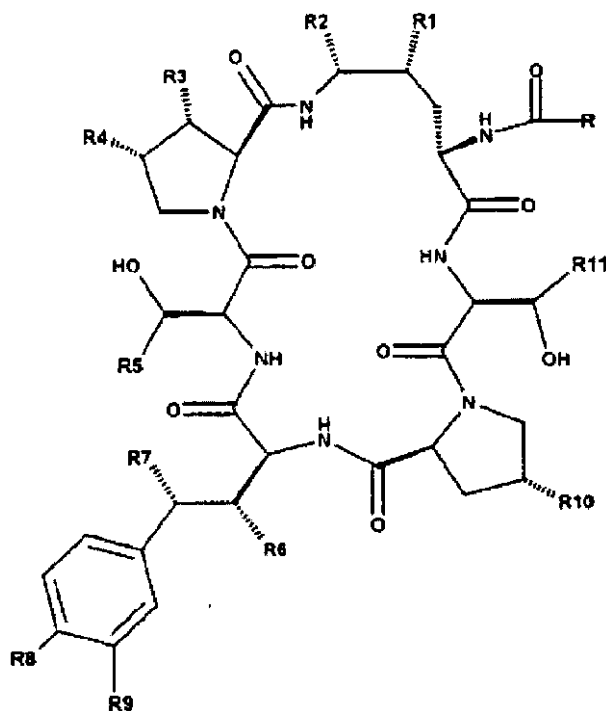
15 También se proporciona una preparación alternativa para una formulación liofilizada que comprende (i) tamponar un disolvente acuoso no tóxico a un pH entre 4,0 y 5,0 para formar una disolución tamponada; (ii) añadir a la disolución tamponada el tensioactivo formador de micelas, farmacéuticamente aceptable; (iii) enfriar la disolución de la etapa (ii) a una temperatura entre 5° y 15°C (preferiblemente entre 7°C y 10°C) para formar una disolución enfriada; (iv) añadir una suspensión que comprende un compuesto de equinocandina o complejo de equinocandina/hidrato de carbono y un segundo disolvente acuoso no tóxico a la disolución enfriada; (v) esterilizar por filtración dicha disolución de la etapa (iv); y (vi) liofilizar dicha disolución de la etapa (v). Se pueden añadir opcionalmente uno o más
20 agentes de carga, agentes estabilizantes y/o agentes de tonicidad, antes de la esterilización por filtración.

Otra realización de la presente invención es una formulación liofilizada como se ha descrito antes para usar en el tratamiento de una infección fúngica en un mamífero.

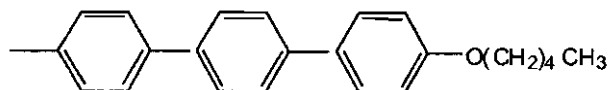
25 Otra realización de la presente invención es el uso de una formulación liofilizada como se ha descrito antes en la fabricación de un medicamento para tratar una infección fúngica en un mamífero.

En la presente memoria las cantidades y porcentajes se describen en unidades de peso salvo que se exponga lo contrario.

El término "equinocandina" se refiere a un compuesto que tiene la siguiente estructura general:



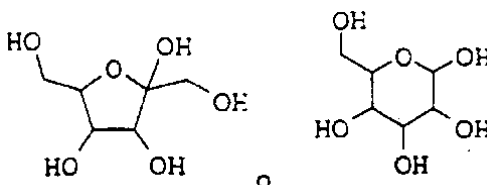
30 en donde R es



R₁, R₂, R₃, R₆, R₇ y R₁₀ son hidroxilo; R₄ es metilo; R₅ y R₁₁ son metilo; R₈ es -OH, y R₉, es -H.

"Complejo de equinocandina/hidrato de carbono" se refiere a un complejo cristalino formado entre un compuesto de equinocandina y un hidrato de carbono cuando la equinocandina se recrystaliza en un disolvente en presencia del hidrato de carbono. Se puede encontrar una descripción más detallada de los complejos de equinocandina/hidrato de carbono en Larew, et al., presentado el 3 de marzo, 1999 titulado "Echinocandin/Carbohydrate Complexes."

"Hidratos de carbono" se refiere a un derivado aldehídico o cetónico de alcoholes polihídricos representados por las fórmulas C_n(H₂O)_n (p. ej., glucosa, C₆(H₂O)₆; sacarosa, C₁₂(H₂O)₁₁). Los hidratos de carbono incluyen compuestos con moléculas relativamente pequeñas, tales como azúcares simples (p. ej., monosacáridos, disacáridos, etc.), así como sustancias macromoleculares (poliméricas) tales como almidón, glucógeno y polisacáridos de celulosa. Los azúcares son hidratos de carbono (sacáridos) que tienen la composición general (CH₂O)_n y derivados simples de la misma. Aunque los azúcares monoméricos simples (hexosas) se describen como polihidroxi-aldehídos o cetonas, p. ej., HOCH₂-(CHOH)₄-CHO para aldohexosas (p. ej., glucosa) o HOCH₂-(CHOH)₃-CO-CH₂OH para 2-cetosas (p. ej., fructosa), las estructuras normalmente se escriben como éteres cíclicos de anillos de 5 (furanosa) o 6 (piranosa) miembros, p. ej.,



La expresión "tensioactivo formador de micelas" se refiere a un material anfílico que forma de manera espontánea y reversible un agregado soluble en agua. Para una descripción más detallada de la formación de micelas y una lista de los tensioactivos formadores de micelas, véase Attwood et al. *Surfactant Systems, Their Chemistry, Pharmacy and Biology*, Chapman and Hall (1983). Los copolímeros de bloques de óxido de propileno y óxido de etileno no se comportan bien en las formulaciones de la presente invención; por lo tanto, estos copolímeros de bloques no se consideran dentro del significado de tensioactivos formadores de micelas.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" cuando se usa en la presente memoria como un adjetivo, significa sustancialmente no tóxico y sustancialmente no perjudicial para el receptor.

Descripción detallada

Los péptidos cíclicos usados en la presente invención se pueden producir cultivando diferentes microorganismos. Los materiales de partida productos naturales adecuados que pertenecen a la familia de péptidos cíclicos equinocandinas incluyen equinocandina B, equinocandina C, equinocandina D, aculeacina A_v, mulundocandina, esporiofungina A, pneumocandina A₀, WF11899A, y pneumocandina B₀. En general, los péptidos cíclicos se pueden caracterizar como núcleos de hexapéptidos cíclicos con un grupo amino acilado en uno de los aminoácidos. El grupo amino en el péptido cíclico natural típicamente está acilado con un grupo ácido graso que forma una cadena lateral fuera del núcleo. Los ejemplos de grupos acilo naturales incluyen linoleoilo (equinocandina B, C y D), palmitoilo (aculeacina A_v y WF11899A), estearoilo, 12-metilmiristoilo (mulundocandina), 10,12-dimetilmiristoilo (esporiofungina A y pneumocandina A₀) y similares.

Los derivados semisintéticos se pueden preparar eliminando la cadena de ácido graso del núcleo del péptido cíclico para producir un grupo amino libre (es decir, sin grupo acilo colgante C(O)R). Después, la amina libre se vuelve a acilar con un grupo acilo adecuado. Por ejemplo, el núcleo de equinocandina B se ha vuelto a acilar con determinados restos de cadenas laterales no naturales para proporcionar una serie de agentes antifúngicos. Véase, la patente de EE.UU. n° 4.293.489.

Como se ha indicado antes, los péptidos cíclicos descritos en la presente memoria se pueden preparar por fermentación de microorganismos conocidos como se describe en la técnica. La posterior desacilación normalmente se lleva a cabo de forma enzimática usando una enzima desacilasa mediante materiales y procedimientos descritos en la técnica.

Por ejemplo, la patente de EE.UU. n° 3.293.482 describe la desacilación y preparación del péptido cíclico de fórmula I, en donde R₄, R₅ y R₁₁ son metilo, R₉ es hidrógeno, y R₁, R₂, R₃, R₆, R₇, R₈ y R₁₀ son cada uno hidroxilo. La patente de EE.UU. n° 4.299.763 describe la desacilación y preparación del péptido cíclico de fórmula I, en donde R₄, R₅ y R₁₁ son metilo, R₂ es hidroxilo, R₇ y R₉ son hidrógeno y R₁, R₃, R₆, R₈ y R₁₀ son cada uno hidroxilo. La patente de EE.UU. n° 3.978.210 describe la preparación de aculeacina. La patente de EE.UU. n° 4.304.716 describe la desacilación y

preparación del péptido cíclico de fórmula I, en donde R_5 es $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; R_{11} es metilo; R_4 y R_9 son hidrógeno; R_1 , R_2 , R_3 , R_6 , R_7 , R_8 y R_{10} son cada uno hidroxilo y el grupo acilo con sustituyente R es miristoilo.

Los péptidos cíclicos donde R_2 y R_7 son cada uno hidrógeno, se pueden preparar sometiendo el correspondiente compuesto (donde R_2 y R_7 son cada uno hidroxilo; el grupo alfa-amino de la ornitina puede ser un grupo amino libre o acilado) a un ácido fuerte y un agente de reducción a una temperatura entre -5°C y 70°C , en un disolvente adecuado. Los ácidos fuertes adecuados incluyen ácido tricloroacético, ácido trifluoroacético o éterato de trifluoruro de boro. Un ácido fuerte preferido es el ácido trifluoroacético. Los agentes de reducción adecuados incluyen cianoborohidruro sódico o trietilsilano. Un agente de reducción preferido es el trietilsilano. Los disolventes adecuados incluyen cloruro de metileno, cloroformo o ácido acético, preferiblemente cloruro de metileno. El ácido fuerte está presente en una cantidad de aproximadamente 2 a 60 moles por mol de sustrato, y el agente de reducción está presente en una cantidad de aproximadamente 2 a 60 moles por mol de sustrato. El procedimiento de reducción de ácido elimina selectivamente los grupos hidroxilo aminorales (R_2) y bencílico (R_7).

La acilación del grupo α -amino en la unidad de ornitina se puede llevar a cabo por una variedad de formas bien conocidas para el experto en la técnica. Por ejemplo, el grupo amino se puede acilar por reacción con un haluro de acilo adecuadamente sustituido, preferiblemente en presencia de un depurador de ácido tal como una amina terciaria (p. ej., trietilamina). La reacción se lleva a cabo típicamente a una temperatura entre -20°C a 25°C . Los disolventes de reacción adecuados incluyen disolventes polares apróticos, tales como dioxano o dimetilformamida. La elección del disolvente no es crítica siempre que el disolvente usado sea inerte para la reacción en desarrollo y los reaccionantes sean suficientemente solubilizados para realizar la reacción deseada.

El grupo amino también se puede acilar por reacción con un ácido carboxílico sustituido de forma adecuada, en presencia de un agente de acoplamiento. Los agentes de acoplamiento adecuados incluyen diciclohexilcarbodiimida (DCC), N,N'-carbonildiimidazol, cloruro del ácido bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico (BOP-C1), N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tripirrolidinofosfonio (PyBOP) y similares.

Alternativamente, el grupo amino se puede acilar con un éster activado de un ácido carboxílico tales como ésteres carboxilatos de p-nitrofenilo, 2,4,5-triclorofenilo, hidroxibenzotriazol hidrato ($\text{HOBt} \cdot \text{H}_2\text{O}$), pentafluorofenol y N-hidroxisuccinimida. Los restos acilantes preferidos son los ésteres carboxilatos de 2,4,5-triclorofenilo y HOBt. La reacción típicamente se lleva a cabo de 1 a 65 horas a una temperatura de aproximadamente 0°C a 30°C en un disolvente aprótico. La reacción en general se completa después de aproximadamente 24 a 48 h cuando se lleva a cabo a una temperatura entre aproximadamente 15°C a 30°C . Los disolventes adecuados incluyen tetrahidrofurano y dimetilformamida y mezclas de los mismos. El grupo amino en general está presente en proporciones equimolares con respecto al éster activado o con un ligero exceso del grupo amino.

Los ácidos precursores $\text{R}-\text{COOH}$ se preparan por hidrólisis de un nitrilo de fórmula $\text{R}-\text{CN}$ o un éster de fórmula $\text{R}-\text{COO}(\text{alquilo } \text{C}_1-\text{C}_4)$. El nitrilo y el éster intermedios se pueden preparar usando procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, el nitrilo y éster intermedios donde R es un resto alcoxiarilo se pueden preparar usando el procedimiento A o procedimiento B.

Procedimiento A: Se añade 1 equivalente de un bromuro, yoduro o p-toluenosulfonato de alquilo a una mezcla que contiene 1 equivalente de una base, tal como t-butoxido potásico o carbonato potásico (K_2CO_3), y 1 equivalente de un compuesto hidroxiarilo en 200-300 ml de acetonitrilo (CH_3CN). La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 6 h y después se concentra a vacío para proporcionar un residuo que se disuelve en una mezcla de $\text{Et}_2\text{O}/\text{NaOH}$ 2 N. Las capas resultantes se separan y la capa orgánica se seca sobre sulfato magnésico (MgSO_4), se filtra y se seca para proporcionar el producto alcoxiarilo.

Procedimiento B: Se añade gota a gota azodicarboxilato de dietilo (1 equiv.) a una mezcla que contiene un compuesto hidroxiarilo (1 equiv.), un alcohol alquílico (1 equiv.) y trifenilfosfina (1 equiv.) en 200-300 ml de THF. Después de 17 h, se separa el disolvente a vacío para proporcionar un residuo que se disuelve en Et_2O . La mezcla resultante se lava con disolución de NaOH 2 N, se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra para proporcionar un producto que después se cristaliza en una mezcla de Et_2O /pentano o, si el producto contiene una amina terciaria, se forma la sal de hidrocloreto y se cristaliza en una mezcla de metanol (MeOH)/ EtOAc . El nitrilo y el éster intermedios donde R es un resto alquililarilo se pueden preparar usando el procedimiento C.

Procedimiento C: Una mezcla que contiene Et_2O (2 equiv.), dicloruro de paladio (0,05 equiv.), trifenilfosfina (0,1 equiv.), yoduro cuproso (0,025 equiv.) y un alquino (1 equiv.), se añade a 1 equivalente de un bromuro, yoduro o trifluorometanosulfonato de arilo en CH_3CN (600 ml/0,1 mol de reaccionante arilo) en atmósfera de nitrógeno (N_2). La mezcla resultante después se calienta a reflujo durante 17 h y después el disolvente se separa a vacío para proporcionar un residuo que se suspende en 300 ml de Et_2O y después se filtra. El filtrado se lava con una disolución de HCl 1 N, se seca sobre MgSO_4 , se filtra y después se seca para proporcionar el producto. Los ésteres intermedios donde R es un resto terfenilo se pueden preparar usando el procedimiento D.

Procedimiento D

1. Formación del reaccionante de ácido borónico

Se añade butil-litio (1,2 equiv.) a 1 equivalente de un haluro de arilo en THF frío (-78°C). Después de 15 min, se añade borato de triisopropilo (2 equiv.). Después de 10 min, la mezcla de reacción se calienta a temperatura ambiente y se inactiva por adición de agua (H₂O), seguido de la adición de HCl 1 N. Las capas resultantes se separan y la capa orgánica se concentra a vacío para proporcionar un sólido que se recoge por filtración y se lava con hexano.

2. Formación del éster de terfenilo

Se añade tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0,03 equiv.) a una mezcla que contiene un ácido arilborónico (1 equiv.), K₂CO₃ (1,5 equiv.) y 4-yodobenzoato de metilo (1 equiv.) (o éster triclorofenílico de yodobenzoato) en tolueno purgado con N₂. La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 7 h y después se decanta para separar el K₂CO₃ y se seca a vacío para proporcionar un residuo. El residuo se tritura en CH₃CN y se filtra para proporcionar el producto. Los aril-nitrilos y ésteres descritos antes se pueden convertir en los correspondientes ácidos carboxílicos usando el procedimiento E o procedimiento F.

Procedimiento E: Se disuelve un aril-nitrilo en etanol (EtOH) y un exceso de disolución de NaOH al 50% y se calienta a reflujo durante 2 h. Se añade agua a la mezcla de reacción hasta que precipita un sólido. Este sólido se recoge por filtración, se añade a una mezcla de dioxano/HCl 6 N y la mezcla resultante se calienta a reflujo durante 17 h. Cuando la reacción se ha completado sustancialmente, el producto ácido carboxílico se cristaliza por adición de H₂O y después se recoge por filtración y se seca a vacío.

Procedimiento F: Se añade un exceso de NaOH 2 N a un éster de arilo en MeOH, y la disolución resultante se calienta a reflujo durante 5 h y después se acidifica por adición de HCl en exceso. Se añade agua a la mezcla de reacción hasta que precipita un sólido (ácido carboxílico). El ácido carboxílico se recoge por filtración y se seca a vacío. Los ácidos carboxílicos se pueden convertir en los correspondientes ésteres de 2,4,5-triclorofenilo usando el procedimiento G, a continuación. Después, los ésteres activados se usan para acilar el núcleo amino.

Procedimiento G: Una mezcla que contiene un ácido aril-carboxílico (1 equiv.), 2,4,5-triclorofenol (1 equiv.) y DCC (1 equiv.) en CH₂Cl₂ se agita durante 17 h y después se filtra. El filtrado se concentra para proporcionar un residuo que se disuelve en Et₂O, se filtra y después se añade pentano hasta que empieza la cristalización. Los cristales se recogen por filtración y se secan a vacío. Alternativamente, el ácido carboxílico se puede activar por conversión del correspondiente éster de hidroxibenzotriazol usando el procedimiento H.

Procedimiento H

Se hicieron reaccionar un ácido aril-carboxílico (1 equiv.) y un ligero exceso de hidroxibenzotriazol sustituido con N-mesilato (1,2 equiv.), en presencia de un ligero exceso de una base tal como trietilamina (Et₃N) (1,3 equiv.) en DMF, en atmósfera de N₂. Cuando la reacción se completó, la mezcla se diluyó con tolueno y se lavó con H₂O. La parte orgánica se diluyó con H₂O y después se filtró usando éter de *t*-butilo y metilo (MTBE) para la transferencia del material. El sólido resultante se lavó con MTBE y después se secó a vacío.

El compuesto de equinocandina se puede aislar y usar como está o en forma de su sal o hidrato farmacéuticamente aceptable, o como un complejo de equinocandina/hidrato de carbono. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales de adición de ácido no tóxicas derivadas de ácidos inorgánicos y orgánicos. Los derivados de sales adecuados incluyen haluros, tiocianatos, sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, arilsulfonatos, alquilsulfatos, fosfonatos, monohidrogenofosfatos, dihidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfonatos, alcanos, cicloalquilalcanos, arilalcanos, adipatos, alginatos, aspartatos, benzoatos, fumaratos, glucoheptanoatos, glicerofosfatos, lactatos, maleatos, nicotinatos, oxalatos, palmitatos, pectinatos, picratos, pivalatos, succinatos, tartaratos, citratos, alcanforatos, alcanforsulfonatos, digluconatos, trifluoroacetatos, y similares.

El "complejo de equinocandina/hidrato de carbono" se refiere a un complejo cristalino formado entre un compuesto de equinocandina y un hidrato de carbono (o azúcar) cuando la equinocandina se recrystaliza en un disolvente en presencia del hidrato de carbono. Se puede encontrar una descripción más detallada de los complejos de equinocandina/hidrato de carbono en Larew, et al., presentado el 3 de marzo, 1999 titulado "Echinocandin/Carbohydrate Complexes." Los complejos se forman usando procedimientos de cristalización convencionales tales como los que se llevan a cabo típicamente para purificar compuestos por recrystalización. El material de equinocandina y el hidrato de carbono se disuelven a una temperatura elevada (aproximadamente de 45 a 60°C, preferiblemente menos de 55°C) en un disolvente. Después la disolución se enfría lentamente hasta que empieza la cristalización. Se puede añadir un cristal semilla (tal como un complejo cristalizado previamente o un azúcar insoluble) para iniciar la cristalización. Los disolventes adecuados incluyen cualquier disolvente, o mezcla de disolventes, inerte para la reacción en desarrollo que solubilice suficientemente a los reaccionantes para proporcionar un medio en el que realizar la formación de complejo deseada entre el hidrato de carbono y el compuesto de equinocandina, tal como disolventes próticos o cetónicos incluyendo metanol, etanol, alcohol bencílico, así como mezclas de alcohol bencílico con disolventes tales como metanol, etanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, 2-butanol, *t*-butanol, 2-pentanol, 2-metil-1-propanol, MEK, acetona, acetato de etilo, tolueno, acetonitrilo, fluorobenceno, cloruro de metileno, nitrometano, o cetonas cíclicas tales como ciclopentanona y ciclohexanona. Los disolventes preferidos incluyen metanol, etanol, alcohol bencílico, y mezclas de alcohol bencílico

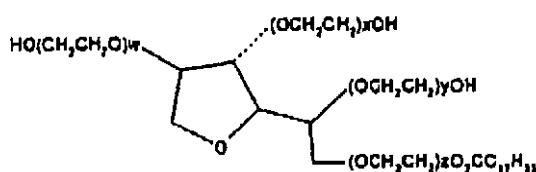
con metiletilcetona, acetato de etilo y acetonitrilo.

Los hidratos de carbono adecuados incluyen adonitol, arabinosa, arabitol, ácido ascórbico, quitina, D-celobiosa, 2-desoxi-D-ribosa, dulcitol, (S)-(+)-eritrosa, fructosa, fucosa, galactosa, glucosa, inositol, lactosa, lactulosa, lixosa, maltitol, maltosa, maltotriosa, manitol, manosa, melicitosa, melibiosa, celulosa microcristalina, palatinosa, pentaeritritol, rafinosa, ramnosa, ribosa, sorbitol, sorbosa, almidón, sacarosa, trealosa, xilitol, xilosa e hidratos de los mismos. Los hidratos de carbono adecuados también incluyen los enantiómeros D y L, así como los anómeros alfa y beta de los compuestos listados antes. Los hidratos de carbono preferidos son azúcares simples p. ej., mono y disacáridos).

El compuesto de equinocandina puede estar presente en una formulación antes de la liofilización en concentraciones mayores o iguales a 1 mg/ml. En general, el compuesto de equinocandina está presente en el intervalo de 1 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, preferiblemente en una concentración en el intervalo de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 40 mg/ml, más preferiblemente de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml y lo más preferiblemente de aproximadamente 8 mg/ml a aproximadamente 12 mg/ml.

Las formulaciones de la presente invención contienen un tensioactivo formador de micelas que es un excipiente anfifílico farmacéuticamente aceptable que tiene unidades o grupos hidrófobos e hidrófilos que son capaces de solubilizar en agua un fármaco no soluble en agua. Los valores de HLB de 10-18 son en general los más favorables para la solubilización de los compuestos de equinocandinas. El tensioactivo está presente en la formulación en una relación en peso de equinocandina a tensioactivo de aproximadamente 1:1,75 a aproximadamente 1:25, más preferiblemente en una relación de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:3. El límite superior de tensioactivo añadido a la formulación puede estar limitado por su toxicidad en la aplicación del medicamento farmacéutico; por lo tanto, el límite superior puede variar dependiendo del tensioactivo particular seleccionado. Los tensioactivos adecuados incluyen polisorbatos (p. ej., polisorbato 80, polisorbato 40, polisorbato 20). Los tensioactivos que no solubilizan bien incluyen algunos poloxámeros que son copolímeros de bloques de óxido de propileno y óxido de etileno.

"Polisorbato" se refiere a materiales que tienen la siguiente estructura general:



en donde $x+y+w+z$ es igual a un número entero entre 5 y 20.

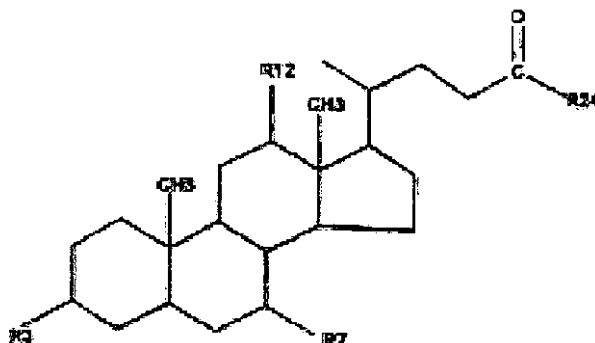
Los productos comerciales Tween™ 20, 40 y 80 (disponibles en ICI Americas Inc., Wilmington, DL) están representados por la estructura anterior cuando $x+y+w+z = 20$.

Una formulación de disolución típica incluye un compuesto de equinocandina, un tensioactivo formador de micelas, un agente de carga y un tampón. Los autores de la invención han observado que la incorporación del tensioactivo formador de micelas no solo optimiza la solubilización del compuesto de equinocandina sino que también potencia la estabilidad de la disolución. La formulación puede incluir opcionalmente uno o más de un agente estabilizante y/o un agente de tonicidad. Si la formulación está en forma de una disolución, entonces también está presente un disolvente. Los disolventes en general se seleccionan basándose en los disolventes reconocidos como seguros (GRAS) para administrar por vía parenteral a un mamífero. En general, los disolventes seguros son disolventes acuosos no tóxicos, tales como agua y otros disolventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Los disolventes adecuados incluyen agua, etanol, propilenglicol, polietilenglicoles (p. ej., PEG400, PEG300), etc., y mezclas de los mismos. Un disolvente preferido es el agua.

Una formulación liofilizada típica incluye un compuesto de equinocandina, un tensioactivo formador de micelas farmacéuticamente aceptable, un agente de carga y un agente de tamponamiento. Los autores de la invención han observado que la adición del tensioactivo formador de micelas no solo optimiza la reconstitución de la formulación liofilizada en un disolvente acuoso no tóxico, sino que también proporciona estabilidad potenciada a los materiales liofilizados.

Tanto las formulaciones en disolución como las liofilizadas pueden contener opcionalmente un agente estabilizante. Un agente estabilizante está presente en general en una concentración en el intervalo de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 40% (peso/volumen), más preferiblemente en una concentración en el intervalo de aproximadamente 1% a aproximadamente 6%. La expresión "agente estabilizante" se refiere a un excipiente farmacéuticamente aceptable que potencia la estabilidad química o física del principio activo en la formulación. Los agentes estabilizantes adecuados incluyen polioles (p. ej., polietilen-y polipropilenglicoles, e hidratos de carbono tales como sacarosa, trealosa, fructosa, lactosa y manitol), aminoácidos y tensioactivos tales como polisorbatos y

sales biliares. "Sales biliares" se refiere a materiales que tienen la siguiente estructura general:



donde R3, R7, y R12 son grupos -OH, -H o $-\text{SO}_3^-$ y R24 es -OH o una sal alcalina de $-\text{CO}_2^-$; $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_n\text{SO}_3^-$; o $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2^-$ y n es igual a un número entero entre 1 y 4.

Los agentes estabilizantes preferidos para la formulación liofilizada incluyen manitol, sacarosa, trealosa, fructosa, lactosa y combinaciones de los mismos.

Tanto las formulaciones en disolución como liofilizadas contienen un tampón. El tampón está presente en una concentración en el intervalo de 0,03% a 5,0% (peso/volumen), más preferiblemente en una concentración en el intervalo de 0,1% a 1,0%. El término "tampón" se refiere a un excipiente farmacéuticamente aceptable que mantiene el pH de la disolución dentro de un intervalo particular específico del sistema de tamponamiento. Un intervalo de pH adecuado es de pH 3,0-7,0. Preferiblemente, el intervalo de pH es de 4,0 a 5,5, más preferiblemente de 4,0-5,0.

Para la formulación liofilizada, el tampón es ácido tartárico.

Las formulaciones en disolución pueden contener opcionalmente uno o más agentes de tonicidad. El agente de tonicidad en general está presente en una concentración en el intervalo de 1 a 100 mg/ml, más preferiblemente en el intervalo de 9 a 50 mg/ml. La expresión "agente de tonicidad" se refiere a un excipiente farmacéuticamente aceptable que hace a la disolución compatible con la sangre. Los agentes de tonicidad son convenientes en formulaciones inyectables. Los agentes de tonicidad incluyen glicerina lactosa, manitol, dextrosa, cloruro sódico, sulfato sódico, sorbitol y similares. Los agentes de tonicidad preferidos incluyen manitol, sorbitol, lactosa y cloruro sódico y combinaciones de los mismos.

Cuando se liofilizan, las formulaciones contienen un agente de carga. Preferiblemente, el agente de carga está presente en una formulación en una concentración en el intervalo de 2% a 10% (peso/volumen), más preferiblemente en una concentración en el intervalo de 3% a aproximadamente 6%. La expresión "agente de carga" se refiere a un excipiente farmacéuticamente aceptable que añade carga a una formulación que da como resultado una torta bien formada tras la liofilización.

El agente de carga es el manitol.

Las formulaciones se pueden preparar usando procedimientos de disolución y mezcla convencionales. Por ejemplo, el fármaco a granel (p. ej., compuesto de equinocandina o complejo de equinocandina/hidrato de carbono) se disuelve en un disolvente acuoso no tóxico, en presencia de un tensioactivo formador de micelas farmacéuticamente aceptable, el agente de carga y tampón y opcionalmente uno o más agentes estabilizantes y/o agentes de tonicidad. La disolución resultante después se esteriliza por filtración y se liofiliza para proporcionar la formulación deseada. Antes de liofilización, en general el tensioactivo está presente en una cantidad mayor de 1% en peso por volumen de disolución.

Alternativamente, la disolución farmacéutica se puede preparar formando una disolución acuosa tampón, tamponada a un pH de aproximadamente 3,0 a 7,0 (preferiblemente de 4,0 a 5,5, más preferiblemente de aproximadamente 4,0 a 5,0). El tampón usado puede ser cualquiera de los tampones descritos antes. Después se añade el tensioactivo formador de micelas a la disolución tamponada y la disolución se enfría de aproximadamente 5° a 15°C (preferiblemente 7° a 10°C). Se añade una suspensión del compuesto de equinocandina o complejo de equinocandina/hidrato de carbono en un disolvente acuoso no tóxico (que puede ser el mismo o no que el disolvente usado en la disolución tampón) a la disolución enfriada que contiene el tensioactivo. El agente de carga se añade a la disolución antes de liofilizar. Se pueden añadir uno o más agentes estabilizantes y/o agentes de tonicidad a la disolución antes de liofilización. Después, la disolución resultante se diluye con adición de disolvente, se filtra y se liofiliza para proporcionar la formulación deseada.

Se describe un método adecuado para la liofilización en Nail et al. *Freeze Drying Principles and Practice*, in

Pharmaceutical Dosage Forms, 2nd Ed., Marcel Dekker, Inc. NY, pp. 163-233 (1993). La formulación preferiblemente se liofiliza en un vial que después se puede almacenar hasta que sea necesaria. Se añade un disolvente acuoso no tóxico al vial para disolver el material liofilizado formando así una disolución que se puede usar en una aplicación terapéutica parenteral. Los expertos en la técnica apreciarán que el disolvente acuoso incluye otras disoluciones comunes usadas en dichas aplicaciones (p. ej., disoluciones salinas, disoluciones de dextrosa, etc.).

En general, las formulaciones liofilizadas contienen un agente de carga y las formulaciones no liofilizadas contienen uno o más agentes de tonicidad. En la aplicación, las formulaciones típicamente se diluyen o reconstituyen (si está liofilizada) y después se diluyen si es necesario, antes de la administración. Un ejemplo de instrucciones de reconstitución para el producto liofilizado es añadir 10 ml de agua para inyección (API) al vial y agitar suavemente para disolver. Los tiempos de reconstitución típicos son menos de 1 min. La disolución resultante después se diluye más en una disolución de infusión tal como dextrosa al 5% en agua (D5W), antes de la administración.

El principio activo típicamente se formula en formas farmacéuticas para proporcionar una dosificación fácilmente controlable del fármaco y dar al paciente un producto fácilmente manejable y elegante. Las formulaciones pueden contener de 0,1% a 60% en peso del principio activo, más generalmente de aproximadamente 10% a aproximadamente 30% en peso.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "dosis unitaria" o "dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas que contienen una cantidad predeterminada de principio activo calculado para producir un efecto terapéutico deseado. Cuando una dosis unitaria se administra por vía parenteral, típicamente se proporciona en forma de unidades medidas en ampollas (o viales).

La dosificación que se va a administrar puede variar dependiendo de las características físicas del paciente, la gravedad de los síntomas del paciente, y los medios usados para administrar el fármaco. La dosis específica para un paciente dado normalmente se ajusta según el criterio del médico que atiende.

Los vehículos, diluyentes y excipientes adecuados se conocen en la técnica e incluyen materiales tales como hidratos de carbono, ceras, polímeros solubles en agua y/o que se hinchan en agua, materiales hidrófilos o hidrófobos, gelatina, aceites, disolventes, agua y similares. El vehículo, diluyente o excipiente particular usado dependerá del medio y el propósito para el que se aplica el principio activo. Las formulaciones también pueden incluir agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes de sabor y combinaciones de los mismos.

Una composición farmacéutica se puede administrar usando una variedad de métodos. Los métodos adecuados incluyen la inyección. El método de tratamiento particular usado dependerá del tipo de infección a la que se dirige.

Se ha mostrado que la equinocandina y compuestos de equinocandina semisintéticos presentan actividad antifúngica y antiparasitaria tal como inhibición del crecimiento de diferentes hongos infecciosos incluyendo *Candida* spp. (es decir, *C. Albicans*, *C. Parapsilosis*, *C. Krusei*, *C. Glabrata*, *C. Tropicalis*, o *C. Lusitaniaw*); *Torulopus* spp. (es decir, *T. Glabrata*); *Aspergillus* spp. (es decir, *A. Fumigatus*); *Histoplasma* spp. (es decir, *H. Capsulatum*); *Cryptococcus* spp. (es decir, *C. Neoformans*); *Blastomyces* spp. (es decir, *B. Dermatitidis*); *Fusarium* spp.; *Trichophyton* spp., *Pseudallescheria boydii*, *Coccidioides immitis*, *Sporothrix schenckii*, etc.

Los compuestos de este tipo también inhiben el crecimiento de determinados organismos responsables principalmente de infecciones oportunistas en individuos inmunodeprimidos, tales como inhibición del crecimiento de *Pneumocystis carinii* (el organismo causante de la neumonía por *pneumocystis* (PCP) en el SIDA y otros pacientes inmunocomprometidos). Otros protozoos que son inhibidos por los compuestos de tipo equinocandina incluyen *Plasmodium* spp., *Leishmania* spp., *Trypanosoma* spp., *Cryptosporidium* spp., *Isospora* spp., *Cyclospora* spp., *Trichomonas* spp., *Microsporidiosis* spp., etc.

Por consiguiente, las formulaciones de la presente invención son útiles para combatir infecciones fúngicas sistémicas o infecciones fúngicas de la piel. Por consiguiente, los procedimientos y formulaciones de la presente invención se pueden usar en la fabricación de un medicamento para las aplicaciones terapéuticas descritas en la presente memoria. Por ejemplo, la actividad antifúngica (preferiblemente, actividad de *Candida albicans* o *Aspergillus fumigatis*) o la actividad parasitaria se pueden inhibir poniendo en contacto una formulación farmacéutica preparada por la presente invención con un hongo o parásito, respectivamente. La expresión "poner en contacto" incluye la unión, o el contacto aparente o tangencia mutua de un compuesto de la invención con un parásito u hongo. La expresión no implica ninguna limitación adicional al procedimiento, tal como por mecanismo de inhibición. Los métodos se definen para abarcar la inhibición de la actividad parásita y fúngica por acción de los compuestos y sus propiedades antiparasitarias o antifúngicas inherentes.

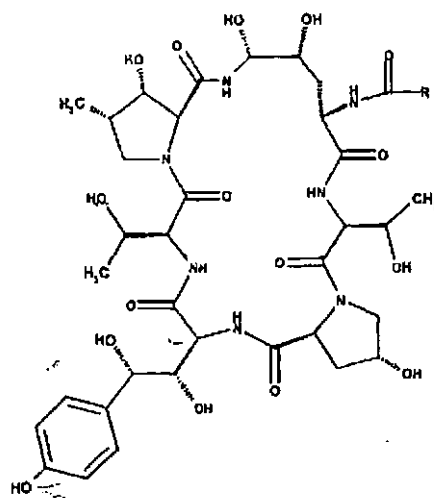
También se proporciona el uso de una formulación farmacéutica de la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección fúngica. Un uso preferido incluye tratar una infección por *Candida albicans* o *Aspergillus fumigatis*. La dosis administrada variará dependiendo de factores tales como la naturaleza y gravedad de la infección, la edad y salud general del hospedante y la tolerancia del hospedante al agente antifúngico. El régimen de dosis particular puede variar también según estos factores. El medicamento se puede dar

en una sola dosis diaria o en múltiples dosis durante el día. El régimen puede durar de aproximadamente 2-3 días a aproximadamente 2-3 semanas o más. Una dosis diaria típica (administrada en una sola dosis o dosis divididas) contiene un nivel de dosificación entre aproximadamente 0,01 mg/kg y 100 mg/kg de peso corporal de un compuesto activo. Las dosis diarias preferidas en general son entre aproximadamente 0,1 mg/kg y 60 mg/kg y más preferiblemente entre aproximadamente 2,5 mg/kg y 40 mg/kg.

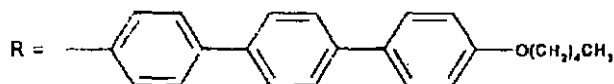
Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar, pero no limitan la invención.

Ejemplos

El compuesto de equinocandina usado para ilustrar las formulaciones de la presente invención se prepararon como se describe en las siguientes preparaciones. Específicamente, la siguiente secuencia describe la preparación del compuesto antifúngico (6a) que tiene la siguiente estructura:



6 (a)



Los materiales usados en las siguientes preparaciones están disponibles en Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wisconsin) salvo que se indique otra cosa.

15 Preparaciones de compuestos

Preparación de 4-bromo-4'-pentiloxibifenilo 1(a)

Se añadió K_2CO_3 anhidro (416 g, 3 mol) a una mezcla de 4-bromo-4'-hidroxibifenilo (300 g, 1,2 mol), 1-yodopentano (234 ml, 1,79 mol) y 2-butanona (600 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 44 h hasta que la TLC (hexanos/EtOAc 85:15) mostró el consumo completo del bromoalcohol. La mezcla se enfrió a aproximadamente 30°C, se diluyó con CH_2Cl_2 (600 ml) y después se filtró. El filtrado se lavó dos veces con H_2O y dos veces con una disolución acuosa saturada de NaCl, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y después se secó a presión reducida para proporcionar un sólido. Este sólido se aisló por filtración, se lavó repetidamente con un total de 2 litros de heptano enfriado con hielo para separar los restos de yodopentano y después se secó durante la noche con alto vacío. Rendimiento: 340 g (88%) en forma de un polvo blanco.

25 Preparación alternativa de 4-bromo-4'-pentiloxibifenilo 1(a):

Se añadió 4-bromo-4'-hidroxibifenilo (12,5 g, 50,2 mmol) a una disolución de NaOH (2,28 g, 97% puro, 55,2 mmol) en H_2O desionizada (150 ml), seguido de la adición de 1-yodopentano (11,9 g, 60,2 mmol) y bromuro de tetrabutilamonio (0,82 g, 2,51 mmol). La mezcla se agitó a 90°C durante 3,75 h hasta que los sólidos quedaron en disolución. Después, al avanzar la reacción, el producto deseado empezó a precipitar. La mezcla se enfrió lentamente y después se filtró para proporcionar un sólido que se lavó con agua desionizada hasta que el pH del filtrado era neutro, y después se secó durante 16 h en un horno a vacío a 30°C.

Rendimiento: 15,41 g (96%) de 5a. Rf 0,5 (hexanos/EtOAc 97:3). RMN 1H : δ 0,93 (t, 3H, J=6,9 Hz); 1,41 (m, 4H);

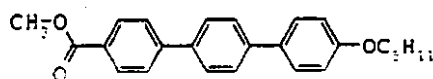
1,79 (m, 2H); 3,97 (t, 2H, J= 6,6 Hz); 6,98 (m, 2H); 7,23 (m, 6H). RMN ^{13}C : δ 14,03; 22,43; 28,22; 28,98; 68,12; 114,91; 120,71; 127,93; 128,27; 131,77; 132,24; 139,82; 159,03. MS (FAB $^+$): m/z 320. IR (CHCl $_3$): 2960, 2936, 2874, 1608, 1518, 1485, 1475 cm $^{-1}$. Análisis para C $_{17}$ H $_{19}$ BrO: Calculado: C, 63,96; H, 6,00; Br, 25,0; Encontrado: C, 64,10; H, 5,97; Br, 25,28.

5 Preparación de 4-(ácido borónico)-4'-pentiloxibifenilo 2(a):

A una mezcla fría (-20°C) del compuesto 1(a) (100 g, 0,31 mol) en *t*-butilmetiléter (MTBE) (1 litro), se añadió lentamente gota a gota *n*-butil-litio (150 ml de una disolución 2,5 M en hexanos, 0,37 mol) en atmósfera de N $_2$, mientras se mantenía la temperatura interna entre -19° y -18°C. La mezcla resultante se agitó durante 3,5 h entre -17° y -16°C lo cual produjo una disolución verde-amarillo claro. Esta disolución se enfrió a -78°C y se diluyó con 100 ml de THF anhidro lo que produjo un precipitado blanco. Después, se añadió gota a gota una disolución fría (-78°C) de borato de triisopropilo (145 ml, 0,62 mol) en MTBE (200 ml), en atmósfera de nitrógeno a lo largo de 1,5 h, mientras se mantenía la temperatura de reacción entre -78° y -74°C. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 1,5 h a -78°C, después se dejó calentar a -50°C a lo largo de 1 h, momento en el que se retiró el baño de enfriamiento y la mezcla se agitó durante la noche (16-21 h) lo que produjo un precipitado blanco. La mezcla se agitó energéticamente con HCl 2 M (1000 ml) durante 5 min y después las capas resultantes se separaron y la capa orgánica se secó a presión reducida para proporcionar un residuo. Este residuo se diluyó con MTBE (100 ml), seguido de heptano (800 ml) para proporcionar un polvo blanco que se aisló por filtración con succión y se lavó 3 veces con heptano (300 ml).

Rendimiento: 88 g (98%). R $_f$ 0,45 (CH $_2$ Cl $_2$ /MeOH 95:5), RMN ^1H : δ 0,92 (m, 3H); 1,41 (m, 4H); 1,80 (m, 2H); 4,00 (m, 2H); 6,99 (m, 2H); 7,45- 7,63 (m, 3H); 7,67 (m, 2H); 8,24 (d, 1H, J=8,3 Hz). RMN ^{13}C : 14,01; 22,26; 28,03; 28,77; 39,61; 39,89; 40,17; 40,45; 67,82; 114,77; 125,32; 127,83; 132,93; 134,84; 141,88; 158,71. MS (FD $^+$): m/z 284. IR (CHCl $_3$): 2959, 2952, 2874, 1606, 1526, 1500 cm $^{-1}$.

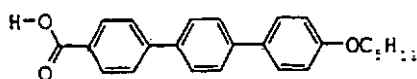
Preparación del compuesto 3(a):



3 (a)

Una disolución de tolueno (174 ml) y propanol (20 ml) se desgasificó 3 veces aplicando vacío a la disolución durante 20-30 segundos seguido de purgado con N $_2$. También se desgasificó una disolución de Na $_2$ CO $_3$ 2 M. La disolución de tolueno/propanol (97 ml) se añadió a una mezcla de 4-yodobenzoato de metilo (14,12 g, 53,9 mmol) y el compuesto 2 (a) (15,0 g, 52,8 mmol), seguido de una disolución acuosa de Na $_2$ CO $_3$ 2 M (29 ml, 58,0 mmol). La mezcla resultante se desgasificó 2 veces durante 20-30 segundos cada una con una presión positiva de N $_2$, seguido de adición de acetato de paladio (II) (0,24 g, 1,1 mmol) y trifenilfosfina (0,84 g, 3,2 mmol) y después se desgasificó 2 veces más. Después, la mezcla de reacción se calentó a reflujo en atmósfera de N $_2$ durante 5 h, dando una mezcla amarillo claro. Esta mezcla se enfrió a 23°C produciendo la formación de un precipitado que se recogió por filtración, se lavó sucesivamente con tolueno (123 ml), MTBE/ EtOAc 2:1 (143 ml), agua desionizada (123 ml) y MTBE/ EtOAc 2:1 (42 ml) y después se secó durante 16 h en un horno con vacío a 35°C. Rendimiento: 18,7 g (94%). R $_f$ 0,48 (benceno). RMN ^1H : δ 0,93 (t, 3H, J=6,80 Hz); 1,42 (m, 4H); 1,81 (m, 2H); 3,95 (s, 3H); 4,00 (t, 2H, J= 6,48 Hz); 6,97 (d, 2H, J=8,52 Hz); 7,55 (d, 2H, J= 8,52 Hz); 7,66 (m, 6H); 8,10 (d, 2H, J=8,20 Hz). MS (FD $^+$): m/z 374. IR (KBr): 2938, 1723 cm $^{-1}$. Análisis para C $_{25}$ H $_{26}$ O $_3$: Calculado: C, 80,18; H, 7,00; Encontrado: C, 79,91; H, 6,94.

Preparación del compuesto 4(a):



4 (a)

Una mezcla del compuesto 3(a) (80 g, 0,21 mol), KOH 5 M (160 ml) y bromuro de cetiltrimetilamonio (4,8 g, 0,013 mol) en xileno (800 ml) se calentó a reflujo durante 3 h y después se enfrió 10°C y se filtró para proporcionar un sólido blanco. Este sólido se lavó 3 veces con H $_2$ O (500 ml cada vez) para separar el catalizador y la mayor parte de la base. El material resultante se trató con DME (500 ml). El pH de la disolución se ajustó al pH por adición de HCl 6 M (100 ml). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 30 min mientras se comprobaba periódicamente el pH para asegurar que permanecía ácido, después se enfrió y se filtró. El sólido resultante se lavó sucesivamente con MTBE (400 ml) y agua (4x400 ml) hasta que los lavados eran neutros al papel de tornasol. Rendimiento: 76 g (98% de rendimiento). RMN ^1H : δ 0,89 (t, 3H, J= 6,82 Hz); 1,38 (m, 4H); 1,73 (m, 2H); 3,96 (t, 2H, J= 6,3 Hz); 6,95 (d, 2H, J=8,56 Hz); 7,57 (d, 2H, J=8,54 Hz); 7,64-7,74 (m, 6H); 8,00 (d, 2H, J=8,21 Hz); 8,09 (s, 1H). MS (FD $^+$) m/z 360. IR

(KBr): 2958, 2937, 2872, 1688 cm^{-1} . Análisis para $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_3$: Calculado: C, 79,97; H, 6,71; Encontrado: C, 80,50; H, 6,77.

Preparación del éster de HOBT del compuesto 4(a):

A. Formación del mesilato de HOBT

- 5 A una mezcla fría (0°C) de hidroxibenzotriazol hidrato (200 g, 1,48 mol) en CH_2Cl_2 anhidro (1,5 litros), se añadió lentamente Et_3N anhidro (268 ml, 1,92 mol) mientras se mantenía la temperatura de 0-10°C, seguido de la adición de cloruro de metanosulfonilo (126 ml, 1,63 mol) mientras se mantenía una temperatura de 0-5°C. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 0°C y se lavó sucesivamente con agua fría (2 x 1,2 litros) y salmuera (1,2 litros). Los extractos orgánicos combinados se concentraron a presión reducida para proporcionar un sólido. Este sólido se recrystalizó en CH_2Cl_2 (100 ml) y heptano (1 litro). Los cristales se recogieron por filtración con succión y se lavaron repetidamente con un total de 1 litro de heptano y después se secaron durante la noche con alto vacío (0,5 mm de Hg). Rendimiento: 245 g (78%) R_f 0,55 (hexanos/ CH_2Cl_2 1:1). RMN ^1H : δ 3,58 (s, 3H), 7,46 (t, 1H, J= 7,60 Hz), 7,60 (d, 1H, J= 8,28 Hz), 7,65 (d, 1H, J= 8,56 Hz), 7,68 (d, 1H, J= 8,20 Hz), 8,05 (d, 1H, J=8,41 Hz).

B. Formación del éster de HOBT

- 15 Una mezcla del compuesto 4 (a) (50 g, 0,14 mol) y el material descrito antes en la parte A (36 g, 0,17 mol) en DMF (650 ml) se trató gota a gota con Et_3N (25 ml, 0,18 mol), en atmósfera de N_2 . La mezcla resultante se agitó durante 4 h a temperatura ambiente hasta que se consumió todo el ácido, determinado por TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5). Cuando se había consumido todo el ácido, una parte alícuota de la mezcla de reacción (~3 gotas de pipeta) dieron una disolución homogénea transparente cuando se diluyó con 3 ml de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF}$ 1:1. Después, la mezcla de reacción se diluyó con tolueno (500 ml), se lavó con agua (500 ml). La capa orgánica (que contenía producto sólido) se diluyó con agua (500 ml) y se filtró usando MTBE para la transferencia. El sólido se lavó con MTBE (2 x 400 ml) y se secó a vacío para proporcionar copos blanco-verdes de material. Nota: Este material se podía disolver en THF y filtrar para separar cualquier contaminación de metal restante. Rendimiento: 61 g (92%). R_f 0,68 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{hexanos}$ 1:1). RMN ^1H : δ 0,93 (t, 3H, J=7,0 Hz), 1,42 (m, 4H), 1,81 (m, 2H), 4,00 (t, 2H, J=6,53 Hz), 6,99 (d, 2H, J=8,6 Hz), 7,42-7,59 (m, 5H), 7,71 (dd, 4H, J=13,91 Hz, 8,40 Hz), 7,86 (d, 2H, J=8,30 Hz), 8,11 (d, 1H, J= 8,31 Hz), 8,35 (d, 2H, J=8,33 Hz). RMN ^{13}C : δ 14,03, 22,44, 28,18, 28,94, 40,10, 40,37, 68,11, 108,45, 110,11, 114,95, 118,71, 120,48, 123,04, 124,94, 124,99, 127,00, 127,23, 127,51, 127,7- 3, 128,06, 128,82, 128,86, 131,35, 132,30, 137,15, 141,43, 143,54, 147,85, 159,15, 162,73. MS (FD $^+$): m/z 477. IR (CHCl_3): 2960, 2936, 2874, 1783, 1606 cm^{-1} . Análisis para $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$: Calculado: C, 75,45; H, 5,70; N, 8,80; Encontrado: C, 75,69; H, 5,58; N, 8,92.

- 30 Preparación del compuesto antifúngico 6(a):

Se usó agua desionizada a lo largo de todo el procedimiento. Una mezcla del compuesto 5(a) (11 g, 23 mmol) y el núcleo del compuesto 6(a) (donde R es hidrógeno - pureza de 92% por HPLC, 19,25 g, 22,2 mmol) en DMF anhidro (275 ml) se agitó en atmósfera de N_2 durante 4 h (hasta que el HPLC mostró el consumo completo del material de partida péptido cíclico). La mezcla se filtró a través de un lecho de celite y el filtrado se concentró a presión reducida a 35°C para proporcionar una pasta que se podía agitar. La pasta se vertió en MTBE (500 ml) lo que produjo la precipitación de un polvo fino que se recogió por filtración a vacío y se secó para proporcionar 27 g de material bruto. Este material se trituroó hasta un polvo con un mortero y mano de mortero, se suspendió durante 5 min en tolueno (200 ml), se filtró con succión (filtrado lento), se lavó con MTBE (100 ml) y después se secó a vacío para proporcionar un sólido amarillo. Rendimiento: 23 g (95% puro por HPLC, tiempo de retención = 7,79 min).

- 40 Alternativamente, la conversión se puede llevar a cabo usando un exceso del núcleo cíclico (1,1 equiv.). Cuando la reacción se ha completado sustancialmente, indicado por HPLC, se añade en porciones el material bruto (10 g de un polvo) a una mezcla enérgicamente agitada de acetona/agua 9:1 (60 ml). Se añade celite (2,5 g, prelavada con una mezcla de acetona/agua 9:1) a la suspensión resultante. Después de agitar durante 2 min, la mezcla se filtra a través de un lecho de celite (prelavado con acetona/agua 9:1) y la torta de filtración se lava dos veces con acetona/agua 9:1 (10 ml). El filtrado se vierte en un vaso de precipitados de agua desionizada (200 ml) mientras se agita suavemente la mezcla lo que produce la formación de un precipitado. Este precipitado se recoge por filtración con succión, se lava con H_2O (4 x 25 ml), y después se seca a vacío a temperatura ambiente. Rendimiento: 6,81 g (97% puro por HPLC).

- 50 El producto se purificó más usando cromatografía de HPLC preparativa. R_f 0,29 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 80:20). MS (FAB $^+$): m/z para $\text{C}_{58}\text{H}_{74}\text{N}_7\text{O}_7$, Calculado: 1140,5141; Encontrado: 1140,5103. IR (KBr): 3365, 2934, 1632, 1518 cm^{-1} .

Formulaciones farmacéuticas

Los siguientes ejemplos ilustran las formulaciones de la invención y los métodos para su preparación. No se pretende que los ejemplos limiten el alcance de la invención en ningún aspecto y no debe considerarse así.

- 55 Las siguientes formulaciones se prepararon por el método A, método B, método C. La cantidad de compuesto 6(a) se determinó calculando la potencia teórica necesaria para los experimentos y dividiendo ese valor entre la potencia del compuesto por HPLC "tal y como está".

Método A. Después de ajustar el pH de 50 ml de una disolución madre de tampón de citrato 0,1 M a pH 4, se añadieron 2,5 g de polisorbato 80 y la mezcla resultante se mezcló hasta disolución, seguido de la adición de 1 g del compuesto de la preparación 6(a) (potencia). La mezcla resultante se mezcló hasta disolución, seguido de la adición de 3 g de manitol (agente de carga) y 2 g de trealosa (agente estabilizante). La mezcla resultante se mezcló otra vez hasta disolución. La disolución resultante se diluyó con agua hasta 100 ml en un matraz aforado. Se transfirieron 3 ml de esta disolución a un vial y después se liofilizó en un liofilizador.

Método B. El pH de una disolución de 0,3005 g de ácido acético en 50 ml de agua se ajustó a pH 4,0 usando una disolución de hidróxido sódico 1 N. Mientras se mezclaba, se añadieron 2,5 g de polisorbato 80 y 5,0 g de manitol (agente de carga) y la mezcla resultante se mezcló hasta disolución, seguido de la adición de 1 g de compuesto 6(a) (potencia). La mezcla resultante se volvió a mezclar hasta disolución. La disolución resultante se diluyó con agua hasta 100 ml en un matraz aforado, se filtró y después se cargó en viales. Los viales se pueden liofilizar en un liofilizador o almacenar a 5°C.

Método C. El pH de una disolución de 0,113 g de ácido tartárico en 50 ml de agua se ajustó a pH 4,3 usando una disolución de hidróxido sódico al 10%. Mientras se mezclaba, se añadieron 2,5 g de polisorbato 80 y se mezcló hasta disolución. La temperatura de la disolución se redujo a 5-15°C, seguido de la adición de 1 g de compuesto 6(a) (potencia) como una suspensión en agua. La mezcla resultante se mezcló otra vez hasta disolución, seguido de la adición de 1,0 g de fructosa (agente estabilizante) y 5,0 g de manitol (agente de carga). La mezcla resultante se mezcló otra vez hasta disolución. La disolución resultante se diluyó con agua hasta 100 ml en un matraz aforado, se filtró y después se cargó en viales. Los viales se pueden liofilizar en un liofilizador o almacenar a 5°C.

Los siguientes ejemplos de formulación 1-27 se prepararon sustancialmente de acuerdo con los métodos A y B descritos antes. El símbolo "-" significa que el ingrediente indicado se omitió de la formulación. En la tabla 1 y tablas posteriores, todos los pesos están en (gramos); las concentraciones ([]) son en mg/ml; AC significa ácido cítrico; S significa sí; N significa no; Man significa manitol; Tre significa trealosa; Col. significa torta que colapsa; C significa citrato; BA significa agente de carga; B significa tampón; PEG es polietilenglicol; PPG es polipropilenglicol; AE significa agente estabilizante; Ace es acetato; Poli 80 es polisorbato 80; Com es compuesto; Sac es sacarosa; His es histidina; Ten es tensioactivo; Lac es lactosa; Fru es fructosa; AT es ácido tartárico; y AA es ácido acético.

Tabla 1

Ej. nº	Comp. 6(a)	Poli 80	AC	T	AE	Col.
1	1	2,5	Man(3)	AC(0,960)	Tre(2)	S
2	1	2,5	Man(3)	AC(0,960)	Sac(2)	S
3	1	2,5	-	AC(0,960)	Sac(5)	Parcial
4	1	2,5	-	AC(0,960)	Tre(5)	Parcial
5	1	2,5	-	-	Tre(5)	Parcial
6	1	2,5	-	-	Sac(5)	Parcial
7	1	2,5	-	-	Lac(5)	Parcial
8	1	2,5	Man(5)	-	-	N
9	1	2,5	Man(5)	-	Sac(1)	N
10	1	2,5	Man(5)	-	Lac(1)	N
11	1	2,5	Man(5)	AC(0,096)	Lac(1)	N
12	1	2,5	Man(5)	AT(0,113)	Lac(1)	N
13	1	2,5	Man(5)	AT(0,113)	Fru(1)	N
14	1	2,5	Man(5)	-	PEG 8000(1)	N
15	1	2,5	Man(5)	-	PEG 6000(2)	N
16	1	2,5	Man(5)	-	His(0,5) Sac(0,5)	N
17	1	2,5	Man(5)	AC(0,960)	Sac(0,5)	N
18	1	2,5	Man(5)	AC(0,960)	Sac(1)	N
19	1	2,5	Man(5)	AA(0,3)	-	N

Ej. nº	Comp. 6(a)	Poli 80	AC	T	AE	Col.
20	0,1	2,5	Man(5)	AA(0,3)	-	N
21	0,1	2,5	Man(5)	AA(0,6)	-	N
22	0,1	2,5	Man(5)	AA(0,06)	-	N
23	0,1	2,5	Man(5)	AC(1,92)	-	N
24	0,1	2,5	Man(5)	AC(0,19)	-	N
25	0,1	2,5	Man(5)	AC(0,960)	-	N
26	0,5	1,25	Man(5)	-	Lac(1)	N
27	0,8	2,0	Man(5)	-	Lac(1)	N
*Determinado por observación visual						

Estudios de solubilidad

Los estudios de solubilidad se llevaron a cabo a temperatura ambiente transfiriendo 5 ml de disolución de ensayo (tensoactivo en agua que contiene opcionalmente un agente de carga, un tampón o un agente estabilizante) y 50 mg de Comp. 6(a) a un tubo de ensayo de vidrio. Los tubos de ensayo se agitaron durante la noche y se examinó el exceso de sólido. Los tubos de ensayo que contenían exceso de sólido se separaron para el análisis. Se añadieron 50 mg adicionales de compuesto 6(a) a los tubos de ensayo que no contenían exceso de sólidos y la mezcla resultante se volvió a agitar. Este procedimiento se repitió hasta que se observó exceso de sólido en el tubo de ensayo. Se dejaron reposar todas las muestras durante 1 h, se separó el líquido sobrenadante, se filtró y se analizó por HPLC de fase inversa para determinar la potencia del Com 6(a) por ml de disolución.

Tabla 2

Ten(s)	[Ten]	Comp 6(a) Potencia
Ninguno	-	<0,1
Poli 80	5	1
Poli 80	10	4,4
Poli 80	15	7,2
Poli 80	25	13,2
Poli 20/Poli 80	5	9,8
	5	
Poli 20/Poli 80	5	8,0
	10	
aceite de ricino etoxilado (cremophor™ EL)	25	11,0
Poli 20/pluronic™ F68	5	1,13
	10	
Poli 80/taurodesoxicolato sódico	20	43,12
	20	

La estabilidad de las formulaciones de disolución y liofilizadas se evaluó controlando en una muestra de la formulación el aumento de porcentaje de sustancias relacionadas por HPLC de fase inversa inicial, a las 2 semanas y 4 semanas de almacenamiento a 40°C.

Tabla 3 - Ejemplos de referencia

6(a) Potencia (mg/ml)	Ten	T	Agente ton.	Co-disolvente (% peso/vol)	Porcentaje de sustancias relacionadas		
					0 semanas	2 semanas	4 semanas
1	Poli 80(25)	Cit(1,9)	Man(50)	-	3,42	8,91	18,04
1	Poli 80(25)	Cit(9,6)	Man(50)	-	3,36	9,25	17,29
1	Poli 80(25)	Cit(19,2)	Man(50)	-	3,47	9,70	18,02
1	Poli 80(25)	Ace(0,6)	Man(50)	-	3,15	11,37	19,44
1	Poli 80(25)	Ace(3)	Man(50)	-	3,33	12,20	18,29
1	Poli 80(25)	Ace(6)	Man(50)	-	3,27	11,07	19,59
10	Poli 80(25)	Ace(3)	-	-	2,51	9,46	14,39
10	Poli 80(20) Poli 20(5)	Ace(6)	-	-	2,65	11,06	15,44
10	Poli 80(15) Poli 20(10)	Ace(6)	-	-	2,70	10,55	15,34
10	Poli 80(5) Poli 20(20)	Ace(6)	-	-	2,67	9,77	15,57
10	Poli 80(25)	Ace(6)	-	20% PEG400	2,83	9,69	14,35
10	Poli 80(25)	Ace(6)	-	40% PEG400	2,57	10,38	13,36
10	Poli 80(25)	Ace(6)	-	20% PPG	2,71	10,58	13,40
10	Poli 80(25)	Ace(6)	-	40% PPG	2,72	9,84	12,65
10	Poli 80(25)	-	-	-	3,62	18,71	27,91
10	Poli 80(25)	-	Man(50)	-	3,68	16,65	23,68
10	Poli 80(25)	-	-	40% PEG 400	3,73	15,26	23,99
10	Poli 80(25)	-	-	1% PEG 3350	3,68	21,56	-

Tabla 4

6(a) Potencia	Ten	T	AE	AC	% de sustancias relacionadas		
					0 semanas	2 semanas	4 semanas
* 1	Poli 80(25)	Cit(1,9)	-	Man(50)	3,22	10,24	12,16
* 1	Poli 80(25)	Cit(9,6)	-	Man(50)	3,36	11,74	18,63
* 1	Poli 80(25)	Cit(19,2)	-	Man(50)	3,37	17,29	22,61
* 10	Poli 80(25)	Cit(9,6)	Sac(50)	-	3,60	5,4	6,01
* 10	Poli 80(25)	Cit(9,6)	Tre(50)	-	3,73	4,83	6,19
* 10	Poli 80(25)	-	-	Man(50)	3,98	4,85	5,45
* 10	Poli 80(25)	Cit(9,6)	Sac(5)	Man(50)	3,70	5,60	6,01
* 10	Poli 80(25)	Cit(9,6)	Sac(10)	Man(50)	3,77	5,41	5,88
10	Poli 80(25)	Tar(1,13)	Fru(10)	Man(50)	2,49	-	2,42
* 10	Poli 80(25)	-	Sac(10)	Man(50)	4,26	4,82	4,95
* 10	Poli 80(25)	-	Lac(10)	Man(50)	4,56	4,51	4,85
* 10	Poli 80(25)	-	Lac(10)	Man(50)	4,06	5,47	5,17

ES 2 433 678 T3

6(a) Potencia	Ten	T	AE	AC	% de sustancias relacionadas		
					0 semanas	2 semanas	4 semanas
* 5	Poli 80(12,5)	-	Lac(10)	Man(50)	6,42	6,98	6,85
* 8	Poli 80 (20)	-	Lac(10)	Man(50)	5,99	6,16	5,74
* 10	Poli 80(25)	-	PEG8000(10)	Man(50)	3,97	4,23	6,73
* 10	Poli 80(25)	-	PEG6000(10)	Man(50)	4,13	4,47	8,11
* ejemplo de referencia							

REIVINDICACIONES

1.- Una formulación liofilizada que comprende:

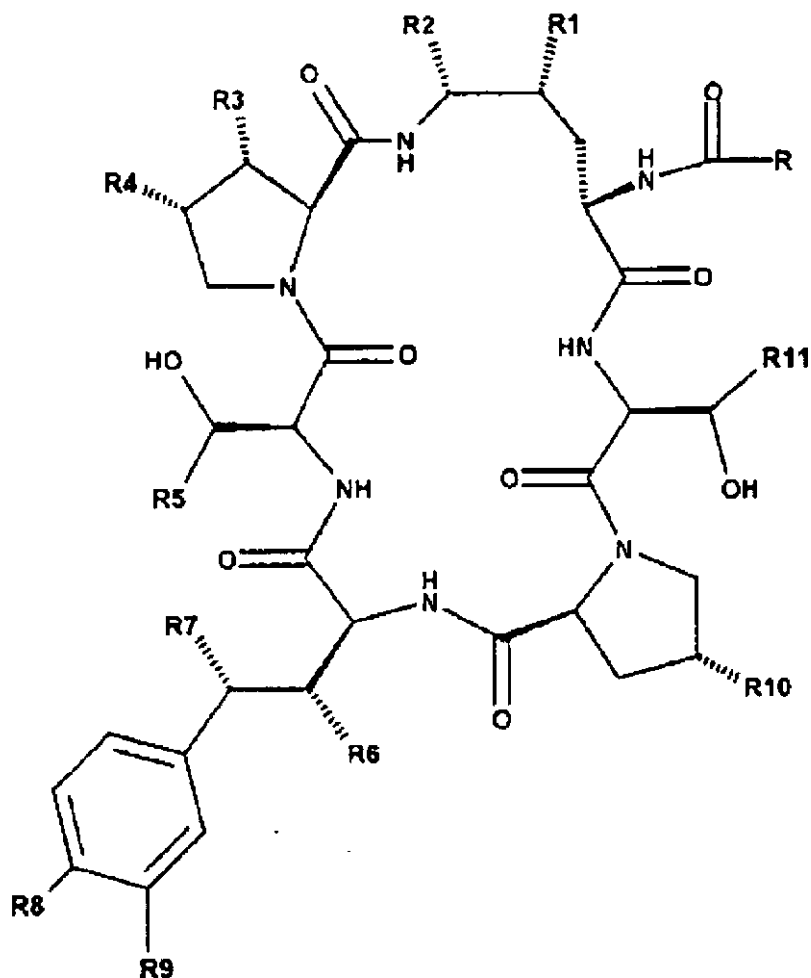
(i) un compuesto de equinocandina, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable;

5 (ii) un tensioactivo formador de micelas farmacéuticamente aceptable que es polisorbato 80, polisorbato 40 o polisorbato 20 en una cantidad mayor de 5% en peso de la formulación; en donde la relación en peso de (i) a (ii) es de 1:1,75 a 1:25; y

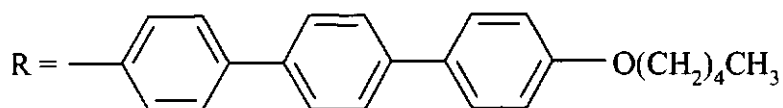
(iii) un agente de carga que es manitol;

(iv) un tampón que es ácido tartárico;

en donde dicho compuesto de equinocandina se representa por la siguiente estructura:



10 en donde:



R₁, R₂, R₃, R₆, R₇ y R₁₀ son hidroxil;

R₄ es metilo;

15 R₅ y R₁₁ son metilo;

R₈ es -OH;

R₉, es -H; y

sales del mismo farmacéuticamente aceptables.

2.- La formulación de la reivindicación 1, en donde dicho tensioactivo está presente en dicha formulación con una relación en peso de equinocandina a tensioactivo de 1:2 a 1:3.

5 3.- La formulación de la reivindicación 1 ó 2, que además comprende un agente estabilizante que es manitol, sacarosa, trealosa, fructosa, lactosa o una combinación de los mismos.

4.- Un procedimiento para hacer una formulación liofilizada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende, en el siguiente orden, las etapas de:

10 (i) disolver en un disolvente acuoso un compuesto de equinocandina como se define en la reivindicación 1 o un complejo de equinocandina/hidrato de carbono que contiene dicho compuesto de equinocandina, en presencia del tensioactivo formador de micelas farmacéuticamente aceptable, en donde dicho tensioactivo está presente en una cantidad mayor de 1% en peso por volumen de disolución,

(ii) esterilizar por filtración dicha disolución; y

(iii) liofilizar dicha disolución.

15 en donde el agente de carga y el tampón se añaden antes de la etapa (iii).

5.- El procedimiento de la reivindicación 4, que además comprende la etapa de añadir uno o más agentes estabilizantes, agentes de tonicidad o combinaciones de los mismos, antes de la etapa (iii).

6.- El procedimiento de la reivindicación 4, en donde la etapa (i) comprende las etapas de:

(a) tamponar un disolvente acuoso no tóxico a un pH entre 4,0 y 5,5 para formar una disolución tamponada;

20 (b) añadir a dicha disolución tamponada el tensioactivo formador de micelas, farmacéuticamente aceptable;

(c) enfriar la disolución de la etapa (b) a una temperatura entre 5° y 15°C para formar una disolución enfriada;

(d) añadir una suspensión que comprende el compuesto de equinocandina o complejo de equinocandina/hidrato de carbono, y un segundo disolvente acuoso no tóxico a dicha disolución enfriada,

en donde el agente de carga se añade antes de la etapa (ii).

25 7.- El procedimiento de la reivindicación 6, en donde dicha temperatura en la etapa (c) es de 7°C a 10°C.

8.- El procedimiento de la reivindicación 6 ó 7, que además comprende la etapa de añadir uno o más agentes estabilizantes, agentes de tonicidad o combinaciones de los mismos, antes de la etapa de esterilización por filtración.

30 9.- Un procedimiento para preparar una formulación parenteral que comprende preparar una formulación liofilizada por el procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8 y reconstituir la formulación liofilizada en un disolvente acuoso no tóxico.

10.- Una formulación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para usar en el tratamiento de una infección fúngica en un mamífero.

35 11.- Uso de una formulación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la fabricación de un medicamento para tratar una infección fúngica en un mamífero.