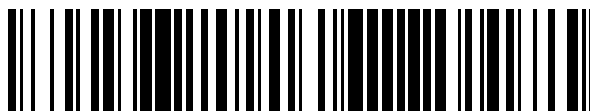


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 747**

51 Int. Cl.:

A61K 9/127 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.10.2007 PCT/US2007/080984**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.10.2008 WO08127358**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2007 E 07873522 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.12.2016 EP 2076244**

54 Título: **Sistemas acuosos para la preparación de compuestos farmacéuticos basados en lípidos; composiciones, procedimientos y usos de los mismos**

30 Prioridad:

10.10.2006 US 850446 P
21.08.2007 US 957022 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.06.2017

73 Titular/es:

JINA PHARMACEUTICALS INC. (100.0%)
28100 NORTH ASHLEY CIRCLE, SUITE 103
LIBERTYVILLE IL 60048, US

72 Inventor/es:

ALI, SHOUKATH, M.;
AHMAD, MOGHIS, U.;
AHMAD, ATEEQ;
SHEIKH, SAIFUDDIN y
AHMAD, IMRAN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 617 747 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

Sistemas acuosos para la preparación de compuestos farmacéuticos basados en lípidos; composiciones, procedimientos y usos de los mismos

Campo de la invención

5 La invención se refiere a composiciones que comprenden compuestos o componentes activos, por ejemplo, compuestos farmacéuticos, y lípidos, que incluyen por ejemplo, complejos, micelas, emulsiones, liposomas o partículas lipídicas, y mezclas de micelas y vesículas. La invención se refiere adicionalmente a los procedimientos de preparación de los mismos. A modo de ejemplo, en algunas realizaciones, la invención se refiere a
10 composiciones que comprenden anfotericina B, con o sin desoxicolato, y uno o más lípidos, a procedimientos de preparación de los mismos en un sistema acuoso, y a usos de los mismos para el tratamiento de enfermedades, tales como enfermedades en mamíferos. En algunas realizaciones, la invención se refiere a composiciones que comprenden, por ejemplo, inmunosupresores tales como tacrolimus, compuestos anticancerosos tales como docetaxel o paclitaxel, o cualquier otro compuesto de la familia de los taxanos, y uno o más lípidos, a procedimientos de preparación de las mismas en ausencia de disolventes orgánicos, y a usos de las mismas para el tratamiento, por
15 ejemplo, de enfermedades en mamíferos. Los procedimientos de acuerdo con la presente invención son adecuados para la práctica a escala de fabricación industrial, y se puede efectuar, por ejemplo, como un procedimiento continuo. Otras ventajas significativas de estos procedimientos incluyen la sencillez, la velocidad de formación de las partículas, la facilidad para ampliar la escala a grandes volúmenes, la formación de suspensiones lipídicas de alta concentración y tamaño de partícula definido y la capacidad de los sistemas acuosos para la encapsulación de compuestos farmacéuticamente activos que tiene baja solubilidad en agua.

Antecedentes de la invención

La mayoría de sistemas de preparaciones lipídicas implica el uso de disolventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido, dimetilformamida, cloruro de metileno, cloroformo, etanol o metanol. Los disolventes orgánicos pueden plantear problemas de seguridad, por ejemplo, para los trabajadores de producción, y la eliminación de
25 disolventes orgánicos es por lo general un procedimiento engorroso. Por tanto, existe la necesidad de procedimientos para la preparación de formulaciones basadas en lípidos sin la necesidad de disolventes orgánicos.

Los antibióticos polienos proporcionan un ejemplo de una clase de compuestos farmacéuticos activos que tienen una solubilidad limitada en sistemas acuosos. Los antibióticos polienos se usan ampliamente en el tratamiento de infecciones fúngicas tanto sistémicas como presistémicas. Son producidas por diversas especies de *Streptomyces*. Se ha estimulado un interés reciente por estos antibióticos debido a su acción antifúngica sinérgica con otros
30 agentes (Medoff, G. y Kobayashi, G.S. 1975) y a artículos sobre su acción antitumoral (Valeriote, F. y col. 1976). En particular, antibióticos polienos tales como la anfotericina B (AmB) y la nistatina (Nys) siguen siendo los agentes más eficaces y más ampliamente usados en el tratamiento de las infecciones fúngicas. Además, varios de estos agentes, aunque no todos, han demostrado tener propiedades inmunoadyuvantes (Hammarstron, L. y Smith, C.I.E., 1977; Little, J.R. y col. 1978).

Los antibióticos polienos actúan sobre los esteroides, específicamente el ergosterol, que es el esteroide principal y más abundante de las membranas fúngicas. Los diferentes tipos de antibióticos polienos muestran diferentes modos de acción, a pesar de que comparten un objetivo único. Los polienos más grandes, tales como la anfotericina y la nistatina, forman junto con el ergosterol estructuras porosas en la membrana plasmática que colapsan gradientes
40 iónicos vitales, destruyendo así las células. La filipina, de menor tamaño y sin carga, destruye también la barrera de la membrana, pero mediante un mecanismo totalmente diferente. La filipina forma grandes complejos con los esteroides entre las laminillas de la bicapa lipídica, lo que da como resultado la rotura de la membrana (De Kruijff y Demel, 1974). La natamicina como otros antibióticos polienos se une específicamente al ergosterol en la membrana, pero esto no da como resultado una pérdida de la función barrera.

La anfotericina B es un antibiótico antifúngico parenteral producido como subproducto de la fermentación del *Streptomyces nodusus*, un actinomiceto del suelo. Se une a los esteroides en las membranas celulares de células tanto de hongos como de mamíferos. Normalmente es fungistática *in vivo*, pero puede tener actividad fungicida a altas concentraciones o frente a organismos extremadamente susceptibles. Su mayor afinidad por el ergosterol, el esteroide encontrado en las membranas de las células fúngicas, que por el colesterol, el esteroide encontrado en las
50 membranas de las células humanas, permite el uso sistémico de la anfotericina B. Como resultado de esta unión, se altera la integridad de la membrana fúngica, provocando la pérdida de potasio intracelular y otros contenidos celulares. Algunas reacciones adversas a la anfotericina B, tales como pérdida de electrolitos y nefrotoxicidad, son una extensión de su actividad farmacológica, mientras que las reacciones anafilactoides relacionadas con la infusión pueden estar relacionadas con la estimulación y liberación de la síntesis de prostaglandinas. La anemia puede ser secundaria a una inhibición de la producción de eritropoyetina.

La anfotericina B se usa extensamente para tratar infecciones fúngicas graves potencialmente mortales. Su uso está limitado por la nefrotoxicidad dependiente de la dosis, manifestada por una reducción de la velocidad de filtración glomerular y una disfunción tubular. Una excreción elevada de creatinina asociada a la anfotericina B no solo es un

marcador de la disfunción renal, sino que está relacionada también con un riesgo esencial para el uso de la hemodiálisis y una mayor tasa de mortalidad; por tanto, la nefrotoxicidad de la anfotericina B no es una complicación benigna y su prevención es esencial. (Deray, G. y col. *Nephrologie*, 2002).

5 La anfotericina B es poco soluble en agua, alcoholes, cloroformo, y otros disolventes halocarbonados comunes. Aunque la anfotericina B es un fungicida eficaz, es peligrosamente tóxica a concentraciones ligeramente superiores a la concentración terapéutica. La encapsulación en liposomas parece reducir la toxicidad *in vivo* para las células de mamíferos, y deja la actividad fungicida relativamente inalterada (F.C. Szoka y col., 1987). Los liposomas se han usado para encapsular una gran variedad de compuestos que exhiben poca solubilidad o que exhiben una toxicidad inaceptable a las dosificaciones terapéuticas. Los efectos de la encapsulación en liposomas sobre la citotoxicidad y la actividad fungicida de compuestos tales como la anfotericina B dependen de la estructura del liposoma particular (por ejemplo, SUV, MLV, etc.) y del procedimiento de preparación de los mismos.

Es necesario el desarrollo de nuevas formulaciones que usen nuevas composiciones de lípidos para mejorar la eficacia y para reducir la toxicidad asociada a composiciones tales como los antibióticos polienos, y particularmente con anfotericina B, con o sin desoxicolato.

15 Los taxanos son una clase única de agentes anticancerosos hidrófobos que exhiben una actividad citotóxica al unirse a la tubulina y promover la formación de microtúbulos no funcionales, inapropiadamente estables (Schiff PB y col. 1979). La interferencia con la función microtubular lleva a una interrupción de la mitosis y a la muerte celular. Algunos taxanos, por ejemplo, el paclitaxel y el docetaxel, están aprobados para uso humano para el tratamiento del cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de próstata. Los perfiles de toxicidad limitante de la dosis para estos agentes son en cierto modo diferentes; el paclitaxel ha estado asociado principalmente a neuropatías periféricas y mialgias/artralgias, mientras que el docetaxel más comúnmente da como resultado una retención de líquidos que puede ser en algunos casos limitante de la dosis (Hennenfent, K.L y col. 2006).

25 Los taxanos, que incluyen el paclitaxel y el docetaxel aunque no se limitan a los mismos, son prácticamente insolubles en agua y requieren un sistema disolvente complejo para la formulación comercial. El Cremophor EL, un vehículo de aceite de ricino polioxiethylado, y el etanol deshidratado USP (1:1, v/v) se usan como disolventes en la formulación comercial del paclitaxel, mientras que el polisorbato 80 (tensioactivo Tween 80) se emplea en la formulación del docetaxel. Aunque estos sistemas disolventes son biológica y farmacológicamente aceptables son conocidos por tener efectos secundarios, que incluyen reacciones de hipersensibilidad aguda y neuropatías periféricas. Asimismo, algunos trabajos han relacionado estos disolventes con alteraciones de los perfiles farmacocinéticos tanto del paclitaxel como del docetaxel (ten Tije, AJ y col. 2003).

35 Se han preparado diversas formulaciones para solubilizar los taxanos y evitar las toxicidades asociadas a los mismos. Todas estas formulaciones, incluyendo las formulaciones basadas en lípidos (por ejemplo, liposomas), han requerido el uso de disolventes orgánicos para solubilizar el compuesto activo durante el proceso de formulación (Straubinger, y col. US 5.415.868, 1995; Bisery, y col. US 6.146.663, 2000). Tal y como se ha indicado anteriormente, el uso de disolventes orgánicos conlleva un proceso engorroso y, por tanto, es necesaria una formulación sin disolventes orgánicos para superar los problemas asociados a las formulaciones existentes.

Sumario de la invención

40 El objeto para el cual se busca protección se expone en las reivindicaciones adjuntas. Las realizaciones y ejemplos de la descripción que no caen dentro del alcance de la invención de dichas reivindicaciones se proporcionan para fines ilustrativos solamente. La presente invención se refiere a nuevos procedimientos para preparar compuestos activos complejados con lípidos. La interacción del complejo puede ser iónica o lipófila. En todas las realizaciones de la presente invención, la formación de complejos tiene lugar en medios acuosos. En algunas realizaciones, la presente invención comprende una composición que comprende un complejo que comprende al menos un agente activo, tal como un antibiótico polieno, un agente inmunosupresor tal como tacrolimus o un taxano o un derivado de taxano y uno o más lípidos.

Un objeto de la presente invención es proporcionar formulaciones o complejos de lípidos que comprenden al menos un componente activo y al menos un lípido, por ejemplo, un fosfolípido, formados sin usar un disolvente orgánico.

50 La cantidad de fosfolípido incluida en un complejo lipídico de acuerdo con la presente invención no está limitada a ninguna cantidad o porcentaje particular (por ejemplo, en peso) de la composición o complejo final. En algunas realizaciones, la proporción de al menos un fosfolípido está entre aproximadamente un 5 % y aproximadamente un 98 % de un complejo lipídico final (por ejemplo, una forma comercialmente usable) en peso. En algunas realizaciones preferentes, la cantidad de el al menos un fosfolípido está entre un 10 % y un 90 % del complejo lipídico en peso.

55 En determinadas realizaciones, un sistema de formulación lipídica de acuerdo con la presente invención tiene un pH de entre aproximadamente 4,0 y 8,0. En determinadas realizaciones preferentes, el pH está entre aproximadamente 4,5 y 7,5.

- Una formulación lipídica de la presente invención no está limitada a ningún uso o aplicación particular. Por ejemplo, una formulación lipídica de un componente activo de acuerdo con la presente descripción que comprende un ingrediente farmacéuticamente activo se puede usar para diferentes aplicaciones farmacéuticas. Un sistema acuoso de la presente invención se puede usar también en la formación de complejos lipídicos sin cargar (por ejemplo, sin ningún ingrediente activo encapsulado), para su uso, por ejemplo, como controles para complejos que comprenden componentes activos.
- En algunas realizaciones, la presente invención comprende una composición que comprende un complejo que comprende al menos un agente anticanceroso y uno o más lípidos. Ejemplos de agentes anticancerosos incluyen, si bien no se limitan a los mismos, docetaxel, paclitaxel, epirrubicina, endoxifeno y similares.
- Ya que, por ejemplo, es posible encapsular o atrapar el tacrolimus en el sistema de liposomas de la invención, tal producto farmacéutico se usa, por ejemplo, como inmunosupresor o para el tratamiento de infecciones de la piel. Tal producto farmacéutico es particularmente adecuado para inyección o uso oral. Asimismo, los ingredientes activos conocidos son para el tratamiento del cáncer, enfermedades hepáticas, enfermedades renales, SIDA, infecciones bacterianas, fúngicas y víricas.
- En algunas realizaciones, la presente invención comprende una composición que comprende un complejo que comprende al menos un agente inmunosupresor y uno o más lípidos. Ejemplos de inmunosupresores incluyen, si bien no se limitan a los mismos, tacrolimus y sacrolimus.
- En algunas realizaciones, el antibiótico polieno de una composición de acuerdo con la presente invención es la anfotericina B, con o sin desoxicolato, mientras que en algunas realizaciones preferentes, la anfotericina B desoxicolato es el antibiótico Fungizone®. En algunas realizaciones, la anfotericina B desoxicolato se prepara a partir de anfotericina B y desoxicolato de sodio.
- En algunas realizaciones, el uno o más lípidos de una composición de acuerdo con la presente invención comprende uno o más de los siguientes: colesterol, sulfato de colesterilo y sales de los mismos (por ejemplo, la sal sódica), hemisuccinato de colesterilo.
- En algunas realizaciones, el uno o más lípidos de una composición de acuerdo con la presente invención comprende uno o más ácidos grasos que tienen una longitud de cadena de aproximadamente C_4 - C_{34} . En algunas realizaciones, una o más cadenas de ácidos grasos son insaturadas, mientras que en algunas realizaciones, una o más de las cadenas de ácidos grasos son saturadas. En algunas realizaciones, uno o más de los ácidos grasos están en forma de sal, mientras que en algunas realizaciones, uno o más de los ácidos grasos están en forma ácida. En algunas realizaciones, uno o más ácidos grasos están en forma de un éster.
- En algunas realizaciones, uno o más lípidos de una composición de acuerdo con la presente invención comprenden un fosfolípido. En algunas realizaciones preferentes, uno o más de los lípidos de la composición comprenden una fosfatidilcolina o un fosfatidilglicerol, mientras que en algunas realizaciones preferentes, uno o más de los lípidos de la composición comprenden una fosfatidiletanolamina, una fosfatidilserina, un fosfatidilinositol, o un ácido fosfatídico.
- En algunas realizaciones preferentes, uno o más lípidos de la presente invención comprenden un fosfolípido de soja. En algunas realizaciones particularmente preferentes, un fosfolípido de soja usado en los procedimientos y composiciones de la presente invención comprende una alta concentración de fosfatidilcolina. En algunas realizaciones aún más particularmente preferentes, un fosfolípido de soja usado en los procedimientos y composiciones de la presente invención contiene al menos un 90 % en peso de fosfatidilcolina. En algunas realizaciones, uno o más fosfolípidos son derivados PEGilados (PEG) de fosfolípidos. En determinadas realizaciones, uno o más de los lípidos de la composición comprenden un derivado PEGilado de un fosfolípido diesteoilfosfatidilglicerol, un fosfolípido dimiristoilfosfatidilglicerol, o un fosfolípido dioleoilfosfatidilglicerol.
- En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente invención comprende adicionalmente polietilenglicol (PEG). En algunas realizaciones, el PEG tiene un peso molecular promedio que varía entre 200 y 20 000, mientras que en determinadas realizaciones preferentes, el peso molecular promedio del PEG está en el intervalo de 500-2000.
- En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente invención comprende un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B, con o sin desoxicolato de sodio), colesterol o derivados del colesterol y uno o más fosfolípidos. En determinadas realizaciones preferentes, la composición comprende desoxicolato de sodio y la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) con respecto al desoxicolato de sodio es de aproximadamente 1:2. En algunas realizaciones en las que la composición comprende un derivado de colesterol, el derivado de colesterol es sulfato de colesterilo. En algunas realizaciones en las que el fosfolípido comprende fosfatidilcolina de soja o fosfatidilcolina de soja hidrogenada. En algunas realizaciones preferentes, la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y el colesterol o derivado de colesterol está en el intervalo de aproximadamente 1:1 y 1:10, mientras que en determinadas realizaciones particularmente preferentes, la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y el colesterol o derivado de colesterol está entre aproximadamente 1:1 y 1:5.

5 En algunas realizaciones, uno o más lípidos de una composición de acuerdo con la presente invención comprenden fosfatidilcolina de soja hidrogenada, en la que la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y la fosfatidilcolina de soja hidrogenada está entre aproximadamente 1:5 y 1:80. En determinadas realizaciones preferentes, la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y la fosfatidilcolina de soja hidrogenada está entre aproximadamente 1:5 y 1:60.

10 En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente invención comprende un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B, con o sin desoxicolato de sodio) a una concentración de entre aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 25 mg/ml, mientras que en algunas realizaciones preferentes, el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B, con o sin desoxicolato) de la composición está a una concentración de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml. En algunas realizaciones particularmente preferentes, la composición de la invención comprende un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B, con o sin desoxicolato) que está a una concentración de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml.

15 En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente invención comprende una proporción o una concentración de lípidos total desde aproximadamente un 2,5 % en peso hasta aproximadamente un 95 % en peso, mientras que en algunas realizaciones preferentes, la composición comprende una concentración de lípidos total desde aproximadamente un 5 % en peso hasta aproximadamente un 95 % en peso. En determinadas realizaciones particularmente preferentes, la composición comprende una concentración de lípidos total desde aproximadamente un 10 % en peso hasta aproximadamente un 90 % en peso.

20 En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente invención comprende un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B), y un lípido o lípidos totales que incluyen el desoxicolato de sodio (si se usa) con una relación molar que varía desde aproximadamente 1:10 hasta aproximadamente 1:100, mientras que en algunas realizaciones, la relación molar está entre aproximadamente 1:20 y aproximadamente 1:70.

25 En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente invención comprende un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B), y un lípido o lípidos totales que incluyen el desoxicolato de sodio que tienen una relación en peso que varía desde aproximadamente 1:1 hasta aproximadamente 1:100, mientras que en determinadas realizaciones preferentes, la relación está entre aproximadamente 1:10 y aproximadamente 1:60.

30 En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente invención comprende un complejo seleccionado entre el grupo que consiste en una micela y una emulsión. En determinadas realizaciones preferentes, la composición comprende una pluralidad de micelas, en la que dichas micelas están en forma de micelas monoméricas, diméricas, poliméricas o mixtas.

35 En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente invención comprende complejos, liposomas, micelas, y/o vesículas que tienen un diámetro de aproximadamente 20 micrómetros o inferior, mientras que en algunas realizaciones los complejos, liposomas, micelas, y/o vesículas tienen un diámetro de aproximadamente 10 micrómetros o inferior. En algunas realizaciones, los complejos, liposomas, micelas, y/o vesículas tienen un diámetro de aproximadamente 5 micrómetros o inferior, mientras que en algunas realizaciones los complejos, liposomas, micelas, y/o vesículas tienen un diámetro de aproximadamente 1 micrómetro o inferior. En algunas realizaciones, los complejos, liposomas, micelas, y/o vesículas tienen un diámetro de aproximadamente 500 nm o inferior, mientras que en algunas realizaciones los complejos, liposomas, micelas, y/o vesículas tienen un diámetro de aproximadamente 200 nm o inferior. En algunas realizaciones preferentes, los complejos, liposomas, micelas, y/o vesículas tienen un diámetro de aproximadamente 100 nm o inferior.

45 La presente descripción no se limita a ninguna forma particular de composición que comprenda el complejo de la descripción. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un complejo en una composición de acuerdo con la presente invención está en forma liofilizada. En algunas realizaciones, la composición comprende adicionalmente un crioprotector. En determinadas realizaciones preferentes, el crioprotector comprende uno o más azúcares, mientras que en realizaciones particularmente preferentes; el uno o más azúcares comprenden trehalosa, maltosa, lactosa, sacarosa, glucosa y/o dextrano.

50 En algunas realizaciones, un complejo en una composición de acuerdo con la presente descripción está en forma de polvo, mientras que en algunas realizaciones, el complejo está en forma de solución. En algunas realizaciones, el complejo está en forma de suspensión, mientras que en otras realizaciones, el complejo está en forma de emulsión, mientras que en otras realizaciones adicionales, el complejo está en forma de micela o una forma micelar mixta o en forma de liposoma. En algunas realizaciones, el complejo está en forma liofilizada o de gel, mientras que en algunas realizaciones, el complejo está en forma de pasta. En algunas realizaciones, el complejo es una mezcla de formas de micelas, liposomas o vesículas mixtas.

55 En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente descripción está encapsulada en una cápsula. En algunas realizaciones preferentes, la cápsula es una cápsula de gel, mientras que algunas realizaciones particularmente preferentes; la cápsula comprende un revestimiento entérico.

En algunas realizaciones, un complejo en una composición de acuerdo con la presente invención comprende un fármaco insoluble en agua o muy poco soluble en agua que no es un antibiótico polieno.

- En algunas realizaciones, una composición de acuerdo con la presente invención comprende un componente activo que comprende un macrólido, por ejemplo, tacrolimus (Knoll, G. A. y col. 1999; Dumont FJ en: Liebermann R, Mukherjee A, eds. 1996), o sirolimus (Ingle GR, y col. 2000; Podder H, y col. 2001). Los macrólidos tales como el tacrolimus se usan clínicamente en la actualidad para la profilaxis del rechazo del trasplante de hígado y de riñón.
- 5 En algunas realizaciones, una composición de lípidos de acuerdo con la presente invención comprende un macrólido y se puede usar, por ejemplo, en inmunosupresión y/o la supresión del rechazo de un trasplante. Análogamente, en algunas realizaciones, una composición de lípidos de acuerdo con la presente invención comprende un fármaco anticanceroso como componente activo y se puede usar, por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades cancerosas.
- 10 Los procedimientos, composiciones y sistemas de la presente invención no se limitan al uso con cualquier agente o componente activo particular, o que comprende el mismo. Por ejemplo, fármacos, agentes activos o agentes terapéuticos que se pueden usar en los procedimientos, composiciones y sistemas de la presente invención incluyen, por ejemplo, agentes que actúan sobre los nervios periféricos, receptores adrenérgicos, receptores colinérgicos, músculos esqueléticos, el sistema cardiovascular, músculos lisos, el sistema circulatorio sanguíneo,
- 15 sitios sinápticos, sitios funcionales neuroefectores, sistemas endocrino y hormonal, el sistema inmunológico, el sistema reproductor, el sistema esquelético, los sistemas digestivo y excretor, el sistema histamínico y el sistema nervioso central. Los agentes activos adecuados se pueden seleccionar entre, por ejemplo, proteínas, enzimas, y hormonas, nucleótidos (que incluyen oligonucleótidos codificantes y no codificantes) (por ejemplo, patente de Estados Unidos n.º 6.126.965, 2000), polinucleótidos, nucleoproteínas, polisacáridos, glucoproteínas, lipoproteínas,
- 20 polipéptidos, esteroides. Los agentes activos pueden ser analgésicos, anestésicos, agentes antiarrítmicos, antibióticos, agentes antialérgicos, agentes antifúngicos, agentes anticancerosos, anticoagulantes, antidepresivos, agentes antidiabéticos, agentes antiepilépticos, antiinflamatorios, corticosteroides, agentes para tratar la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer, agentes antiulcerosos, agentes antiprotozoarios, ansiolíticos, tiroideos y antitiroideos, antivirales, anoréxicos, bifosfonatos, agentes inotrópicos cardíacos, agentes cardiovasculares,
- 25 corticoesteroides, diuréticos, agentes dopaminérgicos, agentes gastrointestinales, hemostáticos, agentes para la hipercolesterolemia, agentes antihipertensivos (por ejemplo, dihidropiridinas), antidepresivos, e inhibidores de la COX-2, agentes inmunosupresores, agentes antigotosos, agentes antimaláricos, esteroides, terpenoides, triterpenos, retinoides, antiulcerosos, antagonistas del receptor H2, agentes hipoglucémicos, humectantes, cosméticos, agentes antimigrañosos, agentes antimuscarínicos, agentes antiinflamatorios, tales como agentes para tratar reumatismo,
- 30 artritis, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, o agentes para tratar enfermedades desmielinizantes que incluyen esclerosis múltiple, agentes oftálmicos, vacunas (por ejemplo, frente a neumonía, hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, subunidad B de la toxina del cólera, virus de la gripe, tifoidea, *Plasmodium falciparum*, difteria, tétanos, VHS, tuberculosis, VIH, virus SARS, Pertussis perpetual, vacuna contra sarampión, paperas y rubeola (MMV), toxinas bacterianas, virus vaccinia, adenovirus, canario, virus de la polio, bacilo Calmette Guérin (BCG), *Klebsiella pneumoniae*, etc.), antagonistas del receptor de histamina, hipnóticos, agentes protectores renales, agentes reguladores de lípidos, relajantes musculares, neurolépticos, agentes neurotrópicos, agonistas y antagonistas de opioides, parasimpaticomiméticos, inhibidores de proteasa, prostaglandinas, sedantes, hormonas sexuales (por ejemplo, estrógenos, andrógenos), estimulantes, simpaticomiméticos, vasodilatadores y xantenos y análogos sintéticos de estas especies. Los agentes terapéuticos pueden ser nefrotóxicos, tales como ciclosporina y anfotericina B, o cardiotóxicos tales como anfotericina B y paclitaxel. Agentes anticancerosos ilustrativos incluyen melfalán, clometina, fosfato de estramustina, uramustina, ifosfamida, manomustina, trifosfamida, estreptozotocina, mitobronitol, mitoxantrona (véase, por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 02/32400), metotrexato, fluoroacilo, citarabina, tegafur, idoxido, taxanos [(por ejemplo, taxol, paclitaxel, etc., véanse la solicitud de patente internacional WO 00/01366; la patente de Estados Unidos n.º 5.145.869)], daunomicina o daunorubicina,
- 45 epirubicina, bleomicina, etopósido, tamoxifeno, hidroxitamoxifeno, endoxifeno, carboplatino, cisplatino, paclitaxel, docetaxel, BCNU, alcaloides vinca (por ejemplo, vincristina, vinorelbina (por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 03/018018, y similares), camptotecina y derivados de la misma (véase, por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 02/058622), SN 38, irinotecán (véase, por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 03/030864, y similares), citocinas, ribozimas, interferones, oligonucleótidos y antraciclinas funcionales,
- 50 anticuerpos, citoxinas, doxorubicina, etopósido, derivados de los anteriores. Ejemplos adicionales de fármacos que se pueden usar en los procedimientos, composiciones y sistemas de la presente invención incluyen azidotimidina (AZT), aciclovir, tacrolimus, edisilato de proclorperazina, sulfato ferroso, ácido aminocaproico, clorhidrato de mecamilamina, clorhidrato de procainamida, sulfato de anfetamina, clorhidrato de metanfetamina, clorhidrato de benzanfetamina, sulfato de isoproterenol, clorhidrato de fenmetrazina, cloruro de betanecol, cloruro de metacolina, clorhidrato de pilocarpina, sulfato de atropina, bromuro de escopolamina, yoduro de isopropamida, cloruro de tridihexetilo, clorhidrato de fenformina, clorhidrato de metilfenidato, colinato de teofilina, clorhidrato de cefalexina, difenidol, clorhidrato de meclizina, maleato de proclorperazina, fenoxibenzamina, maleato de trietilperazina, anisindiona, difenadiona, tetranitrato de eritritilo, digoxina, isofluorato, acetazolamida, metazolamida, bendroflumetiazida, clorpropamida, tolazamida, acetato de clormadinona, fenaglicodol, alopurinol, aluminio aspirina, metotrexato, acetil sulfisoxazol, eritromicina, hidrocortisona, acetato de hidrocorticoesterona, acetato de cortisona, dexametasona y sus derivados tales como betametasona, triamcinolona, metiltestosterona, 17- β -estradiol, etinil estradiol, etinil estradiol-3-metil éter, prednisolona, acetato de 17- α -hidroxiprogesterona, 19-norprogesterona, norgestrel, noretindrona, noretisterona, noretiederona, progesterona, norgesterona, noretinodrel, aspirina, indometazina, naproxeno, fenopropeno, sulindac, indoprofeno, nitroglicerina, dinitrato de isosorbida, propranolol,
- 60 timolol, atenolol, alprenolol, cimetidina, clonidina, imipramina, levodopa, clorpromazina, metildopa,

dihidroxifenilalanina, teofilina, gluconato cálcico, ketoprofeno, ibuprofeno, cefalexina, eritromicina, haloperidol, zomepirac, lactato ferroso, vincamina, diazepam, fenoxibenzamina, diltiazem, milrinona, capropril, mandol, quanbenz, hidroclorotiazida, ranitidina, flurbiprofeno, fenefeno, fluprofeno, tolmetina, aceclofenaco, mefenámico, flufenámico, difuinal, nimodipina, nitrendipina, nisoldipina, nicardipina, felodipina, lidoflazina, tiapamil, galopamil, amlodipina, mioflazina, lisinolpril, enalapril, enalaprilat, captopril, ramipril, famotidina, nizatidina, sucralfato, etintidina, tertatolol, minoxidil, clordiazepóxido, diazepam, amitriptilina, e imipramina. Ejemplos adicionales son proteínas y péptidos que incluyen, si bien no se limitan a los mismos, proteínas morfogénicas óseas, insulina, colchicina, glucagón, hormona estimulante de la tiroides, hormonas paratiroidea y pituitaria, hormonas digestivas, calcitonina, renina, prolactina, corticotrofina, hormona tirotrópica, hormona estimulante de los folículos, gonadotropina coriónica, hormona liberadora de gonadotropina, somatotropina bovina, somatotropina porcina, oxitocina, vasopresina, GRF, somatostatina, lipresina, pancreozimina, hormona luteinizante, LHRH, agonistas y antagonistas de LHRH, leuprolide, interferones (por ejemplo, interferón de consenso, interferón α -2 α , interferón α -2 β , α -, β -, o γ - interferón, interleucinas, hormonas del crecimiento tales como la hormona del crecimiento humano y sus derivados, tales como hormona del crecimiento humano-metionina y hormona del crecimiento humano-desfenilalanina, hormona del crecimiento bovino y hormona del crecimiento porcino, inhibidores de la fertilidad tales como las prostaglandinas, promotores de la fertilidad, factores de crecimiento tales como factor del crecimiento similar a insulina, factores de coagulación, factor de liberación de la hormona del páncreas, análogos y derivados de estos compuestos, y sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos, o de sus análogos o derivados. El agente terapéutico puede ser una mezcla de fármacos o agentes (por ejemplo, dos o más agentes) que se pueden administrar conjuntamente de modo beneficioso en la formulación de liposomas.

El procedimiento de la invención es un procedimiento sencillo, rápido y menos caro para producir sistemas de liposomas acuosos sin disolventes orgánicos, el cual permite una inspección particularmente sencilla y rápida de partículas extrañas. Además, el sistema de liposomas producido de acuerdo con el procedimiento de la invención muestra tamaños de partícula altamente reproducibles, con un tamaño de partícula promedio inferior a 5 micrómetros, preferentemente entre 50 nm y 1 micrómetro. También es posible filtrar el producto mediante filtración estéril conocida en la técnica. La duración de la extrusión, o la homogeneización por separación a alta presión, se selecciona para que sea suficientemente prolongada a fin de que los liposomas muestren el diámetro promedio deseado. Dicha extrusión, o la homogeneización por separación a alta presión, se efectúa hasta que los liposomas poseen un diámetro promedio entre 50 nm y 1 micrómetro.

El sistema de liposomas producido de acuerdo con el procedimiento de la presente invención se puede llenar directamente en las ampollas correspondientes en un estado listo para su uso, y liofilizar el producto tras la adición de la cantidad deseada de un carbohidrato conocido en la técnica, con lo cual la liofilización constituye el mejor procedimiento para secar el agua. Esto genera un sistema de liposomas en forma de polvo, que puede ser reconstituido en las vesículas mediante la adición de una cantidad adecuada de agua para inyección, solución salina normal o dextrosa al 5 % con agitación suave. No es necesario someter el sistema de liposomas formado tras la adición de agua para inyección a una agitación exhaustiva o a una homogeneización por separación a alta presión.

Los procedimientos y composiciones de la presente invención se pueden usar para tratar una enfermedad causada por una infección fúngica o bacteriana. En algunas realizaciones, los procedimientos y composiciones de la presente invención se usan para tratar una enfermedad fúngica causada por al menos uno de los hongos seleccionado entre el grupo de hongos que consiste en *Acremonium sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus pneumonia*, *Blastomyces dermatitidis*, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium sp.*, *Histoplasma capsulatum*, *Mucor mucedo*, *Rhodotorula sp.*, *Sporothrix schenckii*, *Acanthamoeba polyphaga*, *Entomophthora sp.*, *Histoplasma capsulatummm*, *Leishmania brasiliensis*, *Rhizopus sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Torulopsis glabrata*, *Paracoccidioides brasiliensis*. Patógenos fúngicos adicionales incluyen *Trichosporon*, *Muco*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Curvularia*, etc.

Los procedimientos y composiciones de la presente invención se pueden usar para tratar enfermedades causadas por una especie de *Leishmania*, por ejemplo, en algunas realizaciones, los procedimientos y composiciones de la presente invención se pueden usar para tratar la leishmaniasis visceral.

En algunas realizaciones, los procedimientos y composiciones de la presente invención se pueden usar para tratar una infección vírica, por ejemplo una infección vírica causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), los virus del herpes simple (VHS-1 y VHS-2), el virus de la hepatitis C (VHC) o el citomegalovirus (CMV).

En algunas realizaciones, la presente invención comprende un procedimiento para tratar una célula con anfotericina B, con o sin desoxicolato, preparando una composición de acuerdo con lo descrito en el presente documento, y exponiendo las células a la composición. En algunas realizaciones preferentes, la exposición de la célula se produce *in vivo*, por ejemplo, en un paciente o sujeto.

Se contempla que en algunas realizaciones, la exposición de una célula en un sujeto comprende la administración oral de la composición al sujeto, mientras que en otras realizaciones, la exposición de una célula comprende la administración intravenosa de la composición al sujeto. Las vías de administración de la composición al sujeto que se pueden usar en la presente invención incluyen, si bien no se limitan a las mismas, la administración subcutánea, la administración parenteral, la administración intraperitoneal, la administración rectal, la administración vaginal y/o la

administración tópica. En algunas realizaciones preferentes, el sujeto es un mamífero. En algunas realizaciones particularmente preferentes, el mamífero es un humano.

Definiciones

5 El término "composición de lípidos", tal como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos anfóteros que son capaces de formar liposomas, de formar vesículas, de formar micelas, de formar emulsiones, y son sustancialmente no tóxicos cuando son administrados. La composición de lípidos puede incluir, sin limitación, fosfatidilcolina de huevo (EPC), fosfatidilglicerol del huevo (EPG), fosfatidilcolina de soja (SPC), fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), dimiristoilfosfatidilglicerol (DMPG), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), diesteroilfosfatidilglicerol (DSPG), dipalmitoilfosfatidilglicerol (DMPG), colesterol (Chol), sulfato de colesterol y sus sales (CS), hemisuccinato de colesterol y sus sales (CHEMS), fosfato de colesterol y sus sales (CP), colesteroilfosfolina y otros derivados de hidroxicolesterol o amino colesterol.

Tal como se usa en el presente documento, el término "acuoso" usado con referencia a un disolvente, líquido o sistema, se refiere a un disolvente, líquido o sistema basado en agua que no contienen ningún disolvente orgánico.

15 Tal como se usa en el presente documento, el término "sistema acuoso" usado con referencia a la producción de un complejo que comprende al menos un compuesto activo y al menos un lípido se refiere a un proceso o procedimiento de producción, o al conjunto de materiales usados en tal producción, que contiene o comprende el uso de disolventes basados en agua y lípidos pero que no contiene o comprende el uso de disolventes orgánicos.

20 Tal como se usa en el presente documento, el término "disolvente orgánico" se refiere a un compuesto químico que contiene carbono, generalmente en forma líquida, usado para disolver otra sustancia. Ejemplos de disolventes orgánicos incluyen, si bien no se limitan a los mismos, alcoholes, glicoles, éteres, dimetoxietano, acetona, cloroformo, dimetilsulfóxido, hexano, tolueno, tetrahidrofurano (THF), cloruro de metileno y similares.

25 El término "cantidad de encapsulación" se refiere a la cantidad de lípido necesaria para encapsular el compuesto poco soluble y formar liposomas o partículas lipídicas con un tamaño de partícula promedio apropiado inferior a 5000 nm de diámetro, preferentemente entre 30 y 1000 nm. La cantidad de encapsulación dependerá de los compuestos farmacéuticamente activos y de las condiciones del procedimiento seleccionadas, pero en general variará desde 2:1 hasta aproximadamente 1:100 de relación compuesto:lípido; preferentemente de aproximadamente 1:1 hasta aproximadamente 1:50.

30 El término "partícula lipídica", tal como se usa en el presente documento, se refiere a partículas de estructura indefinida que consisten en un lípido adecuado y un compuesto farmacéuticamente activo encapsulado o complejoado. Los antibióticos polienos a elevadas relaciones antibiótico:lípido forman normalmente partículas lipídicas más que liposomas, debido a la estructura del polieno y su interacción con el lípido. Las partículas lipídicas pueden tener una estructura laminar pero no es necesario que exhiban una estructura definida.

35 Tal como se usa en el presente documento, el término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de una composición activa (por ejemplo, una composición o compuesto farmacéutico proporcionado como componente en una formulación lipídica) suficiente para producir los resultados beneficiosos o deseados. Se puede administrar una cantidad eficaz en una o más administraciones, aplicaciones o dosificaciones y no se pretende limitarla a una formulación o vía de administración particular.

40 Tal como se usan en el presente documento, los términos "activo" y "farmacéuticamente activo" usados con referencia a un agente, composición o compuesto, se refieren a un agente que, tras su administración o aplicación, produce un resultado beneficioso, deseado o esperado. La administración puede ser en una o más administraciones, aplicaciones o dosificaciones y no se pretende limitarla a una formulación o vía de administración particular. El término no se limita a ningún nivel de actividad particular. Por ejemplo, una formulación lipídica de un agente activo no ha de tener el mismo nivel de actividad que una formulación diferente de un agente activo, siempre que el agente activo en la formulación lipídica sea lo suficientemente activo como para que una cantidad eficaz del agente activo se pueda administrar mediante administración de la formulación lipídica del agente.

Los términos "agente" y "compuesto" usados en el presente documento de forma intercambiable se refieren a cualquier átomo, molécula, mezcla, o composición más compleja que tiene una característica asignada. Por ejemplo, un "agente activo" o "compuesto activo" se refiere a cualquier átomo, molécula, preparación, mezcla, etc., que, tras su administración o aplicación, produce un resultado beneficioso, deseado, o esperado.

50 Tal como se usa en el presente documento, el término "administración" se refiere al acto de administrar un fármaco, profármaco u otro agente activo, o tratamiento terapéutico (por ejemplo, las composiciones de la presente invención) a un sistema fisiológico (por ejemplo, un sujeto o células, tejidos y órganos *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*). Ejemplos de vías de administración al cuerpo humano pueden ser a través de los ojos (oftálmica), boca (oral), piel (transdérmica), nariz (nasal), pulmones (inhalación), rectal, vaginal, mucosa oral (bucal), oído, mediante inyección (por ejemplo, intravenosa, subcutánea, intratumoral, intraperitoneal, etc.) y similares. La administración puede ser en una o más administraciones, aplicaciones o dosificaciones y no se pretende limitarla a una vía de administración particular.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "administración conjunta" se refiere a la administración de al menos dos agentes (por ejemplo, dos composiciones de lípidos separadas, que contienen diferentes compuestos activos) o terapias a un sujeto. En algunas realizaciones, la administración conjunta de dos o más agentes o terapias es simultánea. En otras realizaciones, se administra un primer agente/terapia antes de un segundo agente/terapia.

5 Los expertos en la materia entienden que las formulaciones y/o vías de administración de los diversos agentes o terapias usados pueden variar. La dosificación apropiada para la administración conjunta puede ser determinada con facilidad por un experto en la materia. En algunas realizaciones, cuando se administran conjuntamente agentes o terapias, los respectivos agentes o terapias se administran a dosificaciones menores que la apropiada para su administración por separado. Por tanto, la administración conjunta es especialmente deseable en realizaciones en las que la administración conjunta de los agentes o terapias reduce la dosis necesaria de un agente o agentes potencialmente perjudiciales (por ejemplo, tóxicos).

Tal como se usa en el presente documento, el término "tóxico" se refiere a cualquier efecto nocivo o perjudicial en un sujeto, una célula o un tejido en comparación con la misma célula o el mismo tejido antes de la administración de la sustancia tóxica.

15 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "composición farmacéutica" se refiere a la combinación de un agente activo (por ejemplo, un compuesto farmacéutico activo) con un vehículo, inerte o activo (por ejemplo, un fosfolípido), haciendo especialmente adecuada la composición para uso diagnóstico o terapéutico *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*.

20 Las expresiones "farmacéuticamente aceptable" o "farmacológicamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, se refieren a composiciones que no producen sustancialmente reacciones adversas, por ejemplo, reacciones tóxicas, alérgicas o inmunológicas, cuando se administran a un sujeto.

25 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "por vía tópica" se refiere a la aplicación de las composiciones de la presente invención a la superficie de la piel y los tejidos y células de la mucosa (por ejemplo, la mucosa alveolar, bucal, lingual, masticatoria o nasal, y otros tejidos y células que recubren órganos huecos o cavidades corporales).

30 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquiera de los vehículos farmacéuticos convencionales que incluyen, si bien no se limitan a los mismos, solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones (por ejemplo, tales como emulsiones aceite/agua o agua/aceite), y diversos tipos de agentes humectantes, cualquiera de todos los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, lauril sulfato sódico, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, disgregantes (por ejemplo, almidón de patata o almidón glicolato sódico), y similares. Las composiciones pueden incluir también estabilizantes y conservantes. Para ejemplos de vehículos, estabilizantes y adyuvantes. (véase, por ejemplo, Ciencias Farmacéuticas de Remington, 15ª Ed., Mack Publ. Co., Easton, Pa. (1975), incorporado por referencia al presente documento). Además, en determinadas realizaciones, las composiciones de la presente invención se pueden formular para uso en horticultura o agricultura. Tales formulaciones incluyen inmersiones, pulverizaciones, tratamiento de semillas, inyecciones al tronco, pulverizaciones y nebulizaciones.

35 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sal (por ejemplo, obtenida mediante reacción con un ácido o una base) de un compuesto de la presente invención que es fisiológicamente tolerada por el sujeto destinatario (por ejemplo, un sujeto mamífero, y/o células, tejidos u órganos *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*). Las "sales" de los compuestos de la presente invención se pueden derivar de ácidos y bases orgánicos o inorgánicos. Ejemplos de ácidos incluyen, si bien no se limitan a los mismos, ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, perclórico, fumárico, maleico, fosfórico, glicólico, láctico, salicílico, succínico, p-tolueno-sulfónico, tartárico, acético, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, fórmico, benzoico, malónico, sulfónico, naftaleno-2-sulfónico, bencenosulfónico, y similares. Otros ácidos tales como el ácido oxálico, aunque por sí mismos no son farmacéuticamente aceptables, se pueden usar en la preparación de sales útiles como intermedios para obtener los compuestos de la invención y sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

40 Ejemplos de base incluyen, si bien no se limitan a las mismas, hidróxidos de metales alcalinos (por ejemplo, de sodio), hidróxidos de metales alcalino-térreos (por ejemplo, magnesio), amoníaco, y compuestos de fórmula NW_4^+ , en la que W es alquilo C_{1-4} , y similares.

45 Ejemplos de sales incluyen, si bien no se limitan a las mismas, acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, flucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, cloruro, bromuro, yoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato, undecanoato, y similares. Otros ejemplos de sales incluyen aniones de los compuestos de la presente invención unidos a un catión adecuado tal como Na^+ , NH_4^+ , y NW_4^+ (en el que W es un grupo alquilo C_{1-4}), y similares. Para uso terapéutico, se contempla que las sales de los compuestos de la presente invención sean farmacéuticamente aceptables. No obstante, se pueden usar también sales de ácidos y bases que no son

farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable.

5 Para uso terapéutico, se contempla que las sales de los compuestos de la presente invención sean farmacéuticamente aceptables. No obstante, se pueden usar también sales de ácidos y bases que no son farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable.

10 El término "polietilenglicol (PEG)" incluye polímeros de óxido de alquileo inferior, en particular, óxido de etileno (polietilenglicoles) que tienen un grupo hidroxilo esterificable al menos en un extremo de la molécula de polímero, así como derivados de tales polímeros que tienen grupos carboxi esterificables. Los polietilenglicoles con un peso molecular promedio que varía entre 200 y 20 000 son preferentes; los que tienen un peso molecular promedio que varía entre 500 y 2000 son particularmente preferentes.

15 El uso de términos "un" y "una" y "el" y "la" y referentes similares en el contexto de descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) se ha de interpretar tanto en singular como en plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o esté claramente en contradicción con el contexto. Las expresiones "que comprende(n)", "que incluye(n)", "que tiene(n)" y "que contiene(n)" se han de interpretar como términos abiertos (es decir, que significan "incluye(n) pero no se limita(n) a los mismos"), a menos que se indique lo contrario. El uso de cualquiera y de todos los ejemplos, o el lenguaje ilustrativo (por ejemplo, "tal como") proporcionados en el presente documento, pretenden simplemente ilustrar la invención y no plantean ninguna limitación al alcance de la invención a menos que se reivindique de otro modo. Ningún lenguaje de las especificaciones se debe interpretar como indicativo de ningún elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a la preparación de formulaciones de lípidos tal como se expone en las reivindicaciones.

25 En particular, la presente invención se refiere a una composición y un procedimiento para la preparación de una formulación sin disolventes orgánicos que comprende uno o más compuestos activos.

La presente invención se refiere también a composiciones y procedimientos para la administración de agentes anticancerosos, por ejemplo, docetaxel y paclitaxel, y agentes inmunosupresores, tales como tacrolimus y sacrolimus.

30 La presente invención se refiere a composiciones y procedimientos para la administración de antibióticos polienos que reducen la toxicidad del antibiótico para el huésped que se está tratando. Se han usado diversas estrategias de formulación para reducir la nefrotoxicidad de la anfotericina.

35 La anfotericina B es insoluble en solución acuosa y antes de poder usarla clínicamente como agente antifúngico, se ha de añadir un vehículo (excipiente) para formar una dispersión. La preparación comercial de anfotericina B Fungizone® es una mezcla de anfotericina B, un desoxicolato tensioactivo, y un tampón. Cuando se suspende en una solución de glucosa, la Fungizone® forma una dispersión coloidal adecuada para inyección intravenosa. (Brajtburg, J. y col. 1990). La Fungizone®, la primera formulación comercializada de anfotericina B con desoxicolato sigue siendo un tratamiento de referencia a pesar de su toxicidad renal. La Fungizone® se comercializa actualmente como una pasta liofilizada que proporciona 50 mg de anfotericina B y 41 mg de desoxicolato con 20,2 mg de fosfatos sódicos como tampón.

45 En un esfuerzo por mejorar la administración de anfotericina B en el tratamiento de enfermedades fúngicas, se han diseñado diversas formulaciones de liposomas. La composición liposómica que contiene fosfatidilcolina de huevo, dipalmitoil fosfatidiletanolamina, y colesterol en una relación molar de 6:1:3 era más eficaz en la mejora del índice terapéutico en comparación con el fármaco libre. Además, la anfotericina B intercalada en liposomas manosilados es menos tóxica y más eficaz como fungicida (Ahmad, I. y col., 1989, 1990, 1991).

50 La AmBisome® es una formulación liofilizada de anfotericina B incorporada a liposomas unilamelares formados a partir de fosfatidilcolina de soja, diestearoilfosfatidilglicerol y colesterol. La AmBisome® se une a las células fúngicas lo que da como resultado la muerte del hongo. (Adler-Moore, Jill P. y col., 1994; Adler-Moore y col. 1993). La formulación AmBisome® ha reducido considerablemente la toxicidad de la anfotericina B, y se pueden conseguir altas concentraciones en plasma y acumulaciones en tejido del fármaco con dosis no tóxicas de AmBisome® (Proffitt y col, US 5.965.156, 1999; Proffitt, R. T. 1991).

55 La Abelcet® es una formulación de liposomas que consiste en una relación 1:1 de anfotericina B en combinación con una relación 7:3 de dimiristoil fosfatidilcolina y dimiristoil fosfatidilglicerol. El complejo resultante forma una estructura de cinta muy apretada, de aproximadamente 250 nm de diámetro. La seguridad y eficacia de la Abelcet® se ha evaluado ampliamente en estudios clínicos y se ha demostrado que la Abelcet® es en general menos tóxica que la anfotericina B desoxicolato (Lister, J. 1996; Walsh, T.J. y col 1997).

- A fin de reducir la toxicidad de la anfotericina B, se ha desarrollado una nueva formulación que consiste en un complejo de sulfato de colesterilo con anfotericina B, la dispersión coloidal de anfotericina B (Amphotec®). La Amphotec® es un complejo estable de anfotericina B y sulfato de colesterilo en una relación molar 1:1. Estudios *in vitro* con sangre humana fresca han demostrado que el complejo fármaco-lípido no da como resultado la hemólisis de los eritrocitos y la unión a las lipoproteínas del plasma es menor que la observada con la Fungizone®. No obstante, la farmacocinética de la anfotericina B tras las infusiones de ABCD no difiere significativamente de la de la Fungizone®. (Szoka, F.C. Jr. US 5277914 A 1994; Abra, R. y Guo, L.S. US 5.194.266, 1993; Abra, R. US 5.032.582, 1991; Abra, R. US 4.822.777, 1989; Abra, R. y col. Solic. PCT WO8701933, 1987; Sanders, S. y col. 1991).
- Las diversas formulaciones lipídicas de anfotericina B descritas anteriormente, no obstante, aún son capaces de producir todas las toxicidades asociadas a la anfotericina B sola, si bien la nefrotoxicidad se ha reducido en cierto grado con todas estas formulaciones.
- La presente invención proporciona formulaciones que usan nuevas composiciones de lípidos que reducen las toxicidades asociadas a compuestos activos tales como la anfotericina B desoxicolato.
- La presente invención proporciona composiciones y procedimientos para administrar compuestos activos tales como antibióticos polienos, por ejemplo, a un huésped mamífero. Ejemplos de antibióticos polienos que se pueden usar en la presente invención incluye, si bien no se limitan a los mismos, anfotericina B desoxicolato (Fungizone®), nistatina (Nys), natamicina, candicidina, aureofungina A, aureofungina B, hamicina A, hamicina B, trienina, pimaricina, etruscomicina, chainina, dermostatina, filipina y linfosarcina. En algunas realizaciones preferentes, la presente invención comprende composiciones y procedimientos para la administración de anfotericina B desoxicolato (Fungizone®) a un huésped mamífero. Se puede usar una cantidad adecuada de compuesto activo, por ejemplo, antibióticos polienos tal como la anfotericina B desoxicolato. Cantidades adecuadas de antibiótico polieno son aquellas cantidades que se pueden incorporar establemente en los complejos de la presente invención.
- La presente invención proporciona composiciones y procedimientos para la administración de agentes anticancerosos, por ejemplo, a un huésped mamífero. Ejemplos de agentes anticancerosos que se pueden usar en la presente invención incluyen, si bien no se limitan a los mismos, paclitaxel, docetaxel, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, etopósido, tamoxifeno, endoxifeno, vincristina, antraciclina, y similares. Se puede usar cualquier cantidad adecuada de agentes anticancerosos. Cantidades adecuadas de agentes anticancerosos son aquellas cantidades que se pueden incorporar establemente en los complejos de la presente invención.
- La presente invención proporciona composiciones y procedimientos para la administración de agentes inmunosupresores. Ejemplos de agentes inmunosupresores que se pueden usar en la presente invención incluyen, si bien no se limitan a los mismos, tacrolimus y sacrolimus. Se puede usar cualquier cantidad adecuada de agentes inmunosupresores. Cantidades adecuadas de agentes inmunosupresores son aquellas cantidades que se pueden incorporar establemente en los complejos de la presente invención.
- La presente invención proporciona composiciones y procedimientos para el tratamiento de reacciones de rechazo causadas por el trasplante de órganos y tejidos. Ejemplos de trasplantes de órganos y tejidos incluyen, si bien no se limitan a los mismos, corazón, riñón, hígado, pulmón, médula ósea, piel, córnea, páncreas, intestino delgado, músculos, extremidades, mioblastos, discos intervertebrales, cartílagos, huesos, vasos sanguíneos, sistema nervioso, esófago y similares.
- En algunas realizaciones, la presente descripción comprende un complejo lipídico con un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B con o sin desoxicolato) en la que el complejo contiene un lípido o una mezcla de lípidos. En algunas realizaciones, los complejos están en forma de micelas, emulsiones o una mezcla de micelas y vesículas. Las micelas de la presente invención pueden estar en forma, por ejemplo, de micelas monoméricas, diméricas, poliméricas o mixtas. En algunas realizaciones, los complejos que incluyen micelas, emulsiones, o una mezcla de micelas y vesículas, están predominantemente en el intervalo de tamaños de 50 nm-20 micrómetros, mientras que en algunas realizaciones preferentes, las micelas y emulsiones están en el intervalo de tamaños de 50 nm-5 micrómetros. En los complejos de la presente invención, el antibiótico puede estar unido al lípido mediante enlaces covalentes, hidrófobos, electrostáticos, de hidrógeno u otros, y se considera "unido" incluso si está simplemente atrapado en el interior del lípido.
- Los complejos agente activo-lípido (por ejemplo, complejos anfotericina B-lípido con o sin desoxicolato) contienen colesterol o derivados del colesterol. Ejemplos de derivados del colesterol que se pueden usar en la presente invención incluyen, si bien no se limitan a los mismos, sulfato de colesterilo, hemisuccinato de colesterilo.
- En algunas realizaciones preferentes, las composiciones incluyen también α -, β -, γ -tocoferoles, vitamina E, calciferol, derivados de ácidos orgánicos de α -, β -, γ -tocoferoles, tales como hemisuccinato de α -tocoferol (THS), succinato de α -tocoferol, o mezclas de los mismos.
- En algunas realizaciones preferentes, los complejos agente activo-lípido (por ejemplo, complejos anfotericina B-lípido, con o sin desoxicolato) contienen esteroides. Ejemplos de esteroides que se pueden usar en la presente invención incluyen, si bien no se limitan a los mismos, β -sitosterol, estigmasterol, estigmastanol, lanosterol, α -espinasterol, latosterol, campesterol y/o mezclas de los mismos.

Composiciones de la presente descripción incluyen también compuestos activos (por ejemplo, complejos de anfotericina B con o sin desoxicolato) con base libre y/o sales o ésteres de ácidos grasos. En algunas realizaciones preferentes, los ácidos grasos varían de longitudes de cadena carbonada de aproximadamente C₂ a C₃₄, preferentemente entre aproximadamente C₄ y aproximadamente C₂₄, e incluyen ácido tetraicoico (C_{4:0}), ácido pentanoico (C_{5:0}), ácido hexanoico (C_{6:0}), ácido heptanoico (C_{7:0}), ácido octanoico (C_{8:0}), ácido nonanoico (C_{9:0}), ácido decanoico (C_{10:0}), ácido undecanoico (C_{11:0}), ácido dodecanoico (C_{12:0}), ácido tridecanoico (C_{13:0}), ácido tetradecanoico (mirístico) (C_{14:0}), ácido pentadecanoico (C_{15:0}), ácido hexadecanoico (palmítico) (C_{16:0}), ácido heptadecanoico (C_{17:0}), ácido octadecanoico (esteárico) (C_{18:0}), ácido nonadecanoico (C_{19:0}), ácido eicosanoico (araquídico) (C_{20:0}), ácido heneicosanoico (C_{21:0}), ácido docosanoico (behénico) (C_{22:0}), ácidotricosanoico (C_{23:0}), ácido tetracosanoico (C_{24:0}), ácido 10-undecenoico (C_{11:1}), ácido 11-dodecenoico (C_{12:1}), ácido 12-tridecenoico (C_{13:1}), ácido miristoleico (C_{14:1}), ácido 10-pentadecenoico (C_{15:1}), ácido palmitoleico (C_{16:1}), ácido oleico (C_{18:1}), ácido linoleico (C_{18:2}), ácido linoléico (C_{18:3}), ácido eicosenoico (C_{20:1}), ácido eicosadienoico (C_{20:2}), ácido eicosatrienoico (C_{20:3}), ácido araquidónico (ácido cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico) y ácido cis-5,8,11,14,17-eicospentaenoico, entre otros. Otras cadenas de ácidos grasos se pueden emplear también en las composiciones. Ejemplos de tales incluyen ácidos grasos saturados tales como ácido etanoico (o acético), ácido propanoico (o propiónico), ácido butanoico (o butírico), ácido hexacosanoico (o cerótico), ácido octacosanoico (o montánico), ácido triacontanoico (o melísico), ácido dotriacontanoico (o laceroico), ácido tetratriacontanoico (o gédico), ácido pentatriacontanoico (o ceroplástico), y similares; ácidos grasos insaturados monoetenoicos tales como ácido trans-2-butenoico (o crotónico), ácido cis-2-butenoico (o isocrotonoico), ácido 2-hexenoico (o isohidrosórbico), ácido 4-decanoico (o obtusilico), ácido 9-decanoico (o caproleico), ácido 4-dodecenoico (o lindérico), 5-dodecenoico (o denticético), ácido 9-dodecenoico (o lauroleico), ácido 4-tetradecenoico (o tsuzuico), ácido 5-tetradecenoico (o fisetérico), ácido 6-octadecenoico (o petroselénico), ácido trans-9-octadecenoico (o elaidico), ácido trans-11-octadecenoico (o vacínico), ácido 9-eicosenoico (o gadoleico), ácido 11-eicosenoico (o gondoico), ácido 11-docosenoico (o cetoleico), ácido 13-decosenoico (o erúxico), ácido 15-tetracosenoico (o nervónico), ácido 17-hexacosenoico (o ximénico), ácido 21-triacontenoico (o lumequeico), y similares; ácidos grasos insaturados dienoicos tales como ácido 2,4-pentadienoico (o β-vinilacrílico), ácido 2,4-hexadienoico (o sórbico), ácido 2,4-decadienoico (o estilingico), ácido 2,4-dodecadienoico, ácido 9,12-hexadecadienoico, ácido cis-9, cis-12-octadecadienoico (o α-linoleico), ácido trans-9, trans-12-octadecadienoico (o linolelaídico), ácido trans-10,trans-12-octadecadienoico, ácido 11,14-eicosadienoico, ácido 13,16-docosadienoico, ácido 17,20-hexacosadienoico y similares; ácidos grasos insaturados trienoicos tales como ácido 6,10,14-hexadecatrienoico (o hiragónico), ácido 7,10,13-hexadecatrienoico, ácido cis-6, cis-9-cis-12-octadecatrienoico (o γ-linoleico), ácido trans-8, trans-10- trans-12-octadecatrienoico (o β-caléndico), cis-8, trans-10-cis-12-octadecatrienoico, ácido cis-9, cis-12- cis-15-octadecatrienoico (o α-linolenico), ácido trans-9, trans-12-trans-15-octadecatrienoico (o α-linolenaídico), ácido cis-9, trans-11-trans-13-octadecatrienoico (o α-eleosteárico), ácido trans-9, trans-11-trans-13-octadecatrienoico (o β-eleosteárico), ácido cis-9, trans-11-cis-13-octadecatrienoico (o punícico), ácido 5,8,11-eicosatrienoico, ácido 8,11,14-eicosatrienoico, y similares; ácidos grasos insaturados tetraenoicos tales como ácido 4,8,11,14-hexadecatetraenoico, ácido 6,9,12,15-hexadecatetraenoico, ácido 4,8,12,15-octadecatetraenoico (o moróctico), ácido 6,9,12,15-octadecatetraenoico, ácido 9,11,13,15-octadecatetraenoico (o α- o β-parinárico), ácido 9,12,15,18-octadecatetraenoico, ácido 4,8,12,16-eicosatetraenoico, ácido 6,10,14,18-eicosatetraenoico, ácido 4,7,10,13-docasatetraenoico, ácido 7,10,13,16-docasatetraenoico, ácido 8,12,16,19-docasatetraenoico, y similares; ácidos grasos insaturados penta- y hexaenoicos tales como ácido 4,8,12,15,18-eicosapentaenoico (o timnodónico), ácido 4,7,10,13,16-docosapentaenoico, ácido 4,8,12,15,19-docosapentaenoico (o clupanodónico), ácido 7,10,13,16,19-docosapentaenoico, ácido 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico, ácido 4,8,12,15,18,21-tetracosahexaenoico (o nisínico), y similares; ácidos grasos de cadena ramificada tales como ácido 3-metilbutanoico (o isovalérico), ácido 8-metil-dodecanoico, ácido 10-metilundecanoico (o isoláurico), ácido 11-metildodecanoico (o isoundecílico), ácido 12-metiltridecanoico (o isomirístico), ácido 13-metiltetradecanoico (o isopentadecílico), ácido 14-metilpentadecanoico (o isopalmítico), ácido 15-metilhexadecanoico, ácido 10-metilheptadecanoico, ácido 16-metilheptadecanoico (o isosteárico), ácido 18-metilnonadecanoico (o isoaraquídico), ácido 20-metilheneicosanoico (o isobehénico), ácido 22-metiltricosanoico (o isolignocérico), ácido 24-metilpentacosanoico (o isocerótico), ácido 26-metilheptacosanoico (o isomonatónico), ácido 2,4,6-trimetil-octacosanoico (o micoceránico o micoserósico), ácido 2-metil-cis-2-butenoico (angélico), ácido 2-metil-trans-2-butenoico (o tíglico), ácido 4-metil-3-pentenoico (o piroterébico), y similares.

En determinadas realizaciones preferentes, los compuestos activos (por ejemplo, complejos de anfotericina B-lípido con o sin desoxicolato) comprenden fosfolípidos. Se puede usar cualquier fosfolípido adecuado. Por ejemplo, se pueden obtener fosfolípidos de fuentes naturales o se pueden sintetizar químicamente. Ejemplos de fosfolípidos que se pueden usar en la presente invención incluyen fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilglicerol (PG), fosfatidilserina (PS), fosfatidilcolina (PC), fosfatidilinositol (PI), ácido fosfatídico (PA), esfingomielina y similares, usados bien por separado o bien combinación. Los fosfatidilglicerol pueden tener cadena larga o cadena corta, saturada o insaturada, tal como dimiristoilfosfatidilglicerol, dioleoilfosfatidilglicerol, diestearoilfosfatidilglicerol, dipalmitoilfosfatidilglicerol, diaraquidonoilfosfatidilglicerol, fosfatidilglicerol (C₆-C₈) de cadena corta, y mezclas de los mismos. Ejemplos de fosfatidilcolinas que se pueden usar incluyen dimiristoilfosfatidilcolina, diestearoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina, dioleoilfosfatidilcolina, diaraquidonoilfosfatidilcolina, fosfatidilcolina de huevo, fosfatidilcolina de soja, fosfatidilcolina de soja hidrogenada, así como mezclas de las mismas.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones que comprenden al menos un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B con o sin desoxicolato) y derivados de mono-, di- y triglicéridos. Ejemplos de los glicéridos que se pueden usar en la presente invención incluyen, si bien no se limitan a los mismos, 1-oleoil-glicerol (monooleína) y 1,2-dioctanoil-5/7-glicerol.

5 Otro aspecto de la invención es complejar al menos un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B con o sin desoxicolato) con al menos un fosfolípido funcionalizado que incluye, si bien no se limita a los mismos, fosfatidiletanolamina, fosfatidiltoetanol, N-biotinilfosfatidiletanolamina, y fosfatidiletilenglicol. En algunas realizaciones preferentes, la anfotericina B con o sin desoxicolato se compleja con dioleilfosfatidiletanolamina.

10 Otro aspecto de la descripción es complejar al menos un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B con o sin desoxicolato) con al menos un lípido basado en carbohidratos. Ejemplos de lípidos basados en carbohidratos que se pueden usar en la presente invención incluyen, si bien no se limitan a los mismos, galactolípidos, manolípidos, galactolecitina, y similares.

15 Otro aspecto adicional de la descripción es complejar al menos un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B con o sin desoxicolato) con derivados de fosfolípidos tales como fosfolípidos PEGilados. Ejemplos de estos incluyen, si bien no se limitan a los mismos, derivados de polietilenglicol (PEGilado, PEG) de diestearoilfosfatidilglicerol, dimiristoilfosfatidilglicerol, dioleilfosfatidilglicerol, y similares.

Otro aspecto adicional de la presente invención proporciona composiciones que comprenden al menos un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B con o sin desoxicolato) y polietilenglicol (PEG) y uno o más lípidos.

20 De acuerdo con otro aspecto, la presente descripción proporciona composiciones que comprenden al menos un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B con o sin desoxicolato) complejoado con uno o más lípidos. Un ejemplo incluye composiciones que comprenden anfotericina B con o sin desoxicolato, colesterol o derivados del colesterol y uno o más fosfolípidos. Otros ejemplos de composiciones de acuerdo con la descripción incluyen anfotericina B con o sin desoxicolato, β -sitosterol, y uno o más fosfolípidos. En algunas realizaciones preferentes, la composición de la presente invención comprende anfotericina B, con o sin desoxicolato, sulfato de colesterilo y fosfatidilcolina de soja hidrogenada o fosfatidilcolina de soja.

25 La composición de la presente invención se puede fabricar disolviendo un compuesto activo, por ejemplo, anfotericina B desoxicolato (por ejemplo, Fungizone®) en agua a una concentración de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 25 mg/ml. En algunas realizaciones, el antibiótico se disuelve a una concentración entre 1 mg/ml y aproximadamente 20 mg/ml. En determinadas realizaciones preferentes, el antibiótico se disuelve a una concentración de entre 1 mg/ml y 10 mg/ml. En realizaciones particularmente preferentes, el antibiótico se disuelve a una concentración de entre 1 mg/ml y 5 mg/ml.

30 En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención contienen de aproximadamente un 2,5 % a aproximadamente 95 % en peso de lípido total, preferentemente de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 90 % en peso de lípido total, preferentemente de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 90 % en peso de lípido total.

35 En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención contienen al menos un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B, con o sin desoxicolato de sodio) y un lípido o lípidos en una relación molar entre 1 : 1 y 1 : 100, por ejemplo, una relación molar de entre 1 : 1 y 1 : 20 o una relación molar de entre 1 : 1 y 1 : 30 o una relación molar de entre 1 : 1 y 1 : 40 o una relación molar de entre 1 : 1 y 1 : 50, una relación molar de entre 1 : 1 y 1 : 60, relaciones molares de entre 1 : 1 y 1 : 70, y relaciones molares de entre 1 : 1 y 1 : 80. Tal como se usa en el presente documento, "de entre" incluye los límites de un intervalo mencionado. Por ejemplo, una relación molar de entre 1 : 1 y 1 : 20 incluye las relaciones de 1 : 1 y 1 : 20.

40 En determinadas realizaciones preferentes, las composiciones de la presente invención contienen al menos un compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B, con o sin desoxicolato de sodio), sulfato de colesterilo y fosfatidilcolina de soja hidrogenada. Tales composiciones incluyen anfotericina B y desoxicolato de sodio en una relación molar de 1 : 2.

45 En determinadas realizaciones preferentes, la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y el sulfato de colesterilo en una composición que contiene compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B), desoxicolato de sodio, sulfato de colesterilo y fosfatidilcolina de soja hidrogenada es de entre 1:1 y 1:20, tal como entre 1:1 y 1:10, o entre 1:1 y 1:5 o entre 1:1 y 1:2. En realizaciones particularmente preferentes, la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y el sulfato de colesterilo es de entre 1:1 y 1:5.

50 En determinadas realizaciones preferentes, la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y la fosfatidilcolina de soja hidrogenada en una composición que contiene compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B, con o sin desoxicolato de sodio), sulfato de colesterilo y fosfatidilcolina de soja hidrogenada, es de entre aproximadamente 1:1 y 1:90, por ejemplo, entre 1:1 y 1:70 o 1:1 y 1:60 o 1:1 y 1:50 o 1:1 y 1:40 y 1:1 y 1:30. En realizaciones particularmente preferentes, la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y fosfatidilcolina de soja hidrogenada es de entre 1:5 y 1:60.

- 5 En determinadas realizaciones preferentes, la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y la fosfatidilcolina de soja en una composición que contiene compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B), con o sin desoxicolato de sodio, sulfato de colestero, fosfatidilcolina de soja es de entre 1:1 y 1:90, por ejemplo, entre 1:1 y 1:70 o 1:1 y 1:60 o 1:1 y 1:50 o 1:1 y 1:40 y 1:1 y 1:30. En realizaciones particularmente preferentes, la relación molar entre el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B) y la fosfatidilcolina de soja es de entre 1:5 y 1:60.
- 10 En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención contienen compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B), y lípidos totales que tienen una relación en peso de entre 1:1 y 1:100 tal como una relación entre 1:1 y 1:20 o una relación entre 1:1 y 1:30 o una relación entre 1:1 y 1:40 o una relación entre 1:1 y 1:50, o una relación entre 1:1 y 1:60, o una relación entre 1:1 y 1:70, y o una relación entre 1:1 y 1:80, o una relación entre 1:1 y 1:90.
- 15 En algunas realizaciones, la relación molar entre el colesterol o el derivado de colestero (tal como sulfato de colestero) y uno o más fosfolípidos (por ejemplo, fosfatidilcolina de soja) está en 1:1 y 1:90, por ejemplo, entre 1:1 y 1:70 o 1:1 y 1:60 o 1:1 y 1:50 o 1:1 y 1:40 y 1:1 y 1:30. En realizaciones particularmente preferentes, la relación molar entre el derivado de colesterol (por ejemplo, sulfato de colestero) y la fosfatidilcolina de soja es de entre 1:1 y 1:20.
- 20 En algunas realizaciones, los procedimientos de la presente invención implican disolver el compuesto activo, por ejemplo, la anfotericina B (con o sin desoxicolato), en agua y mezclar el antibiótico disuelto y el lípido o lípidos conjuntamente. La solución de complejo compuesto activo-lípido se puede filtrar a través de filtros adecuados para controlar la distribución de tamaños de los complejos formados.
- 25 En algunas realizaciones, el procedimiento de la presente invención implica mezclar el lípido o lípidos y el desoxicolato de sodio conjuntamente en agua y añadir después el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B). La solución de complejo compuesto activo-lípido se puede filtrar a través de filtros adecuados para controlar la distribución de tamaños de los complejos formados.
- 30 En algunas realizaciones, el procedimiento comprende mezclar anfotericina B y un derivado de colestero, por ejemplo, sulfato de colestero en agua o tampón que tiene un pH en el intervalo de 1 a 3,0 y que se puede calentar, si se desea, a una temperatura que varía de 25 °C a 60 °C. La suspensión resultante se mezcla después con los fosfolípidos, por ejemplo fosfatidilcolina de soja o fosfatidilcolina de soja hidrogenada en agua o tampón y el pH se ajusta con una base o tampón adecuado de modo que la suspensión resultante alcance un pH que varía entre 5,00 y 8,00. El pH ácido se puede conseguir con cualquier ácido adecuado tal como ácido clorhídrico, ácido fosfórico y similares. Ejemplos de base o tampón incluyen, si bien no se limitan a los mismos, succinato de sodio dibásico, acetato de sodio, fosfato sódico monobásico, fosfato sódico dibásico, fosfato sódico tribásico, hidróxido sódico, y similares. La composición puede contener adicionalmente azúcar. Ejemplos de azúcares incluyen, si bien no se limitan a los mismos, sacarosa, lactosa, dextrosa, trehalosa maltosa, y similares. El porcentaje de azúcar puede variar de un 5 % a aproximadamente un 25 %. La suspensión resultante se puede homogeneizar o someter a ultrasonidos para reducir el tamaño de partícula. En algunas realizaciones, la suspensión hidratada se filtra a través de filtros adecuados para controlar la distribución de tamaños de los complejos formados. En algunas realizaciones, la composición hidratada se puede liofilizar para obtener la composición en forma de polvo. En algunas realizaciones, la composición hidratada se puede esterilizar en autoclave.
- 35 En algunas realizaciones, la presente invención comprende mezclar anfotericina B, desoxicolato de sodio, y uno o más lípidos en cualquier secuencia adecuada de modo que la composición resultante de la presente invención comprenda anfotericina B, desoxicolato de sodio, y uno o más lípidos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el procedimiento comprende mezclar anfotericina B en una solución que contiene desoxicolato de sodio en agua y después ajustar el pH con hidróxido sódico hasta que se disuelve por completo la anfotericina B. Después se añaden lípidos tal como fosfatidilcolina de soja a la solución de anfotericina B- desoxicolato de sodio, seguido de un lípido adicional, tal como sulfato de colestero. La solución de complejo anfotericina B-lípido se puede filtrar a través de filtros adecuados para controlar la distribución de tamaños de los complejos formados.
- 40 En algunas realizaciones, la presente invención comprende mezclar el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B), y uno o más lípidos en cualquiera secuencia adecuada de modo que la composición resultante de la presente invención comprenda el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B), y uno o más lípidos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el procedimiento comprende mezclar anfotericina B en agua y después ajustar el pH con hidróxido sódico hasta que se disuelve por completo la anfotericina B. Después se añaden lípidos tal como fosfatidilcolina de soja a la solución de anfotericina B, seguido de un lípido adicional, tal como sulfato de colestero. La solución de complejo anfotericina B-lípido se puede filtrar a través de filtros adecuados para controlar la distribución de tamaños de los complejos formados. En otra realización, se mezclan anfotericina B y sulfato de colestero a cualquier pH deseado tal como a pH bajo, por ejemplo, un pH de entre 1,00 y 4,00, o a un pH mayor, por ejemplo, a un pH de entre 9,00 y 12,00. El pH se ajusta entonces con una base o tampón adecuado de modo que la suspensión resultante alcance un pH en el intervalo entre 4,00 y 8,00 y después se mezcla con fosfolípidos, por ejemplo, fosfatidilcolina de soja o fosfatidilcolina hidrogenada.
- 45 En algunas realizaciones, el procedimiento de preparación de la presente invención comprende calentar una composición que comprende el compuesto activo (por ejemplo, anfotericina B en agua) con o sin desoxicolato y uno

o más lípidos. En algunas realizaciones, el calentamiento es a temperaturas que varía entre 30 y 121 °C. En algunas realizaciones preferentes, el calentamiento es a una temperatura entre 40 y 80 °C, en algunas realizaciones particularmente preferentes, el calentamiento es a una temperatura entre 40 y 70 °C. En algunas realizaciones, la composición hidratada se puede esterilizar en autoclave.

5 En algunas realizaciones, el procedimiento de preparación de la presente invención comprende mezclar el compuesto activo (por ejemplo, Tacrolimus), un derivado de colesterol (por ejemplo, sulfato de colesterol) y una fosfatidilcolina tal como fosfatidilcolina de soja o fosfatidilcolina de soja hidrogenada en agua o un tampón. La suspensión resultante se puede homogeneizar o someter a ultrasonidos a cualquier temperatura deseada que varíe entre 20 y 60 °C. Ejemplos de base o tampón incluyen, si bien no se limitan a los mismos, succinato de sodio
10 dibásico, acetato de sodio, fosfato sódico monobásico, fosfato sódico dibásico, fosfato sódico tribásico, hidróxido sódico, y similares. La composición puede contener adicionalmente azúcar. Ejemplos de azúcares incluyen, si bien no se limitan a los mismos, sacarosa, lactosa, dextrosa, trehalosa maltosa, y similares. El porcentaje de azúcar puede variar de un 5 % a aproximadamente un 25 %. La suspensión resultante se puede homogeneizar o someter a ultrasonidos para reducir el tamaño de partícula. En algunas realizaciones, la suspensión hidratada se filtra a través
15 de filtros adecuados para controlar la distribución de tamaños de los complejos formados. En algunas realizaciones, la suspensión hidratada se puede liofilizar para obtener la composición en forma de polvo. En algunas realizaciones, la composición hidratada se puede esterilizar en autoclave.

En algunas realizaciones, el procedimiento de preparación de la presente invención comprende mezclar el compuesto activo (por ejemplo, docetaxel), un derivado de colesterol (por ejemplo, sulfato de colesterol) y una
20 fosfatidilcolina tal como fosfatidilcolina de soja o fosfatidilcolina de soja hidrogenada en agua o un tampón. La suspensión resultante se puede homogeneizar o someter a ultrasonidos a cualquier temperatura deseada que varíe entre 20 y 120 °C. Ejemplos de base o tampón incluyen, si bien no se limitan a los mismos, succinato de sodio dibásico, acetato de sodio, fosfato sódico monobásico, fosfato sódico dibásico, fosfato sódico tribásico, hidróxido sódico, y similares. La composición puede contener adicionalmente azúcar. Ejemplos de azúcares incluyen, si bien
25 no se limitan a los mismos, sacarosa, lactosa, dextrosa, trehalosa maltosa, y similares. El porcentaje de azúcar puede variar de un 5 % a aproximadamente un 25 %. La suspensión resultante se puede homogeneizar o someter a ultrasonidos para reducir el tamaño de partícula. En algunas realizaciones, la suspensión hidratada se filtra a través de filtros adecuados para controlar la distribución de tamaños de los complejos formados. En algunas realizaciones, la suspensión hidratada se puede liofilizar para obtener la composición en forma de polvo. En algunas realizaciones,
30 la composición hidratada se puede esterilizar en autoclave.

En algunas realizaciones, el procedimiento de preparación de la presente invención comprende mezclar el compuesto activo (por ejemplo, paclitaxel), un derivado de colesterol (por ejemplo, sulfato de colesterol) y una
35 fosfatidilcolina tal como fosfatidilcolina de soja o fosfatidilcolina de soja hidrogenada en agua o un tampón. La suspensión resultante se puede homogeneizar o someter a ultrasonidos a cualquier temperatura deseada que varíe entre 20 y 120 °C. Ejemplos de base o tampón incluyen, si bien no se limitan a los mismos, succinato de sodio dibásico, acetato de sodio, fosfato sódico monobásico, fosfato sódico dibásico, fosfato sódico tribásico, hidróxido sódico, y similares. La composición puede contener adicionalmente azúcar. Ejemplos de azúcares incluyen, si bien
40 no se limitan a los mismos, sacarosa, lactosa, dextrosa, trehalosa maltosa, y similares. El porcentaje de azúcar puede variar de un 5 % a aproximadamente un 25 %. La suspensión resultante se puede homogeneizar o someter a ultrasonidos para reducir el tamaño de partícula. En algunas realizaciones, la suspensión hidratada se filtra a través de filtros adecuados para controlar la distribución de tamaños de los complejos formados. En algunas realizaciones, la suspensión hidratada se puede liofilizar para obtener la composición en forma de polvo. En algunas realizaciones,
45 la composición hidratada se puede esterilizar en autoclave.

El pH de la composición de la invención varía desde aproximadamente 4,0 hasta pH 8,0. En algunas realizaciones,
50 se preparan soluciones acuosas que tienen un pH adecuado a partir de agua que tiene una cantidad adecuada de tampones disueltos en la misma. En algunas realizaciones preferentes, los tampones comprenden mezclas de fosfato sódico monobásico, fosfato sódico dibásico y fosfato sódico tribásico. En algunas realizaciones preferentes, los tampones comprenden carbonato sódico, bicarbonato sódico, hidróxido sódico, acetato de amonio, succinato de sodio, citrato de sodio, tris (hidroximetil) aminoetano, benzoato de sodio, acetato de sodio, y similares.

55 En algunas realizaciones, los filtros se usan para obtener el intervalo de tamaños deseado de los complejos a partir del filtrado. Por ejemplo, los complejos se pueden formar y después filtrar a través de un filtro de 5 micrómetros para obtener un complejo con un diámetro de aproximadamente 5 micrómetros o inferior. Como alternativa, se pueden usar filtros de 1 µm, 500 nm, 200 nm, 100 nm u otros filtros para obtener complejos con un diámetro de aproximadamente 1 µm, 500 nm, 200 nm, 100 nm o cualquier otro intervalo adecuado de tamaños, respectivamente.

En algunas realizaciones, la composición de la presente invención se puede esterilizar mediante filtración a través de un filtro de 0,22 µm o 0,45 µm en condiciones asépticas. En otras realizaciones, la composición de la presente invención se puede esterilizar en un autoclave en el intervalo de 120 °C-130 °C durante un periodo de 15-20 minutos.

60 En algunas realizaciones, el complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, un complejo anfotericina B-lípido), con o sin desoxicolato, se seca, por ejemplo, mediante evaporación o liofilización. En determinadas realizaciones de la

invención, el complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, un complejo anfotericina B-lípido), con o sin desoxicolato, se liofiliza con uno o más crioprotectores, tales como azúcares. Ejemplos de azúcares que se pueden usar en la presente invención incluyen, si bien no se limitan a los mismos, trehalosa, maltosa, lactosa, sacarosa, glucosa y dextrano. En realizaciones preferentes, las composiciones de la presente invención comprenden trehalosa y/o sacarosa. La liofilización se lleva a cabo generalmente al vacío y puede tener lugar con o sin congelación previa del complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, una preparación anfotericina B-lípido) con o sin desoxicolato. Aunque la liofilización de la presente invención no se limita a ninguna configuración particular, la liofilización en la presente invención se puede efectuar, por ejemplo, en viales u otros contenedores que tienen los volúmenes deseados. La liofilización se puede efectuar también a granel en bandejas. Cuando se desee, los complejos se pueden suspender de nuevo en cualquier disolvente deseable que incluye agua, solución salina, dextrosa y tampón.

Preparaciones farmacéuticas que se pueden usar en la presente descripción incluyen, si bien no se limitan a las mismas, comprimidos, cápsulas, soluciones, suspensiones, emulsiones, pomadas; los geles pueden ser preparaciones farmacéuticas adecuadas. En algunas realizaciones, por ejemplo, para una administración por vía oral, el complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, el complejo anfotericina B-lípido, el complejo tacrolimus lípido, complejos paclitaxel o docetaxel lípido), con o sin desoxicolato, se usa en forma de comprimidos, cápsulas, pastillas para chupar, polvos, jarabes, soluciones acuosas, suspensiones y similares. En algunas realizaciones, por ejemplo, para una aplicación tópica, el complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, el complejo anfotericina B-lípido, con o sin desoxicolato) se proporciona en forma de geles, aceites y emulsiones, tal como es conocido mediante la adición de excipientes adecuados solubles en agua o insolubles en agua, por ejemplo, polietilenglicoles, determinadas grasas, y ésteres, compuestos que tienen mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados y derivados de los mismos. Los derivados incluyen, si bien no se limitan a los mismos, mono-, di-, y triglicéridos y ésteres alifáticos de los mismos (por ejemplo aceites de pescado, aceites vegetales, etc.) o mezclas de estas sustancias. En algunas realizaciones, los excipientes que se pueden usar junto con las composiciones de la presente invención comprenden aquellos en los que los complejos de fármaco son lo suficientemente estables como para permitir el uso terapéutico de los mismos.

En algunas realizaciones, las preparaciones de complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, el complejo anfotericina B-lípido con o sin desoxicolato, el complejo tacrolimus-lípido, complejos paclitaxel o docetaxel-lípido) se preparan en comprimidos revestidos entéricos o cápsulas, por ejemplo, para protegerlas de los ácidos en el estómago. "Entérico" se refiere al intestino delgado, por tanto "revestimiento entérico" se refiere generalmente a un revestimiento que previene sustancialmente la liberación de un medicamento antes de que alcance el intestino delgado. Aunque no se limita la invención a ningún mecanismo de acción particular, se entiende que la mayoría de los revestimientos entéricos actúan presentando una superficie que es estable a pH ácido pero que se desintegra rápidamente a un pH mayor. Revestimientos entéricos que se pueden usar en la presente invención comprenden cápsulas rellenas de complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, el complejo anfotericina B-lípido con o sin desoxicolato, el complejo tacrolimus-lípido, complejos paclitaxel o docetaxel-lípido) de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica.

Las preparaciones de complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, el complejo anfotericina B-lípido) con o sin desoxicolato de la presente invención pueden comprender complejos de tamaños variables, o pueden comprender complejos de tamaño sustancialmente uniforme. Por ejemplo, en algunas realizaciones los complejos tienen un intervalo de tamaños de aproximadamente 1 mm o inferior, mientras que en realizaciones preferentes, los complejos están en el intervalo micrométrico o submicrométrico. En algunas realizaciones, los complejos tienen un diámetro de aproximadamente 5 μm o inferior, tal como 0,2 μm o inferior, o incluso 0,1 μm o inferior.

El complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, el complejo anfotericina B-lípido, con o sin desoxicolato) de la presente invención puede comprender o consistir esencialmente en micelas, micelas mixtas, liposomas y vesículas de diferentes formas y tamaños.

Tal como se ha señalado anteriormente, la tecnología perfilada en la presente invención para la preparación de complejos de anfotericina B también es adecuada para su uso con cualquier otro fármaco insoluble en agua.

En algunas realizaciones, el complejo anfotericina B-lípido (con o sin desoxicolato) de la presente invención se emplea para tratar infecciones fúngicas, por ejemplo, en un mamífero. A este respecto, la invención proporciona un procedimiento para el tratamiento de infecciones fúngicas que comprende administrar a un sujeto (por ejemplo, un paciente que tiene una infección fúngica) una composición que comprende un complejo de anfotericina B - con o sin desoxicolato - y un lípido o lípidos en una cantidad suficiente para tratar la infección fúngica en el sujeto.

La composición de la presente invención se puede emplear para tratar infecciones causadas por numerosos hongos y parásitos que incluyen, si bien no se limitan a los mismos, *Acremonium sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus pneumonia*, *Blastomyces dermatitidis*, *Candida albicans*, *Candida guilliermondi*, *Candida tropicalis*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium sp.*, *Histoplasma capsulatum*, *Mucor mucedo*, *Rhodotorula sp.*, *Sporothrix schenckii*, *Acanthamoeba polyphaga*, *Entomophthora sp.*, *Histoplasma capsulatum*, *Leishmania brasiliensis*, *Rhizopus sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Torulopsis glabrata*, *Paracoccidioides brasiliensis*. Patógenos fúngicos adicionales incluyen *Trichosporon*, *Muco*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Curvularia*, etc.

La composición de la presente invención se puede emplear también para el tratamiento de la leishmaniasis visceral, denominada también Kala-azar, e infecciones causadas por el complejo *Leishmania donovani*, *L.d donovani*, *L.d infantum*, *L.d archibaldi*, *L.d chagasi*, *Phlebotomus sp.* y *Lutzomyia logipalpis*.

5 La composición de la presente invención se puede emplear también para el tratamiento de infecciones víricas causadas, por ejemplo, por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), los virus del herpes simple (VHS-1 y VHS-2), el virus de la hepatitis C (VHC) y el citomegalovirus (CMV).

10 En algunas realizaciones, el complejo compuesto activo-lípido de la invención (por ejemplo, el complejo docetaxel-lípido o el complejo paclitaxel-lípido) se emplea para tratar un cáncer, por ejemplo, en un mamífero. A este respecto, la invención proporciona un procedimiento para el tratamiento del cáncer que comprende administrar a un sujeto (por ejemplo, un paciente que tiene un cáncer) una composición que comprende un complejo compuesto activo-lípido (por ejemplo, el complejo docetaxel-lípido o el complejo paclitaxel-lípido) y un lípido o lípidos en una cantidad suficiente para tratar el cáncer en el sujeto. El cáncer puede ser cualquier tipo de cáncer en un mamífero. Ejemplos incluyen, si bien no se limitan a los mismos, cánceres de cabeza, cuello, cerebro, sangre (por ejemplo, leucemia, leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda, linfoma, mieloma), mama, pulmón, páncreas, hueso, bazo, vejiga, próstata, testículos, colon, riñón, ovario y piel (por ejemplo, sarcoma de Kaposi), médula ósea, hígado, estómago, lengua, boca y laringe. Además, el complejo compuesto activo-lípido de la presente invención es útil en la reducción de la tendencia de las células cancerosas a desarrollar resistencia a otros agentes terapéuticos tales como agentes anticancerosos, quimioterapia y radiación. Así, se pueden emplear ventajosamente otros agentes terapéuticos con la presente invención en la formación de una combinación activa o mediante administración por separado.

20 En algunas realizaciones, el complejo compuesto activo-lípido de la invención (por ejemplo, el complejo tacrolimus-lípido) se emplea para el tratamiento de reacciones de rechazo causadas por el trasplante de órganos y tejidos, y se puede administrar en el trasplante de órganos y tejidos, por ejemplo, en un mamífero. A este respecto, la invención proporciona un procedimiento para la prevención del rechazo de órganos y tejidos que comprende administrar a un sujeto (por ejemplo, un paciente con un trasplante de un órgano o tejido) una composición que comprende un complejo de compuesto activo-lípido (por ejemplo, un complejo tacrolimus-lípido) y un lípido o lípidos en una cantidad suficiente para prevenir el rechazo de un órgano o tejido en el sujeto.

Ejemplo 1

30 Se suspendió anfotericina B (1 g) en medio acuoso a un pH de 1,5 a 3,5 y se mezcló con 3 g de sulfato sódico de colesteroil. Se agitó fosfatidilcolina de soja (7 g) y se mezcló con el complejo de anfotericina B y sulfato sódico de colesteroil durante 30 min. La mezcla se sometió después a una homogeneización a alta presión. La formulación se liofilizó en presencia de un 7,5-9,5 % de sacarosa y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

35 Ejemplo 2

Se usó la formulación de anfotericina B con lípidos tal como se describe en el Ejemplo 1 para ensayar la hemólisis de glóbulos rojos (GB). A una concentración de 0,16 mg/ml de Fungizone®, el 50 % de las células sufrieron lisis en comparación con la suspensión lipídica de anfotericina B, en la que no se produjo lisis tras la incubación con GR. Se llevó a cabo también un estudio de toxicidad en ratones Balb/c. Un total de 9 ratones (7 semanas de edad) se sometieron a administración intravenosa de la formulación de anfotericina B a 20 mg/kg. Los ratones se controlaron durante 30 días. Al cabo de 30 días no se observó mortalidad alguna. Esto indicaba que la dosis máxima tolerada usando esta formulación era superior a 20 mg/kg.

Grupo	Dosis	Supervivencia
I	20 mg/kg	9/9

Ejemplo 3

45 Se suspendió anfotericina B (1 g) en medio acuoso a un pH de 1,5 a 3,5 y se mezcló con 3 g de sulfato sódico de colesteroil. Se agitó fosfatidilcolina de soja hidrogenada (7 g) y se mezcló con el complejo de anfotericina B y sulfato sódico de colesteroil durante 30 min. La mezcla se sometió después a una homogeneización a alta presión. La formulación se liofilizó en presencia de un 7,5 % de sacarosa y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

Ejemplo 4

Se disolvieron anfotericina B (20 mg) y desoxicolato de sodio (6,56 mg) en agua (10 ml) a un pH de 11,00 a 12,5 usando hidróxido sódico. El pH se ajustó después a pH 7,00-8,5 con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido fosfórico). Se mezclaron fosfatidilcolina de soja hidrogenada (930 mg) y sulfato de colesteroil (10,4 mg) en agua

- 5 (10 ml) y se homogeneizó o se sometió a ultrasonidos durante 30 minutos. La suspensión lipídica se mezcló seguidamente con la solución de anfotericina B-desoxicolato y se homogeneizó o se sometió a ultrasonidos adicionalmente durante 1 h. La suspensión se puede calentar, si se desea, a una temperatura que varía de 25 °C a 60 °C. La formulación se liofilizó en presencia de un 7,5 % de sacarosa y se reconstituyó en agua para inyección. La formulación se ensayó para determinar la toxicidad en ratones Balb/c y se comparó con la formulación de desoxicolato de anfotericina B (Fungizone®). Los animales se pesaron y se asignaron a diferentes grupos de forma aleatoria (5 animales/grupo). Los resultados se dan en la tabla siguiente como el número de ratones que sobrevivieron con respecto al número total.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Supervivencia/Total
Fungizone®	0,5	5/5
	1,0	5/5
	2,0	4/5
	4,0	0/5
Formulación - anfotericina B	12,0	5/5
	14,0	5/5
	17,0	5/5
	20,0	0/5

- 10 Los datos indicaban que la formulación de liposomas de anfotericina B era significativamente menos tóxica cuando se comparaba con el producto comercializado (Fungizone®).

Ejemplo 5

- 15 Se preparó la formulación de anfotericina B con lípidos tal como se describe en el Ejemplo IV sin desoxicolato. La formulación resultante se liofilizó en presencia de un 7,5 % de sacarosa o lactosa. Esta formulación mostraba también características similares a las del Ejemplo 4.

Ejemplo 6

- 20 Se mezclaron anfotericina B (50 mg) y sulfato de colesterilo (50 mg) conjuntamente en agua a un pH de 2,5-3. Se suspendió por separado SPC (500 mg) en agua y se mezcló con la suspensión de anfotericina B y sulfato de colesterilo, y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La formulación se liofilizó en presencia de un 7,5 % de sacarosa y se reconstituyó en agua para inyección. La formulación reconstituida se ensayó para determinar la toxicidad en ratones Balb/c con una inyección intravenosa de dosis única y no se observó mortalidad alguna a un nivel de dosis de 20 mg/kg dosis tal como se encontró en el Ejemplo II. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. Los datos del tamaño de partícula se dan en la tabla que sigue a continuación.

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Diámetro medio del volumen ponderado	128,4 nm
Distribución del 99 %	401,8 nm
Distribución del 90 %	224,6 nm
Distribución del 80 %	175,9 nm
Distribución del 75 %	160,3 nm
Distribución del 50 %	110,2 nm
Distribución del 25 %	75,9 nm

Ejemplo 7

- 30 Se disolvieron anfotericina B (100 mg) y desoxicolato (33 mg) en agua a un pH de 9-12,00 y se ajustó después a pH 7,5. A continuación la suspensión de anfotericina B se mezcló con sulfato de colesterilo (52 mg) y fosfatidilcolina de soja hidrogenada (4,62 g) en agua y se sometió a ultrasonidos a 60 minutos. La formulación se liofilizó tanto en

viales como a granel en presencia de un 7,5 % de sacarosa y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Diámetro medio del volumen ponderado	76,1 nm
Distribución del 99 %	227,1 nm
Distribución del 90 %	130,2 nm
Distribución del 80 %	103,1 nm
Distribución del 75 %	94,3 nm
Distribución del 50 %	66,0 nm
Distribución del 25 %	46,2 nm

5

Ejemplo 8

Se mezclan conjuntamente anfotericina B (50 mg) y sulfato de colestero (50 mg) en tampón de succinato de sodio a un pH de 2,5-3. Se suspende en agua por separado SPC (500 mg) en tampón de succinato de sodio y se mezcla con la suspensión de anfotericina B y sulfato de colestero, y se homogeneiza usando un homogeneizador de alta presión. La formulación se liofiliza en presencia de un 7,5-9,5 % de sacarosa o un 9,5 % de lactosa y se reconstituye en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro medio del volumen ponderado representaba un valor inferior a 200 nm.

10

Ejemplo 9

Se mezclaron conjuntamente anfotericina B (2 g) y sulfato de colestero (1,04 g) en tampón succinato a pH 2,5 y se sometió a ultrasonidos durante 5 min a temperatura ambiente. Se mezcló lecitina de soja (18,96 g) en tampón succinato de sodio (pH 2,5) con la suspensión de anfotericina B y sulfato de colestero, y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La formulación se esterilizó después en autoclave a 121 °C durante 15 minutos antes de mezclarla con una solución de un 7,5-9,5 % de sacarosa o un 9,5 % de lactosa en condiciones asépticas. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. Los datos del tamaño de partícula se dan en la tabla que sigue a continuación.

15

20

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Diámetro medio del volumen ponderado	693,3 nm
Distribución del 99 %	1992,5 nm
Distribución del 90 %	1169,7 nm
Distribución del 80 %	934,6 nm
Distribución del 75 %	858,2 nm
Distribución del 50 %	608,4 nm
Distribución del 25 %	431,3 nm

Se efectuó el análisis por HPLC de la formulación de la invención que comprende anfotericina B, fosfatidilcolina de soja, sulfato de colestero, y los resultados se destacan en la tabla siguiente.

Componentes	Resultados del ensayo
Anfotericina B	96,4 %
Sulfato de colestero	95,0 %
Fosfatidilcolina de soja	87,5 %

25 **Acontecimientos adversos sistémicos:** Una comparación entre la Fungizone® y la suspensión lipídica de

anfotericina B en voluntarios humanos sanos.

5 Se evaluó la seguridad y tolerancia de la Fungizone® frente a la suspensión lipídica de anfotericina B en sujetos humano macho. En este estudio se admitieron un total de 24 voluntarios. A 6 de estos (n = 6) se les administró Fungizone® (0,6 mg/kg) por vía intravenosa y a 18 de ellos (n = 18) se les administró la suspensión lipídica de anfotericina B (0,6 mg/kg-1,5 mg/kg).

En el grupo de la suspensión lipídica de anfotericina B, se notificaron acontecimientos adversos leves en 3/18 (17 %) de los sujetos machos sanos, y en 4/6 (66 %) de aquellos a quienes se les infundió Fungizone®. En conjunto, la suspensión lipídica de anfotericina B es aparentemente segura y bien tolerada hasta 1,5 mg/kg.

Ejemplo 10

10 Se mezclaron tacrolimus (20 mg) y sulfato de coleslerilo (20 mg) en agua (10 ml) y se sometió a ultrasonidos durante 30 min para formar una suspensión. Se mezcló SPC en agua (10 ml) con la suspensión de tacrolimus y sulfato de coleslerilo y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La formulación se liofilizó tanto en viales como a granel en presencia de un 7,5 % de sacarosa y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

Ejemplo 11

20 Se mezclaron desoxicolato (1 mg) y sulfato de coleslerilo (1 mg) en agua y se sometió a ultrasonidos durante 30 min para formar una suspensión. Se mezcló SPC en agua con la suspensión de tacrolimus y sulfato de coleslerilo y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La formulación se liofilizó en presencia de un 7,5 % de sacarosa y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

Ejemplo 12

25 Se mezclaron tacrolimus (100 mg) y sulfato de coleslerilo (60 mg) y lecitina de soja (3,94 g) en agua (70 ml) y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La suspensión resultante se filtró después a través de un filtro de 0,2 µm y se mezcló seguidamente con una solución de un 7,5 % de sacarosa (30 ml) y se liofilizó tanto en viales como a granel. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Diámetro medio del volumen ponderado	42,9 nm
Distribución del 99 %	141,0 nm
Distribución del 90 %	76,5 nm
Distribución del 80 %	59,2 nm
Distribución del 75 %	53,8 nm
Distribución del 50 %	36,5 nm
Distribución del 25 %	25,2 nm

30 **Ejemplo 13**

35 Se mezclaron conjuntamente tacrolimus (200 mg) y sulfato de coleslerilo (120 mg) y lecitina de soja (7,88 g) en agua (70 ml) y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La suspensión resultante se filtró después a través de un filtro de 0,2 µm y se mezcló seguidamente con sacarosa al 7,5 % (30 ml) y se liofilizó tanto en viales como a granel. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Diámetro medio del volumen ponderado	76,4 nm
Distribución del 99 %	240,8 nm

(continuación)

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Distribución del 90 %	134,3 nm
Distribución del 80 %	105,1 nm
Distribución del 75 %	95,8 nm
Distribución del 50 %	65,9 nm
Distribución del 25 %	45,5 nm

- 5 La suspensión lipídica de tacrolimus se ensayó para determinar la toxicidad en ratones Balb/c. Se administró por vía intravenosa una dosis de ensayo única a 10 mg/kg y 20 mg/kg a los ratones. Todos los ratones sobrevivieron sin una pérdida significativa de peso corporal. Análogamente, se llevó a cabo un estudio de toxicidad a dosis repetidas con una dosis de 10 mg/kg o 20 mg/kg durante 5 días consecutivos con una dosis acumulada de 50 mg/kg y 100 mg/kg, respectivamente. Todos los animales del grupo sobrevivieron. Los resultados se en la tabla siguiente como el número de ratones que sobrevivieron con respecto al número total.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Supervivencia/Total
Dosis única	10	5/5
	20	5/5
Dosis repetida	10	5/5
	20	5/5

10 Ejemplo 14

Se sometieron a ultrasonidos sulfato de colesterilo (2,08 mg) y fosfatidilcolina de soja hidrogenada (185,92 mg) en una solución acuosa al 0,9 % de cloruro sódico (2 ml) a 65 °C durante 30 minutos antes de añadir doxorubicina (40 mg) en solución al 0,9 % de cloruro sódico (2 ml) y después se sometió adicionalmente a ultrasonidos durante 60 minutos. La formulación se liofilizó en presencia de sacarosa al 7,5 % y se reconstituyó en agua para inyección.

15 Ejemplo 15

- 20 Se sometieron a ultrasonidos sulfato de colesterilo (20 mg) y lecitina de soja (156,8 mg) en una solución acuosa al 0,9 % de cloruro sódico a 65 °C durante 30 minutos antes de añadir doxorubicina (40 mg) en solución al 0,9 % de cloruro sódico (10 ml) y después se sometió adicionalmente a ultrasonidos durante 60 minutos. La formulación se liofilizó en presencia de sacarosa al 7,5 % y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

Ejemplo 16

- 25 Se mezclaron conjuntamente docetaxel (20 mg) y sulfato de colesterilo (12,0 mg) y lecitina de soja (788 mg) en agua (10 ml) y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La formulación se liofilizó en presencia de sacarosa al 7,5 % y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Diámetro medio del volumen ponderado	93,9 nm
Distribución del 99 %	264,1 nm
Distribución del 90 %	157,0 nm
Distribución del 80 %	126,1 nm
Distribución del 75 %	116,0 nm

(continuación)

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Distribución del 50 %	83,0 nm
Distribución del 25 %	59,4 nm

Ejemplo 17

- 5 Se mezclaron conjuntamente docetaxel (40 mg), sulfato de colesterilo (24,0 mg) y lecitina de soja (1,57 g) en agua (10 ml) y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La formulación se liofilizó en presencia de sacarosa al 7,5 % y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

Ejemplo 18

- 10 Se mezclaron conjuntamente paclitaxel (20 mg), sulfato de colesterilo (11,4 mg) y lecitina de soja (788,6 mg) en agua (10 ml) y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La formulación se liofilizó en presencia de sacarosa al 7,5 % y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. El diámetro volumétrico medio representaba un valor inferior a 200 nm.

15

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Diámetro medio del volumen ponderado	124,1 nm
Distribución del 99 %	357,4 nm
Distribución del 90 %	209,6 nm
Distribución del 80 %	167,4 nm
Distribución del 75 %	153,7 nm
Distribución del 50 %	108,9 nm
Distribución del 25 %	77,2 nm

- 20 La suspensión lipídica de paclitaxel se ensayó para determinar la toxicidad en ratones Balb/c. La dosis de ensayo (40 mg/kg) se administró por vía intravenosa a los ratones y los animales se controlaron durante 30 días. Todos los ratones sobrevivieron sin una pérdida significativa de peso corporal. Análogamente, se llevó a cabo un estudio de toxicidad a dosis repetidas con una dosis de 40 mg/kg durante 5 días consecutivos con una dosis acumulada de 200 mg/kg. Todos los animales del grupo sobrevivieron. El estudio se controló durante 30 días. Los resultados se en la tabla siguiente como el número de ratones que sobrevivieron con respecto al número total.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Supervivencia/Total
Dosis única	40	3/3
Dosis repetida	40	4/4

Ejemplo 19

- 25 Se mezclaron conjuntamente paclitaxel (40 mg), sulfato de colesterilo (22,8 mg) y lecitina de soja (1,58 g) en agua (10 ml) y se homogeneizó usando un homogeneizador de alta presión. La formulación se liofilizó en presencia de sacarosa al 7,5 % y se reconstituyó en agua para inyección. El tamaño de partícula se determinó usando un dispositivo analizador del tamaño de partícula Nicomp 380. Los datos del tamaño de partícula se dan en la tabla que sigue a continuación.

30

Media/Distribuciones	Tamaño de partícula (volumen ponderado)
Diámetro medio del volumen ponderado	839,1 nm
Distribución del 99 %	3425,8 nm
Distribución del 90 %	1636,3 nm
Distribución del 80 %	1185,7 nm
Distribución del 75 %	1048,7 nm
Distribución del 50 %	638,5 nm
Distribución del 25 %	388,7 nm

REFERENCIAS

1. Abra, R. y Szoka, F.C.; Solic. PCT WO8701933, 1987; Sanders, S. y col. 1991
- 5 2. Abra, R. patente de Estados Unidos 5.032.582, 1991.
3. Abra, R. patente de Estados Unidos 4.822.777, 1989
4. Abra, R. y Gua, L.S. patente de Estados Unidos 5.194.266, 1993
5. Adler-Moore, J.; Jill, P.; Proffitt, R.T. *J. Liposome Res.* 1993, 2, 429-450.
6. Ahmad, I., Agarwal, A.; Pal, A.; Guru, P.Y.; Bachhawat, B.K. y Gupta, C.M. *J. Biosciences*, 1991, 14, 217-221.
- 10 7. Ahmad, I.; Sarkar, A.K.; y Bachhawat, B.K. *Cell. Biochem.* 1989, 91, 85-90.
8. Ahmad, I.; Sarkar, A.K.; y Bachhawat, B.K. *Biot. Appl. Biochem.* 1990, 12, 550-556.
9. Bissery, M.-C.; Laborie, M.; Vacu, J.; Verrecchia, T., patente de Estados Unidos 6.146.663, 2000.
10. Brajtburg, J.; Powderly, W.G.; Kobayashi, G.S.; Medoff, G. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 1990, 34, 381-384.
- 15 11. De Kruijff, B. y Demel, R.A.; *Biochim. Biophys. Acta*, 1974, 339, 57-70.
12. Deray G.; Mercadal, L.; Bagnis, C. *Nephrologie*, 2002, 23, 119-122.
13. Dumont, F.J. en: Libermann, R. Mukherjee, A. Eds. *Drug development in transplantation and autoimmunity*, Austin, TX: RG Landes, 1996, 175.
14. Hammarstrom, L.; y Smith, C.I.E. *Acta Patho. Microbial. Scand.* 1977, 85, 277-283.
- 20 15. Hennenfent, K.L. y Govindan, R. *Annals of Oncol.* 2006, 17, 735-749.
16. Janoff, A.S.; Madden, T.D.; Cullis, P.R.; Kearns, J.J.; Durning, A.G.; patente de Estados Unidos N.º 6.406.713, 2002.
17. Ingle, G.R.; Sievers, T.M.; Holt, C.D. *Ann Pharmacother*, 2000, 34, 1044-1055.
18. Knoll, G.A. y Bell, R.C. *BMJ*, 1999, 318, 1104-1107.
- 25 19. Lister, J. *Eur J. Haematol.* 1996, 56(supl 57), 18-23.
20. Little, J.R.; Plut E. J., Kotler-Brajtburg, J.; Mendoff, G. y Kobayashi, G.S. *Immunochem.*, 1978, 15, 219-224.
21. Medoff, G. y Kobayashi, G.S. *J. Am. Med. Assoc.* 1975, 232, 619-620.
22. Podder, H.; Podbielski, J.; Hussein, I.; Katz, S.; van Buren, C.; Kahan, B.D.; *Transpl. Int.* 2001, 14, 135-142.
23. Proffitt, R.T.; Adler-Moore, J.; Fujii, G.; Satorius, A, Lee, M.J.A.; Bailey, A.; *J. Controlled Release* 1994, 28, 342-343.
- 30 24. Otsubo, T.; Maesaki, S.; Hossain, M.A.; Yamamoto, Y.; Tomono, K.; Tashiro, T.; Seki, J.; Tomii, Y.; Sonoke, S.; Kohno, S. *J. Antimicrob. Agents and Chemother.* 1999, 43, 471-475.
25. Proffitt, R.T.; Adler-Moore, J., Chiang, S-M, patente de Estados Unidos 5.965.156 1999.
26. Proffitt, R.T.; Satorius, A.; Chiang, S. M.; Sullivan. L.; Adler-Moore, J.P. *J. Antimicrob. Agents Chemother.* 1991,
- 35 28 (Supl. B), 49-61.
27. Sanders, S.W.; Buchi, K.N.; Goddard, M.S.; Lang, J.K.; Tolman, K.G. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 1991,
- 35, 1029-1034.
- 40 28. Ramos, H.; Brajtburg, J.; Marquez, V.; Cohen, B.E. *Drugs Exptl. & Clin. Res.* 1995, 21, 211-216.
29. Ramos, H.; Valdivieso, E.; Gamargo, M.; Dagger, F.; Cohen, B.E. *J. Memo. Biol.* 1996, 152, 6575.
30. Schiff, P.B.; Fant, J.; Horowitz, S.B. *Nature*, 1979, 227, 665-667.
31. Straubinger, R.M.; Sharma, A.; Mayhew, E. patente de Estados Unidos 5,415,869, 1995.
32. Szoka, F.C. Jr. US 5277914 A, 1994
- 45 33. Szoka, F.C. Jr.; Milholland, D.; Barza, M. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 1987, 31, 421-429.
34. ten Tije, A.J.; Verweij, J.; Loos, W.J.; Sparreboom, A. *Clin Pharmacokinet*, 2003, 42, 665-685.
35. Valeriotte, F.; Lynch, R.; Medoff, G.; y Kumar, B.V. *J. Natl. Cancer. Inst.* 1976, 56, 557-559.
36. Walsh, T.J.; Whitcomb, P.; Piscitelli, S. Figg, W.D.; Hill, S.; Chanock, S.J.; Jarosinski, P.; Gupta, R.; Pizzo, P.A.
- 50 *J. Antimicrob. Agents Chemother.* 1997, 41, 1944-1948.

Todas las referencias, que incluyen publicaciones, solicitudes de patente y patentes, citadas en el presente documento, incluyendo aquellas de la lista anterior y otras citadas en esta descripción, se incorporan por referencia al presente documento en la misma medida como si cada referencia se indicara individual y específicamente para ser incorporada por referencia y se expusiera en su totalidad en el presente documento.

5

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento sin disolventes orgánicos para la preparación de una formulación lipídica de un compuesto activo, comprendiendo dicho procedimiento:
- 5 a) preparar una suspensión que comprende al menos un compuesto activo y al menos un lípido en un primer medio acuoso a un pH entre aproximadamente pH 4,0 y pH 8,0, en el que dicha preparación de dicha suspensión comprende un procedimiento que consiste en:
- i) proporcionar:
- 10 1) un primer medio acuoso que consiste en agua o agua que tiene un tampón disuelto en la misma,
2) al menos un compuesto activo parcialmente soluble en agua o insoluble en agua,
3) al menos un fosfolípido y al menos un lípido seleccionado entre el grupo que consiste en colesterol o sulfato de colesterol y sales del mismo, hemisuccinato de colesterol y sales del mismo, fosfato de colesterol y sales del mismo; y 4) uno o más crioprotectores;
- 15 ii) añadir a dicho primer medio acuoso al menos un compuesto activo y al menos un lípido; y
iii) mezclar dicho primer medio acuoso, dicho al menos un compuesto activo, y dicho al menos un lípido para formar una suspensión;
- b) tratar dicha suspensión para formar una suspensión de compuesto-lípido, que comprende complejos compuesto-lípido que tienen un tamaño de partícula definido;
- c) liofilizar dicha suspensión de compuesto-lípido que comprende complejos compuesto-lípido que tienen un tamaño de partícula definido en presencia de uno o más crioprotectores para formar un material liofilizado; y
- 20 d) reconstituir dicho material liofilizado con un segundo medio acuoso para obtener una formulación lipídica de un compuesto activo, comprendiendo dicha formulación lipídica una suspensión de complejos compuesto-lípido de tamaño de partícula definido, teniendo dicho tamaño de partícula definido un tamaño de partícula medio inferior a 5 micrómetros.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho segundo medio acuoso es el mismo o diferente de dicho primer medio acuoso.
- 25 3. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que dicho al menos un compuesto activo comprende un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en docetaxel, paclitaxel, doxorubicina, epirubicina, tamoxifeno, endoxifeno, etopósido, antraciclinas, anfotericina B, tacrolimus, y sacrolimus, ciclosporina y metotrexato.
- 30 4. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que dicha preparación lipídica comprende además polietilenglicol.
5. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que dicho al menos un lípido comprende un colesterol o derivado de colesterol, en el que la relación molar entre el compuesto activo y el colesterol o derivado del colesterol es de entre aproximadamente 10:1 y 1:10.
- 35 6. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que dicho al menos un fosfolípido comprende fosfatidilcolina de soja hidrogenada o fosfatidilcolina de soja, en el que la relación molar entre el compuesto activo y la fosfatidilcolina de soja hidrogenada o la fosfatidilcolina de soja es de entre aproximadamente 1:1 y aproximadamente 1:100.
- 40 7. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que dicha preparación lipídica comprende una concentración lipídica total desde un 2,5 % en peso hasta aproximadamente un 95 % en peso.
8. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la relación en peso entre el compuesto activo y el lípido en dicha preparación lipídica es de entre 1:10 y 1:100.
9. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que dicho tratamiento de dicha suspensión comprende extraer dicha suspensión a través de una ranura de tamaño seleccionado y/o un tratamiento mediante homogeneización por separación a alta presión.
- 45