

QF



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

04-106850

21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO COMPOSICIONES Y METODOS PARA LA DOSIFICACION DE CIERTAS
LIPOSOMAS DE CIERTOS TAMAÑOS PARA TRATAR O PREVENIR ENFERMEDADES

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 9/127

71. SOLICITANTE ESPERION LUV DEVELOPMENT, INC.

DOMICILIO Ann Arbor, Estado de Michigan, Estados Unidos de América

74. APODERADO LUIS FELIPE CASTILLO GIBSONE

22. BOGOTÁ, D. C. 25 OCT 2004

55

PETITORIO



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
 Radicación : 04106050 00000000 Folios: 49
 Fecha (AMD): 2004-10-25 15:28:13
 Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTA
 Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad

☐ Capítulo I ☒ Capítulo II

2 SOLICITANTE (71)	Nombre: ESPERION LUV DEVELOPMENT, INC. Dirección: 3621 S. State Street, 695 KMS Place Nacionalidad o domicilio: Ann Arbor, Estado de Michigan, E.U.A. Lugar de Constitución:	IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: LUIS FELIPE CASTILLO GIBSON Dirección: Carrera 13 No. 37-43 Piso 12 Teléfono: 285 7460 Fax: 28 9267 E-mail info@castillograu.com	IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ OTRO ☐ Cual _____ Número 79.397.879 TP 68.995 del de Bogotá C.S.J.
4 INVENTOR(ES) (72)	Nombre: Wendi V. RODRIGUEZA - Laura A. BISGAIER (Folio 80) Dirección: 2148 Vail Court - 3605 Tanglewood Drive Nacionalidad o Domicilio: Ann Arbor, Michigan, E.U.A. - Ann Arbor, Michigan, E.U.A.	

5 PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/US03/10339</u> Fecha: <u>04/04/03</u> Publicación Internacional No. <u>WO 03/086351 A1</u> Fecha: <u>23/10/03</u>

6 Título (54) COMPOSICIONES Y METODOS PARA LA DOSIFICACION DE CIERTAS LIPOSOMAS DE CIERTOS TAMAÑOS PARA TRATAR O PREVENIR ENFERMEDADES

7 Clasificación Internacional (51) A61K 9/127
--

8 Prioridad Si ☒ No ☐	(33) País de origen E.U.A.	(32) Fecha Abril 5, 2002	(31) Número de Solicitud 60/370,409
---	--------------------------------------	------------------------------------	---

9 Comprobante de pago N°: <u>83726</u> Fecha: _____
--

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

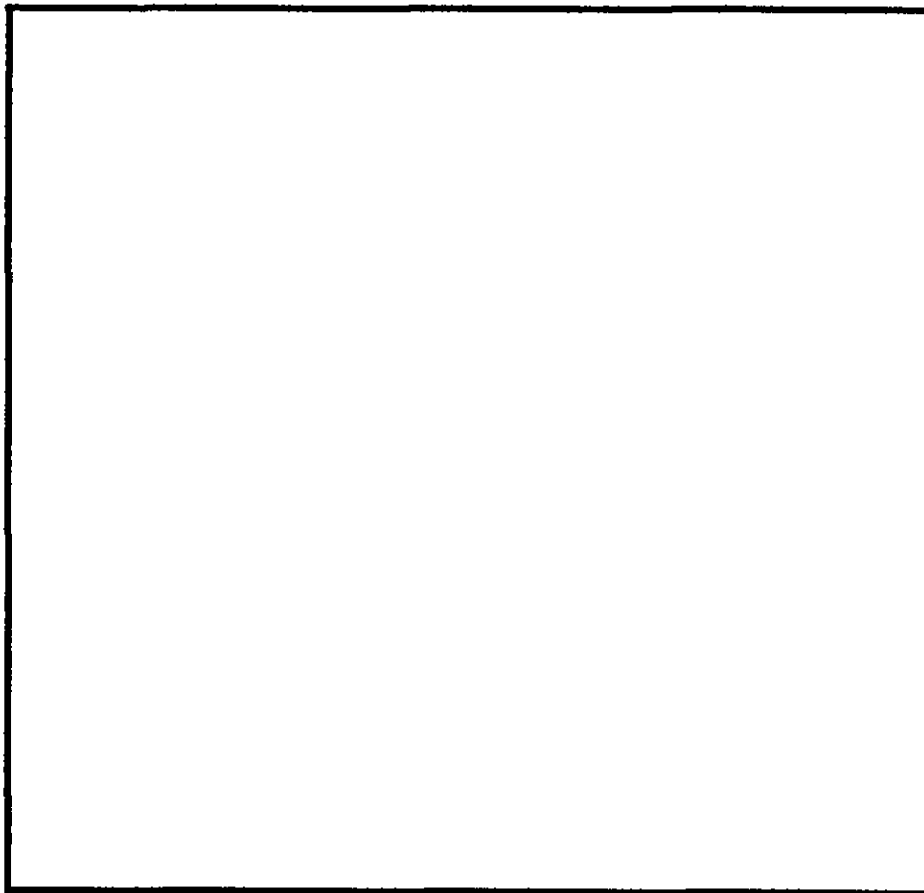
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Certificado de existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Documento de Cesión del inventor al solicitante o a su acusante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito de material biológico.
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ Otros

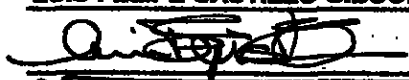
11

FIGURA CARACTERISTICA



12

Solicito la concesión de patente,

NOMBRE: LUIS FELIPE CASTILLO GIBSONEFIRMA: C.C. 79.397.879
de BogotáI.P. No. 68.995
del C.S.J.

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página

HIT : 000176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 83,726
FECHA : OCTUBRE 25 DE 2004

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 04106850 00000000 Folios: 49
Fecha (AMD): 2004-10-25 15:28:13
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE MACI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

**** CONSIGNACION ****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CASTILLO GRAU Y ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	32417223	25/10/2004	3,217,000.00

**** CONCEPTO ****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
		TOTAL :	\$ 422,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

4 X

**COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA LA DOSIFICACIÓN
DE CIERTAS LIPOSOMAS DE CIERTOS TAMAÑOS
PARA TRATAR O PREVENIR ENFERMEDADES**

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional EE.UU. No. 60/370,409, radicada el 5 de abril de 2002, la cual se incorpora en este contexto en su totalidad.

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden liposomas y métodos para usar dichas liposomas para prevenir, tratar o manejar una variedad de enfermedades y/o condiciones corporales. Las liposomas pueden comprender vesículas unilamelares grandes (LUV) solas o en combinación con vesículas multilamelares (MLV), vesículas unilamelares pequeñas (SUV) u otros productos terapéuticos. La invención se refiere a liposomas que tienen ciertos diámetros administradas a pacientes utilizando dosis específicas y/o regímenes de dosis específicos.

Antecedentes de la Invención

La aterosclerosis es la principal causa de muerte en Estados Unidos. Aterosclerosis es la formación de placas en las paredes arteriales que pueden ocluir el lumen del vaso y obstruir el flujo sanguíneo a través del vaso. Las placas también se pueden romper y llevar a la formación de trombos aún en un vaso sanguíneo sin estenosis crítica y a oclusión de los vasos sanguíneos y obstrucción del flujo sanguíneo. La morbilidad y la mortalidad se presentan generalmente hasta el daño final del órgano y disfunción del órgano como resultado de isquemia. Las formas más comunes de daño de órgano isquémico son infarto del miocardio y accidentes cerebrovasculares. Incapacidad o muerte son el resultado frecuente de estos eventos vasculares. Aún la isquemia asociada con aterosclerosis que no lesione permanentemente el miocardio o leve a un daño menor del miocardio, es responsable por morbilidad significativa en forma de angina de pecho y falla cardíaca congestiva. Otros órganos, tales como riñones, intestinos y la columna vertebral también pueden sufrir lesiones por oclusiones arterioscleróticas. Además, en enfermedades tales como aneurismas aórticos, las arterias arterioscleróticas pueden causar síntomas clínicos independientes de disfunción final del órgano. Las lesiones arterioscleróticas son placas que se forman por la acumulación de colesterol, ésteres de colesterol y fosfolípidos, proliferación de células del músculo liso, diapedesis de monolitos, incluida su transformación en macrófagos y células de espuma en el interior de las principales arterias. El lípido contribuye a una porción mayor del volumen de placa (generalmente entre 30 y 65% de peso seco). *Small*, ARTERIOSCLEROSIS, 8:103-129 (1988). De hecho, el riesgo de

S 47

desarrollar arteriosclerosis se asocia directamente con la concentración de ciertas formas de colesterol de plasma.

Otras enfermedades y condiciones asociadas con niveles de lípido anormalmente altos incluyen síndromes coronarios agudos, angina estable, angina inestable, inflamación, inflamación vascular, inflamación dérmica, enfermedad coronaria (CHD), arritmias ventriculares, enfermedad vascular periférica, enfermedad oclusiva periférica, claudicación intermitente, ataques isquémicos transitorios, restenosis, necesidad reducida de revascularización, trastornos de coagulación, isquemia, isquemia cardiovascular, isquemia no asociada a enfermedad cardiovascular tal como lesión de repercusión por isquemia, trombocitopenia, pancreatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), neuropatía diabética, retinopatía, neuropatía diabética dolorosa, claudicación, psoriasis, isquemia crítica de miembro, impotencia, hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipertrigliceridemia, cualquier condición estenótica que conduzca a patología isquémica, diabetes, ictiosis, ataque, placas vulnerables, ulceración del miembro inferior, isquemia coronaria severa, linfomas, cataratas, disfunción endotelial, xantomas, enfermedad vascular, enfermedad vascular como resultado de tabaquismo y diabetes, enfermedad de la arteria carótida y coronaria, falla cardíaca congestiva, regresión y contracción de placas establecidas, enfermedad de Alzheimer, combinaciones de procedimientos quirúrgicos que resulten en lesión endotelial, daño endotelial como resultado de procedimientos quirúrgicos, morbilidad asociada con enfermedad vascular, úlceras en el lumen arterial, restenosis como resultado de angioplastia transluminal precutánea y subindicaciones de lo anterior.

Lípidos, incluido colesterol, son generalmente insolubles en plasma acuosa. Los lípidos de plasma son transportados por complejos solubles de lipoproteína. Estos complejos de lipoproteína consisten de un núcleo interior de lípidos no polares (colesterol ésteres y triglicéridos) y una capa de superficie de proteínas anfipáticas y lípidos polares (fosfolípidos y colesterol no esterificado). Diferentes proteínas (apolipoproteínas) están presentes en el revestimiento superficial de diferentes complejos de lipoproteína (lipoproteínas). Las diferentes lipoproteínas cumplen diferentes funciones en el metabolismo de lípidos.

Se conocen cinco clases de lipoproteínas. Algunas lipoproteínas transportan triglicéridos y colesterol desde el hígado a los tejidos periféricos, mientras que otras transportan lípidos al hígado. El colesterol puede metabolizarse en el hígado en sales biliares que son excretadas, reduciendo de este modo el colesterol total del cuerpo. Dos lipoproteínas, lipoproteínas de baja densidad (LDL) y proteínas de alta densidad (HDL) tienen un alto grado de asociación con el desarrollo de aterosclerosis. LDL tiene una alta concentración de colesterol, entrega

6 56

lípidos a las células de los tejidos periféricos y se asocia con un alto riesgo de aterosclerosis. HDL también tiene una concentración de colesterol relativamente alta pero transporta lípidos al hígado para que se metabolicen en sales biliares y se asocia con reducción del riesgo de desarrollo de aterosclerosis.

El metabolismo del colesterol y homeostasis es el resultado de un equilibrio complejo entre esterol libre en la célula y en el plasma. Philips y otros, *BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA.* 906:223-276 (1987). La entrega de colesterol a las células ocurre por medio de la ruta LDL mediada con receptor, la ingestión selectiva por medio del receptor secuestrante B-I, y por el intercambio pasivo de esterol entre las membranas de plasma y las lipoproteínas. Solo los tejidos que producen hormonas esteroideas y ácidos biliares pueden metabolizar el colesterol. Con el fin de prevenir la acumulación de esterol libre en exceso en los tejidos periféricos que quedan, se produce un transporte inverso de colesterol de las membranas de plasma en HDL y partículas parecidas a la lipoproteína. HDL transporta el exceso de colesterol al hígado donde bien puede exportarse en la bilis como colesterol no esterificado, o procesarse en sales biliares para excreción, esterificado y almacenado en el hígado, o incorporado en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) para reingresar a la acumulación de lipoproteínas.

El intercambio pasivo de colesterol entre células y lipoproteínas ocurre por la difusión de moléculas de esterol a través del espacio acuoso. Philips y colaboradores, *supra*, y Schroeder y colaboradores, *Exp. Biol. Med.* 196:235-252 (1991). La efusión celular neto ocurre si el potencial químico de colesterol libre es más bajo en el plasma que en las células, de modo que el esterol salga de la membrana siguiendo su gradiente de actividad. Bajo estas condiciones, se ha demostrado que las células cargadas con colesterol-éster que son morfológicamente características de lesiones ateroscleróticas tempranas, no solo pierden colesterol, sino que estimulan la hidrólisis de éster, resultando en la reducción de depósitos intracelulares de este lípido. Small, *ARTERIOSCLEROSIS*, 8:103-129 (1988). Además, como se menciona arriba, existe evidencia epidemiológica en el sentido de que condiciones que se pudiera esperar aumentan el transporte de colesterol inverso (bajas concentraciones de colesterol de plasma o concentraciones aumentadas de HDL) se correlacionan con el riesgo reducido de aterosclerosis prematura y pueden dar lugar a regresión de placa.

Característicamente, las placas se asocian con ulceración de la íntima del vaso. Las placas que contienen lípidos crecen en ulceraciones que proyectan masas friables en el lumen arterial. Las placas también pueden lesionar y debilitar los medios del músculo liso del vaso. A medida que progresa la formación de placas, más regiones centrales de las placas

7 X

se protegen de la circulación. La formación extensiva de placas también causa constricción concéntrica o excéntrica del vaso en el sitio de la placa.

Actualmente, el tratamiento más efectivo de aterosclerosis es la prevención. Existe evidencia que el progreso y acumulación de lípidos en las lesiones puede detenerse cuando las concentraciones LDL del plasma son mantenidos en niveles casi normales. Reynolds, *Circulation*, 79:1146-1148 (1989). El manejo preventivo actual de la enfermedad aterosclerótica se ha concentrado en el uso de medicamentos junto con restricciones dietéticas para regular los niveles del colesterol del plasma. También se han comprobado beneficiosas las terapias antioxidantes que suprimen la formación e ingestión de partículas LDL modificadas por las células de la pared arterial. Chisolm, *Clin. Cardiol.* 14:25-30 (1991). Sin embargo, si bien los medicamentos hipocolesterolémicos inducen cambios favorables en el colesterol del plasma que parece que hacen más lenta la progresión de aterosclerosis, por lo general no inducen condiciones que estimulen la efusión y la eliminación de colesterol ateroma. Claramente, con el fin de lograr una significativa regresión de ateroma y reducir la obstrucción del lumen, se deben movilizar estos lípidos que ocupan espacio. La evidencia presente sugiere que los procesos que estimulan la efusión del colesterol extra de células hepáticas y lo transportan al hígado para excreción, transporte de colesterol inverso (RCT) son importantes eventos para la prevención de aterosclerosis. Gwynne, *Clin. Cardiol.* 14:17-24 (1991).

Las modalidades terapéuticas actuales de arteriosclerosis se dividen generalmente en manejo quirúrgico y médico. La terapia quirúrgica puede incluir procedimientos de injerto vascular para desviar *by-pass*) las regiones de oclusión (por ej: injerto de desvío de la arteria coronaria, remoción de placas ocluidoras de la pared arterial (por ej: endarterectomía carótida) o craqueo precutáneo de las placas (por ej: angioplastia transluminal precutánea). Las terapias quirúrgicas conllevan bastante riesgo y solo tratan lesiones aisladas. Las placas ateroscleróticas aguas debajo de la lesión tratada pueden seguir obstruyendo el flujo sanguíneo. También, las terapias quirúrgicas no limitan el progreso de aterosclerosis y se asocian con la complicación tardía de restenosis.

La terapia médica está dirigida a reducir otros factores de riesgo asociados con enfermedad vascular (por ej: tabaquismo, diabetes e hipertensión) y a reducir formas de colesterol sérico asociadas con el desarrollo de aterosclerosis como ya se dijo. Si bien las terapias médicas pueden retardar el progreso de formación de placas, la regresión de placas es relativamente rara. Por lo tanto, la aterosclerosis requiere con frecuencia tanto tratamiento quirúrgico como médico.

Paradójicamente, la infusión intravenosa de fosfolípidos y liposomas ha demostrado que produce regresión de placas ateroscleróticas, aunque los niveles de lípido sérico se elevan

transitoriamente. Williams y colaboradores, *Perspect. Biol. Med.* 27:417-431 (1984). Sin embargo, en ambos casos el colesterol asociado con el desarrollo y progreso de aterosclerosis puede aumentar luego de administración de liposomas.

Estudios anteriores que investigan la movilización de colesterol inducida por fosfolípidos *in vivo* han empleado vesículas de liposoma multilamerales o sonicadas. El tamaño de la liposoma es una característica clave en el margen cinético y es una de las varias razones de por qué se espera que los vehículos sonicados representen la estructura bicapa que mejor se adapte para mejorar el transporte de colesterol inverso. La sonicación reduce las vesículas multilamerales (MLV) a vesículas de 'tamaño limitado'. Estos sistemas exhiben el radio mínimo de curvatura que puede adoptar la configuración bicapa sin interrupción. Por ejemplo, la liposoma fosfatidilcolina ovular de tamaño mínimo que se puede generar típicamente es de aproximadamente 30-nm de diámetro, clasificada a menudo como una vesícula unilamelar pequeña (SUV). Para una composición de liposoma determinada, generalmente se presume que entre más pequeño sea el diámetro de la partícula, mayor será la circulación de vida media (Gregoriadis y Senior, *Life Sci.* 113:183-192 (1986). En consecuencia, se esperó que el SUV compuesto de fosfatidilcolina circulara por más tiempo que las liposomas más grandes, y por lo tanto, que movilizaran más colesterol. Además, las restricciones de empaquetamiento que experimentan los fosfolípidos en SUV (debido al radio agudo de curvatura), dan lugar a una inestabilidad que puede resultar en fusión, Hope y colaboradores, *Chem. Phys. Lipids*, 40:89-107 (1986), así como una tendencia aumentada a asimilar con lipoproteínas. Ver por ej. Scherphofet y colaboradores, *Biochim. Biophys. Acta*, 542:296-307 (1978) y Krupp y colaboradores, *Biochim. Biophys. Acta*, 72:1251-1258 (1976). Por lo tanto, se esperó que SUV produciría un mayor número de partículas parecidas a HDL, estimulando de este modo la efusión de esterol de los tejidos periféricos. Como apoyo a esta expectativa, se ha reportado que las liposomas con diámetros entre 50 y 80 nm optimizan la movilización de esteroides y la regresión de placa. Publicación EP No. 0461559 A2.

La Patente EE.UU. No. 5,746,223 (la patente '223) titulada "*Method of Forcing The Reverse Transport of Cholesterol From A Body Part While Avoiding Harmful Disruptions of Hepatic Cholesterol Homeostasis*", la Patente EE.UU. No. 6,080,422 (la patente '422) titulada "*Methods of Angioplasty and Cardiac Catheterization*", y la Patente EE.UU. No. 6,139,871 (la patente '871) titulada "*Liposome Compositions and Methods For The Treatment of Atherosclerosis*", cada una de las cuales se incorpora por referencia en este contexto en su totalidad, divulgan, entre otras cosas, el uso de LUV para inducir el transporte inverso de colesterol de los tejidos periféricos, para tratar aterosclerosis y para uso en procedimientos de angioplastia.

9
X

Más específicamente, las patentes '223 y '442 divulgan el uso de LUV con un diámetro hasta de 1000 nm (las liposomas más grandes pueden ser "menos eficientes"), con reivindicaciones que mencionan diámetros más grandes que 50, 80 o 100 nm, y la descripción que divulga un diámetro preferible de 120 nm en una realización. Las dosis administradas en las patentes '223 y '422 varían entre 10 y 1600 mg/kg por dosis. En realizaciones más específicas, la dosis es menor de 600 mg/kg por día y en otras realizaciones en particular, la dosis es un bolo de 300 mg/kg administrado a conejos en uno, tres y cinco días.

La patente '871 divulga el uso de LUV con diámetros entre 100 y 150 nm con un diámetro preferido de 120 nm. La patente '871 también divulga administrar LUV entre 100 y 150 nm mg/kg, "usualmente" entre 200 y 750 mg/kg y "más usualmente" entre 280 y 420 mg/kg en tratamientos múltiples, "generalmente cada semana" durante 4 a 16 semanas, "usualmente" aproximadamente 10 semanas. La patente '871 indica que la concentración de LUV en el portador puede variar, pero generalmente la concentración será entre 20 y 200 mg/ml, usualmente entre 50 y 150 mg/ml, y más usualmente aproximadamente 100 mg/ml.

Recientemente se llevaron a cabo dos estudios utilizando ETC-588 (liposomas hechas de 1-palmitoil, 2-oleoil fosfatidilcolina, un producto de propiedad de Esperion Therapeutics, Inc.). ETC-588 secuestra colesterol y otros lípidos intercambiables del tejido vascular y periférico (un proceso conocido como movilización) resultando en aumentos transitorios en colesterol sérico que regresa a los niveles de predosis luego de que ETC-588 entrega su carga de colesterol al hígado para procesamiento o excreción. La movilización y la regresión de aterosclerosis inducida experimentalmente se han demostrado en modelos pre-clínicos utilizando un tamaño de liposoma y composición muy similar a ETC-588. ETC-588 aumenta agudamente el flujo de colesterol dentro del cuerpo y mejora las vías de transporte de lípido inverso.

El primer estudio evaluó la seguridad y la tolerancia de ETC-588 en voluntarios saludables con dosis simples de 20, 60', 150, 300 y 600 mg/kg de liposomas ETC-588. Las liposomas ETC-588 (200 mg/ml) fueron administradas pro vía intravenosa a 10 ml por minuto utilizando una bomba de infusión. Se probó ETC-588 en plasma como fosfolípido (PL). El colesterol total y no esterificado (UC) y PL se probaron por métodos estándar automatizados. Los sujetos fueron asignados a grupos de tratamiento de acuerdo con un programa de aleatorización. La seguridad y la tolerancia, los datos de laboratorio, signos vitales y eventos adversos se recogieron en cada punto de tiempo y para cambio predosis a posdosis utilizando estadísticas descriptivas. Las medidas farmacocinéticas y farmacodinámicas se recogieron utilizando estadísticas descriptivas. Los resultados

10 X

indicaron que aunque la movilización de colesterol ocurrió a lo largo de un amplio rango de dosis, la eficiencia varió. Además, tres de tres sujetos había elevado las pruebas de función del hígado a 600 mg/kg y uno tuvo un evento adverso grave indicado por enzimas aumentadas en la función del hígado. Otros eventos adversos incluyeron dolor de cabeza, mareos, náusea y fatiga.

El segundo estudio evaluó la seguridad y la tolerancia de ETC-588 en voluntarios saludables que recibieron un total de 4 dosis administradas en intervalos de 3 días. Las dosis administradas fueron 100, 150, 200, 250 y 300 mg/kg. Las liposomas ETC-588 (200 mg/ml) fueron administradas por infusión por vía intravenosa a 10 ml por minuto utilizando una bomba de infusión. ETC-588 en plasma se probó como fosfolípido (PL). El colesterol total y no esterificado (UC) y PL se probaron por métodos estándar, automatizados. Los sujetos fueron asignados a grupos de tratamiento de acuerdo con un programa de aleatorización. Seguridad y tolerancia, datos de laboratorio, signos vitales y eventos adversos se recogieron en cada punto de tiempo y para cambio pre-dosis a posdosis utilizando estadística descriptiva. Las medidas farmacocinéticas y farmacodinámicas se recogieron utilizando estadística descriptiva. Los resultados indicaron que la movilización de colesterol aumentó de manera dependiente de dosis, aunque la eficiencia varió. Además, la dosificación a intervalos de 3 días para un total de 4 dosis pareció causar una acumulación no deseada de ETC-588. Como en el primer estudio, otros eventos adversos incluyeron dolor de cabeza, mareo, náusea y fatiga. Además, estos estudios de dosificación se hicieron únicamente en pacientes saludables y no en pacientes con enfermedad o con otras condiciones corporales indeseadas.

Por lo tanto, existe la necesidad de determinar dosis seguras, efectiva y no tóxicas y regímenes de dosificación en pacientes enfermos que impide o reduce efectos secundarios no deseados. Además, existe la necesidad de determinar regímenes de dosificación más óptimos utilizando liposomas de tamaño óptimo para tratar a pacientes que sufran de las enfermedades y/o condiciones corporales que se divulgan en este contexto.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas y métodos para administrar liposomas que pueden comprender LUV solas o en combinación con MLV, SUV y/u otro producto terapéutico utilizado para prevenir, tratar o manejar una variedad de enfermedades y condiciones corporales que incluyen, pero no se limitan a: arterosclerosis incluida aterosclerosis, flebosclerosis o cualquier condición venosa en la cual se formen depósitos de placas que contengan colesterol u otro material dentro de la intima o medio interior de las venas, síndromes coronarios agudos, angina, incluida angina estable y angina no estable, inflamación o enfermedades inflamatorias incluidas pero no limitadas a inflamación

11 / X

vascular e inflamación dermal, falla cardíaca congestiva, enfermedad coronaria del corazón (CHD), hipertensión, arritmias ventriculares coronarias, arritmias supraventriculares, enfermedad vascular periférica, infarto fatal del miocardio, infarto no fatal del miocardio, isquemia incluida isquemia cardiovascular, hibernación del miocardio, ataques de isquemia transitorios, isquemia no asociada a enfermedad cardiovascular incluida lesión por repercusión de isquemia tal como lesión debida a cirugía de cadera, cirugía de rodilla, trasplante de órgano o PTCA, repercusión coronaria, restenosis, eventos isquémicos perioroperativos (PCI), necesidad reducida de revascularización área de infarto reducida, trastornos de coagulación, trombocitopenia, trombosis de vena profunda, pancreatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), neuropatía diabética, retinopatía, neuropatía diabética, psoriasis, isquemia de miembro crítica, claudicación, impotencia, cáncer de próstata, hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipertrigliceridemia, cualquier condición estenótica que conduzca a patología isquémica, diabetes incluidas Tipo I y Tipo II, ictiosis, ataque, placas vulnerables, ruptura de placa vulnerable, enfermedad de Alzheimer, ulceración del miembro inferior, isquemia coronaria severa, linfomas, cataratas, disfunción endotelial, xantomas, disfunción de órgano final, enfermedad vascular, enfermedad vascular que resulte de tabaquismo y diabetes, enfermedad de arteria coronaria y carótida, placas creadas por regresión y contracción, combinaciones de procedimientos quirúrgicos que resulten en lesión del endometrio, daño endotelial como resultado de procedimientos quirúrgicos, morbilidad asociada con enfermedad vascular, ulceraciones en el lumen arterial, restenosis como resultado de angioplastia transluminal precutánea y subindicaciones de lo anterior.

Las composiciones y los métodos de la presente invención pueden utilizarse para aumentar los niveles de HDL, aumentar niveles bajos de HDL, disminuir niveles de LDL, disminuir niveles altos de LDL, aumentar temporalmente los niveles LDL, disminuir los niveles de triglicéridos, aumentar o disminuir el nivel de otros lípidos, aumentar la estabilidad de placa, o disminuir la probabilidad de ruptura de placa, aumentar o disminuir vasodilatación, tratar o prevenir inflamación, tratar o prevenir enfermedades inflamatorias o una respuesta inflamatoria, fortalecer o estabilizar el músculo liso y la íntima de vasos, estimular la efusión de colesterol extracelular para transporte al hígado, modular respuestas inmunes, movilizar colesterol de placas ateroscleróticas y modificar cualquier membrana, célula, tejido, órgano y región extracelular y/o estructura en la cual sean provechosas modificaciones composicionales y/o funcionales. Las composiciones y los métodos de la presente invención también abarcan aplicaciones tópicas y curación de heridas.

La invención abarca regímenes de dosificación en donde dosis específicas de liposomas, especialmente liposomas dentro de un rango de tamaño en particular, son administradas a intervalos de tiempo específicos y dosis específicas para lograr la reducción de colesterol

12
N

y/o tratamiento de la enfermedad, al tiempo que se reducen o evitan efectos adversos o efectos no deseados. De este modo, en este documento se describen detalladamente los métodos de administrar liposomas, métodos para reducir el colesterol total y LDL mediante la administración de liposomas, métodos para elevar el nivel o aumentar la eficacia de colesterol HDL mediante la administración de liposomas y métodos de dosificar liposomas.

Las partículas de vesículas (o liposomas) optimizan la efusión de colesterol de placas ateroscleróticas. Las partículas de vesículas pueden enlazarse a una apolipoproteína, típicamente apolipoproteína AI o AII y a menudo contienen al menos un fosfolípido, tal como fosfatidilcolina o fosfatidilglicerol. Generalmente, las composiciones comprenden liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización preferida, las liposomas están libres de colesterol antes de la administración. Las liposomas utilizadas dentro de regímenes novedosos de dosificación pueden tener un diámetro de cualquier tamaño. Además, las liposomas pueden tener un diámetro promedio de cualquier tamaño con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño.

En realizaciones separadas y preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 50 y 250 nanómetros (nm) con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 50 y 250 nm con una distribución de $\pm 50\%$, preferiblemente $\pm 40\%$. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 100 y 140 nm con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 100 y 140 nm con una distribución de $\pm 50\%$, preferiblemente $\pm 40\%$. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 110 y 120 nm con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro entre 110 y 120 nm con una distribución de $\pm 50\%$, preferiblemente $\pm 40\%$. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 100 y 200 nm con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño. En realizaciones particulares, las liposomas tienen un tamaño de diámetro promedio entre: 100 y 110 nm, 110 y 120 nm, 120 y 130 nm, 130 y 140 nm, 140 y 150 nm, 150 y 160 nm, 160 y 170 nm, 170 y 180 nm, 180 y 190 nm, o entre 190 y 200 nm con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño, preferiblemente la distribución de tamaño es entre $\pm 40\%$ y $\pm 50\%$. En realizaciones particulares, las liposomas utilizadas con ETC-588 (un producto de propiedad de Esperion Therapeutics, Inc).

También se proveen métodos para tratar las enfermedades arriba mencionadas y condiciones corporales, los cuales pueden ser empleados en forma terapéutica o profiláctica. Generalmente, los métodos comprenden administrar las composiciones de la

13

presente invención a mamíferos, preferiblemente seres humanos, que tengan cualquiera de las enfermedades o condiciones corporales. A menudo, las composiciones serán administradas en forma serial durante un periodo de tiempo. Las composiciones pueden ser administradas por vía oral o parenteral. Generalmente, las composiciones serán administradas por vía parenteral, preferiblemente por vía intravenosa o la administración puede ser intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intratecal, intra-arterial, vía linfos, por infusión, intravascular y administración por medio de una sonda a permanencia crónica o por medio de un catéter colocado en forma aguda mediante jeringa o administración por presión. En otras realizaciones, la administración puede ser sublingual, bucal, mucosa, tópica, rectal, vaginal, intra-arterial, transdermal, vía infusión, jeringa, o administración por presión. En una realización particular, las composiciones de la presente invención son administradas tópicamente para prevenir o tratar inflamación o para ayudar en la curación de heridas.

Los métodos de la presente invención abarcan la administración de liposomas en dosis simples o divididas entre 20 mg/kg y 600 mg/kg, preferiblemente entre 50 mg/kg y 600 mg/kg, y más preferiblemente entre 50 mg/kg y 300 mg/kg a un paciente que las requiera. En una realización separada preferida, las liposomas son administradas en dosis simples o divididas entre 100 mg/kg y 200 mg/kg, preferiblemente entre 150 mg/kg y 200 mg/kg a un paciente que las requiera. En realizaciones particulares, las partículas de vesículas son administradas en dosis simples o divididas entre 110 mg/kg y 120 mg/kg, 120 mg/kg y 130 mg/kg, 130 mg/kg y 140 mg/kg, 140 mg/kg y 150 mg/kg, 150 mg/kg y 160 mg/kg, 160 mg/kg y 170 mg/kg, 170 mg/kg y 180 mg/kg, 180 mg/kg y 190 mg/kg, o entre 190 mg/kg y 200 mg/kg a un paciente que las requiera.

En realizaciones específicas, las partículas de vesículas son administradas en dosis simple o dividida en uno o más intervalos que van de una vez al día, una vez cada 2 días, una vez cada 3 días, una vez cada 4 días, una vez cada 5 días, una vez cada 6 días, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada cuatro meses, una vez cada cinco meses y una vez cada 6 meses, una vez cada 7 meses, una vez cada 8 meses, una vez cada nueve meses, una vez cada 10 meses, una vez cada once meses, y una vez al año, o administradas de otra forma a intervalos de tiempo predeterminados por un periodo de tratamiento predeterminado. En una realización preferida, el intervalo de tiempo entre dosis durante el curso de la terapia es una vez a la semana. Los periodos de tratamiento preferidos para un curso de terapia pueden abarcar 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, una semana, dos semanas, tres semanas, cuatro semanas, cinco semanas, seis semanas, siete semanas, ocho semanas, nueve semanas, diez semanas, once semanas, doce semanas, trece semanas, catorce semanas, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho

meses, nueve meses, diez meses, once meses, un año, dos años, tres años, cuatro años o cinco años. En una realización preferida, el periodo de tratamiento para un curso de terapia no es mayor de 14 semanas. En otras realizaciones preferidas, las liposomas son administradas a intervalos de 4 a 7 días con dosis de 1-4, 1-8, o 1-14 administradas con cada curso de terapia. Los regímenes de dosis también incluyen tratamiento continuo de infusión el cual puede incluir el uso de una primera dosis seguida por una dosis de mantenimiento. Los pacientes tratados con este tipo de composiciones y según este tipo de métodos pueden tener cualquier edad y pueden sufrir con una o más de las enfermedades o condiciones corporales arriba mencionadas y/u otras enfermedades o condiciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIGURA 1A muestra la distribución de tamaño en un lote de liposomas unilamelares grandes producidas por extrusión

La FIGURA 1B muestra la distribución de tamaño en un lote de liposomas unilamelares grandes de aproximadamente 200 nm producidas por homogeneización.

La FIGURA 1C muestra la distribución de tamaño en un lote de liposomas ETC-588 producidas por extrusión.

La FIGURA 2 ilustra los niveles de liposoma y colesterol no esterificado luego de administrar dosis de liposoma cada 4 días.

La FIGURA 3 ilustra los niveles de liposoma y colesterol no esterificado luego de administrar dosis de liposoma cada 7 días.

DEFINICIONES ÚTILES

Tal como se utiliza en este contexto, “medicamento” indica un compuesto sintético indicado para uso terapéutico sin vehículos, adyuvantes, activadores o co-factores enlazados asociados. “Medicamento” no incluye apolipoproteínas naturales o endógenas, acetiltransferasa lecitina-colesterol o albúmina. “Liposoma”, “vesícula” y “vesícula de liposoma” se entenderá que indican estructuras que tienen membranas que contienen lípidos que encierran un interior acuoso. Salvo que se indique otra cosa, las estructuras pueden tener una o más membranas lípidas, aunque generalmente, las liposomas tendrán solo una membrana. Estas liposomas de una sola capa se refieren aquí como “unilamelares”. El término “LUV” se refiere a vesículas unilamelares grandes, “SUV” se refiere a vesículas unilamelares pequeñas y “MLV” se refiere a vesículas multilamelares. Tal como se utiliza en este contexto, el término “tratamiento de aterosclerosis” abarca realizar una intervención terapéutica que resulte en reducir el contenido de colesterol de al

15
15
X

menos una placa aterosclerótica o que inhiba o prevenga profilácticamente, la formación o expansión de una placa aterosclerótica.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se basa en parte, en el descubrimiento que dosis y regímenes específicos de dosis utilizados para entregar liposomas, particularmente liposomas de tamaño específico, tienen funciones críticas para optimizar la remoción de colesterol de tejidos periféricos y/o remover el metabolismo de colesterol de las placas ateroscleróticas por dichas liposomas. Los métodos novedosos de la invención abarcan el tratamiento o prevención de la enfermedad o síntomas de la misma, reduciendo o evitando al mismo tiempo efectos adversos, por ej: efectos secundarios tóxicos o efectos no deseados. Además, contrario a las anteriores descripciones de terapia con liposoma, los inventores de la presente invención han descubierto que se pueden usar liposomas para prevenir, tratar o manejar una variedad de enfermedades y condiciones corporales aparte de aterosclerosis y otras indicaciones descritas anteriormente para terapia con liposoma.

En una realización, la invención abarca un método de dosificar liposomas a un paciente que lo requiera, el cual consiste en administrar liposomas con un diámetro promedio de 10 nm y preferiblemente, menos de 250 nm, a un paciente que tenga una enfermedad tratable mediante reducción de colesterol en una sola dosis o dosis dividida administrada cada 4 a 7 días entre 100 mg/kg y 250 mg/kg, preferiblemente entre 100 mg/kg y 200 mg/kg. A continuación discutiremos en detalle los pacientes a ser tratados, las liposomas a ser usadas en la presente invención y las dosis específicas y regímenes específicos.

1. Liposomas

Los inventores de la presente invención han descubierto que liposomas con diámetro promedio superior a 100 nm, preferiblemente entre 100 nm y 140 nm, más preferiblemente entre 110 nm y 120 nm, son óptimas para la remoción de colesterol del sistema. En general, la acción superior de liposomas mayores a 100 nanómetros en diámetro puede explicarse por la microanatomía del hígado. Cuando circulan en el hígado, las liposomas grandes (tal como se utilizan en este contexto, liposomas con un diámetro superior a 100 nm) pueden despejarse principalmente por las células Kupffer que recubren las aberturas sinusoidales. Las células Kupffer pasan el colesterol a hepatocitos para excreción en la bilis o para reutilización. Las liposomas pequeñas (tal como se utiliza en este contexto, liposomas de menos de 100 nm) pueden llegar directamente a los hepatocitos sin previo procesamiento (o con procesamiento limitado) por parte de las células Kupffer. Puesto que para una dosis fija se pueden infundir más liposomas pequeñas que partículas más grandes, los hepatocitos se pueden exponer en forma aguda a una concentración relativamente alta

de pequeñas liposomas y a su colesterol acumulado. Los inventores de la presente invención han descubierto que liposomas con un diámetro entre 100 nm y 140 nm, preferiblemente, 110nm y 120 nm, son óptimas ya que ambas son despejadas predominantemente por las células Kupffer y son más efectivas para movilizar colesterol que las liposomas más pequeñas o más grandes.

Además y separado a la distribución de tamaño de las liposomas, los inventores han descubierto que en pacientes enfermos, ciertas dosis y regímenes de dosis son seguros y más efectivos para el tratamiento de las enfermedades. En este tipo de métodos y las composiciones que se utilizan con los métodos, se pueden usar liposomas de cualquier tamaño o liposomas que tengan cualquier diámetro promedio con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño. De hecho, se prefiere usar liposomas del tamaño óptimo en regímenes de dosificación novedosos o dentro de dosis preferidas.

En realizaciones específicas, las liposomas tienen un diámetro promedio superior a 100 nm independientemente del desvío estándar o distribución de tamaño. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 50 y 250 nm con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 50 y 250 nm $\pm$ 40-50%. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 100 y 140 nm con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 100 y 140 nm $\pm$ 40-50%. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 110 y 120 nm con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño. En realizaciones separadas preferidas las liposomas tienen un diámetro promedio entre 110 y 120 $\pm$ 40-50%. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas tienen un diámetro promedio entre 100 y 120 nm con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño. En realizaciones particulares, las liposomas tienen un tamaño de diámetro promedio entre: 100 y 110 nm, 110 y 120 nm, 120 y 130 nm, 130 y 140 nm, 140 y 150 nm, 150 y 160 nm, 160 y 170 nm, 170 y 180 nm, 180 y 190 nm, o entre 190 y 200 nm con cualquier desvío estándar o distribución de tamaño; preferiblemente, la distribución de tamaño es entre $\pm$ 40% y $\pm$ 50. En una realización separada preferida, las liposomas utilizadas son ETC-588 (un producto de propiedad de Esperion Therapeutics, Inc) con un diámetro promedio entre 100 nm y 140 nm $\pm$ 40-50% luego de .

La invención también contempla el uso de liposomas con un diámetro promedio mayor de 50 nm y preferiblemente mayor de 100 nm y menor de 250 nm, que cuando se administran, elevan o no elevan las concentraciones séricas de LDL. La invención también contempla el uso de liposomas con un diámetro promedio mayor de 50 nm y preferiblemente mayor de

100 nm y menor de 250 nm, que cuando son administradas, reducen o no reducen las concentraciones séricas de LDL. En algunos casos, las liposomas no se enlazarán a otra molécula, tal como a un medicamento o a una proteína. En otros casos, las liposomas de la presente invención se enlazarán, combinarán y/o administrarán en combinación con: (1) proteínas y péptidos enlazados a liposomas tales como proteínas enlazantes de lípidos, incluidos péptidos, paraoxonasa, lipoproteína lipasa, lecitin colesterol acil transferasa, proteína de transferencia de fosfolípidos, Apo A-I y miméticos o variantes de ApoA-I; (2) aceptores pequeños incluidos HDL, partículas HDL sintéticas y/o recombinantes, partículas HDL sintéticas y/o recombinantes hechas con miméticos de apolipoproteínas ApoA-I; (3) agentes cardiovasculares incluidos moléculas, estatinas, aspirina, clopidogrel, bloqueadores beta, agentes de control glicérico y/o antidiabéticos, agente antihipertensores, heparina, nitratos, inhibidores IIb/IIIa, inhibidores ACE, bloqueadores beta, fibratos, bloqueadores del canal de calcio, y/o secuestrantes de ácido biliar; (4) y farmacoterapia antidiabética (y/o control glicérico) incluida más no limitada a insulina y agentes orales. Además, las liposomas grandes pueden administrarse solas o en combinación con vesículas multilamelares y/o vesículas unilamelares pequeñas. Ejemplos de proteínas y péptidos (tales como proteínas que enlazan lípidos incluidos péptidos, ApoA-I y miméticos o variantes de A-I) se describen en las Patentes EE.UU. Nos. 6,004,925, 6,046,166, 6,037,323, 6,287,590, 6,329,341 y 6,265,377 todas las cuales se incorporan por referencia en este contexto en su totalidad. Ejemplos de moléculas pequeñas que moderan HDL, LDL o niveles de colesterol se describen en las Solicitudes de Patente EE.UU. Nos. 09/540,740, 09/540,739, y 09/540,738 todas las cuales se incorporan por referencia en este contexto en su totalidad.

Las personas versadas en la técnica podrán apreciar que las liposomas en las composiciones de la presente invención pueden ser sintetizadas por una variedad de métodos, tales como los que se describen en las Patentes EE.UU. Nos. 4,186,183; 4,217,344; 4,261,975; 4,485,054; 4,774,085; 4,946,787; 5,726,157; 5,746,223; 5,843,474; 5,448,435; 5,853,402; 6,080,422; 6,312,719; 6,139,871, Publicación PCT No. WO 91/17424, Deamer y Bangham, *Biochim. Biophys. Acta*, 443:629-634 (1976); Fraley y Colab. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 76:3348-3352 (1979); Hope y colab. *Biochim. Biophys. Acta* 812:55-65 (1985); Mayer y colab. *Biochim. Biophys. Acta* 858:161-168 (1986); y Williams y Colab. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:242-246 (1988), cada una de las cuales se incorpora por referencia en este contexto en su totalidad. Métodos indicados incluyen por ej: sonicación, extrusión, homogenización a alta presión, microfluidización, diálisis de detergente, fusión inducida por calcio de vesículas de liposomas pequeñas y métodos de infusión con éter, todos conocidos en la técnica.

18
X8

Generalmente, las liposomas son generadas de una manera más conveniente mediante procedimientos de sonicación y extrusión. En resumen, el lípido es mezclado con salina fisiológica o tamponador. En una realización, se administra en vórtice una solución de cloroformo de lípido y se retira el solvente bajo una corriente continua de N₂. La muestra se seca a vacío alto. La película lípida seca que resulte es rehidratada en 150 mM NaCl y 20 mM [4-(2-hidroxietil)]-piperazin-ácido etanosulfónico (Hepes, pH 7,4). Esto produce generalmente vesículas liposomales. Las vesículas unilamelares se preparan por sonicación o extrusión.

Generalmente, la sonicación se hace con sonicador de punta, tal como un sonicador de punta Branson, en un baño de hielo. Típicamente, la suspensión es sometida a varios ciclos de sonicación. La extrusión puede hacerse por extrusores de membrana, tal como el Extrusor de biomembrana Lipez. El tamaño de poro definido en los filtros de extrusión puede generar vehículos liposomales unilamelares de tamaño específicos. También se pueden formar liposomas por extrusión a través de un filtro cerámico asimétrico, tal como un microfiltro Ceraflow, vendido por Norton Company, Worcester Mass. Las liposomas ETC-588 (un producto de propiedad de Esperion Therapeutics evaluado actualmente en pruebas clínicas) son producidas por extrusión. El método actual implica hidratar 1-palmitoil-2-oleoil fosfatidicolina (POPA) con salina tamponada en fosfato y empujar éstos a por filtros de membrana hasta que se alcance un diámetro promedio entre 100 y 140 nm, y más preferiblemente, hasta que se alcance un diámetro promedio entre 110 y 120 nm. Se pueden hacer múltiples pasadas a través de los filtros de membrana. En una realización específica, se hacen de 2 a 10 pasadas, preferiblemente entre 2 y 5. Además, las membranas de filtro pueden ser de tamaños iguales o diferentes (es decir puede haber un gradiente de membranas). El producto resultante se llama ETC-588. Ejemplos de la preparación de liposomas de tamaño específicos por extrusión se describen en la Solicitud de Patente EE.UU. No. 60/326,032, radicada el 28 de septiembre de 2001, la cual se incorpora por referencia en este contexto en su totalidad.

Otras maneras de producir liposomas con el mismo diámetro promedio incluyen homogeneización o microfluidización, aunque la distribución de las partículas es mayor. Ver la Figura 1A frente a la Figura 1B. Con la tecnología actual, las partículas de efecto biológico producidas por homogeneización o microfluidización son diferentes de las que se producen por extrusión. La cinética de remoción levemente más rápida y el área por debajo de las mediciones de curva para la movilización del colesterol es un poco menor, indicando que estas partículas son menos eficaces que las liposomas extruídas aún cuando se administra la dosis equivalente sobre una base mg fosfolípido/kg.

El tamaño de las vesículas liposomales puede determinarse por dispersión de luz cuasieléctrica (QELS) tal como se describe en Bloomfield. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 10:421-450 (1981) incorporada en este contexto en su totalidad. El diámetro promedio de liposomas puede reducirse por sonicación de las liposomas formadas. Los ciclos de sonicación intermitente pueden alternarse con evaluación QELS para guiar una síntesis eficiente de liposomas. Las liposomas pueden componerse de una variedad de lípidos. Generalmente, las liposomas comprenden al menos un fosfolípido, típicamente fosfatidilcolina de huevo, fosfatidilglicerol de huevo, distearoilfosfatidilcolina o distearoilfosfatidil glicerol. Muchas realizaciones de la presente invención incluirán más de un fosfolípido.

Otros fosfolípidos indicados para la formación de liposomas que se pueden utilizar dentro de las composiciones o métodos que se describen aquí incluyen, más no se limitan a, fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol, lecitin, beta, gamma-dipalmitoil-alfa-lecitin, esfingomielin, fosfatidilserina, ácido fosfatídico, N-(2,3-di(9-Z)-octadeceniloxy))-prop-1-il-N,N,N-cloruro de trimetilamonio, fosfatidiletanolamina, lisolecitin, lisofosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, cefalin, cardiolipin, cerebrosidas, dicetilfosfato, dioleoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilglicerol, dioleilfosfatidil glicerol, palmitoil-oleoil-fosfatidilcolina, di-estearoil-fosfatidilcolina, estearoil-palmitoil-fosfatidilcolina, di-palmitoil-fosfatidiletanolamina, di-estearoil-fosfatidiletanolamina, di-miristoil-fosfatidilserina, di-oleoil-fosfatidilcolina, oleoil-palmitoil fosfatidilcolina, palmitoiloleoil fosfatidilcolina, lípido que esté en fase líquido-cristalina a 37°C, mezclas de lo mismo, y similares. En una realización preferida, las liposomas están compuestas por palmitoiloleoil fosfatidilcolina. En las liposomas de las composiciones de la presente invención también se pueden usar lípidos que no contengan fósforo. Estos incluyen por ej: estearilamina, docecilamina, acetil palmitato, amidas de ácido graso y similares. Otros lípidos apropiados para uso en las liposomas de la presente invención son conocidos por las personas versadas en la técnica y se citan en una variedad de fuentes conocidas, por ej: *Detergents and Emulsifiers* y *Functional Materials* de McCutcheon, Allured Publishing Co., Ridgewood, N.J., incorporadas ambas por referencia en su totalidad en este contexto.

Generalmente, se desea que las liposomas estén compuestas por lípidos que sean líquidos-cristalinos a 37°C, frecuentemente a 35°C y aún a 32°C. Típicamente, las liposomas en estado líquido-cristalino, aceptan colesterol de una forma más eficiente que las liposomas en estado gelatinoso. Puesto típicamente, los pacientes tienen una temperatura central de aproximadamente 37°C, las liposomas compuestas por líquidos que sean líquidos-cristalinos a 37°C están generalmente en estado líquido-cristalino durante el tratamiento y por lo tanto, optimizan la remoción de colesterol de las placas.

Preferiblemente, las liposomas usadas dentro de los métodos y composiciones están libres de colesterol.

2. Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. En las composiciones de la presente invención pueden emplearse muchos vehículos farmacéuticamente aceptables. Generalmente, se empleará salina normal como el vehículo farmacéuticamente aceptable. Otros vehículos apropiados incluyen por ej: agua, agua tamponada, salina al 0,4%, glicina al 0,3% y similares, incluidas glicoproteínas para estabilidad mejorada, tal como albúmina, lipoproteína, globulina, etc. Estas composiciones pueden ser esterilizadas mediante técnicas de esterilización conocidas. Las soluciones acuosas que resulten pueden empacarse para uso filtrarse bajo condiciones asépticas y combinar la preparación liofilizada con una solución acuosa estéril antes de administrarse. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables requeridas para aproximar condiciones fisiológicas, tales como agentes tamponadores y ajustadores de pH, agentes de ajuste de tonicidad y similares, por ejemplo, acetato de soda, lactato de soda, cloruro de soda, fosfato de soda, cloruro de potasio, cloruro de calcio, etc.

Las concentraciones de las liposomas pueden variar. En realizaciones particulares, la concentración de liposomas puede variar entre 20 mg/ml y 1000 mg/ml, preferiblemente entre 100 y 200 mg/ml. En realizaciones preferidas separadas, la concentración de liposomas puede variar entre 1 y 20 mg/ml, 20-30 mg/ml, 30-40 mg/ml, 40-50 mg/ml, 50-60 mg/ml, 60-70 mg/ml, 70-80 mg/ml, 80-90 mg/ml, 90-100 mg/ml, 100-110 mg/ml, 110-120 mg/ml, 120-130 mg/ml, 130-140 mg/ml, 140-150 mg/ml, 150-160 mg/ml, 160-170 mg/ml, 170-180 mg/ml, 180-190 mg/ml o 190-200 mg/ml. En ciertas realizaciones preferidas, la concentración será de 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 250 mg/ml o 300 mg/ml. Las personas versadas en la técnica pueden variar estas concentraciones para optimizar el tratamiento con diferentes componentes liposomales o en pacientes en particular. Por ejemplo, la concentración puede aumentarse para reducir la carga de líquido asociada con el tratamiento. Esto puede ser especialmente deseable en pacientes con falla cardíaca congestiva asociada con aterosclerosis o hipertensión severa. Alternativamente, las liposomas compuestas por líquidos irritantes pueden diluirse a concentraciones bajas para aminorar la inflamación en el sitio de la administración.

Opcionalmente, las liposomas pueden enlazarse a una variedad de proteínas y polipéptidos para aumentar la tasa de transferencia de colesterol o la capacidad de transporte de colesterol de las liposomas. El enlace de apolipoproteínas a las liposomas es especialmente útil. Tal como se utiliza en este contexto, "enlace a liposomas" indica que el compuesto

está enlazado de manera covalente o no covalente a la superficie de la liposoma o que está contenido, total o parcialmente en el interior de la liposoma. Generalmente, apolipoproteína A_I, apolipoproteína A_{II} y apolipoproteína E, serán las apolipoproteínas más útiles para enlazarse a las liposomas. Estas apolipoproteínas estimulan la transferencia de colesterol y los ésteres de colesteril al hígado para metabolismo. La aciltransferasa de colesterol lecitina también es útil para metabolizar colesterol libre en ésteres de colesteril. Las liposomas en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden enlazarse a moléculas de apolipoproteína A_I, apolipoproteína A_{II} y apolipoproteína E y acetiltransferasa de colesterol lecitina, solas o en cualquier combinación y relación molar. Proteínas adicionales u otras moléculas sin proteínas también pueden ser útiles para enlazarse a las liposomas y mejorar la estabilidad de las liposomas o visa media y similares. Estas incluyen, por ej: colesterol, fosfolípido enlazado con polietilen glicol y gangliósidos, esteroides, alquilsulfatos, bromuro de amonio, albúmina y similares.

En realizaciones específicas, las composiciones farmacéuticas para uso según la presente invención pueden formularse de manera convencional utilizando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprendan excipientes y auxiliares que faciliten el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que puedan usarse farmacéuticamente. En realizaciones específicas, este tipo de formulaciones incluye estabilizadores y/o antioxidantes. Una formulación correcta depende de la ruta de administración que se escoja. Las liposomas de la presente invención pueden ser en formas liofilizadas, formas líquidas, formas congeladas o formas en polvo. En realizaciones particulares, las liposomas de la presente invención son en forma de polvo, preferiblemente en forma liofilizada, más preferiblemente en forma congelada y más preferiblemente en forma líquida.

Para realizaciones preferidas, las liposomas de la invención pueden formularse en soluciones acuosas para inyección, preferiblemente en tamponadores fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer o tamponador fisiológico de salina. Para administración transmucosal, en la formulación se utilizan penetrantes apropiados para que traspasen la barrera. Este tipo de penetrantes se conocen generalmente en la técnica. En realizaciones específicas, las formulaciones tópicas o transdermales incluyen estabilizadores y/o antioxidantes.

En otras realizaciones, los compuestos pueden formularse fácilmente para administración oral combinando las liposomas con vehículos farmacéuticamente aceptables conocidos en la técnica. Estos vehículos permiten formular los compuestos de la invención como tabletas, píldoras, grajeas, cápsulas, cápsulas de gelatina, cápsulas blandas o herméticas hechas de gelatina y plastificante, líquidos, geles, jarabes, suspensiones y similares, para

ingestión oral por el paciente que se vaya a tratar. También se pueden agregar estabilizadores. Todas las formulaciones para administración oral deben ser en dosis adecuadas para esa administración.

En realizaciones particulares relacionadas con administración bucal, las composiciones pueden tener forma de gotas, tabletas o píldoras formuladas de manera convencional. Las liposomas pueden formularse para administración parenteral por inyección, por ej: por inyección de bolo o infusión continua tal como se describe arriba. En varias realizaciones, los compuestos pueden administrarse por infusión continua por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosis unitaria, por ej: en ampollitas o en contenedores de dosis múltiples, con preservativo. Las composiciones pueden tener la forma de suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos y pueden contener agentes formulados tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión.

Adicionalmente, las suspensiones de liposomas pueden prepararse como suspensiones de inyección aceitosa. Las suspensiones de inyección acuosa pueden contener sustancias que aumenten la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetil celulosa sódica, glicerol, sorbitol o dextran. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizadores o agentes adecuados que aumenten la solubilidad de las liposomas para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.

Alternativamente, el ingrediente activo puede ser en forma de polvo o liofilizada para constitución o reconstitución con un vehículo apropiado, por ej: agua estéril libre de pirógenos, antes de usarse. Los compuestos también pueden formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ej. Que contengan bases convencionales de supositorio tal como mantequilla de cocoa u otros glicéridos.

Ade más de las formulaciones anteriormente descritas, las liposomas también se pueden formular como una preparación de depósito. Este tipo de formulaciones de acción prolongada puede administrarse por implantación (por ejemplo por vía subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular.

Así por ejemplo, los compuestos pueden formularse con materiales poliméricos o hidrofóbicos apropiados o resinas de intercambio de iones, o como derivados solubles en pocas cantidades. Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender vehículos o excipientes apropiados de fase sólida o gelatinosa. Ejemplos de dichos vehículos o excipientes incluyen, más no se limitan a carbonato de calcio, fosfato de calcio, varios azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilen glicoles.

3. Métodos para la prevención, tratamiento o manejo de ciertas enfermedades y otras condiciones corporales con liposomas

También se proveen métodos para la prevención, tratamiento o manejo de una variedad de enfermedades y condiciones corporales, incluidas pero no limitadas a: aterosclerosis incluidas aterosclerosis, flebosclerosis o cualquier condición venosa en la cual se formen depósitos de placas que contengan colesterol u otro material dentro de la intima o medios interiores de las venas, síndromes coronarios agudos, angina, incluidas angina estable y angina inestable, inflamación o enfermedades inflamatorias incluidas pero no limitadas a: inflamación vascular e inflamación dermal, falla cardíaca congestiva, enfermedad coronaria del corazón (CHD), hipertensión, arritmias ventriculares coronarias, arritmias supraventriculares, enfermedad vascular periférica, infarto fatal del miocardio, infarto no fatal del miocardio, isquemia incluida isquemia cardiovascular, hibernación del miocardio, ataques de isquemia transitorios, isquemia no asociada a enfermedad cardiovascular incluida lesión por repercusión de isquemia tal como lesión debida a cirugía de cadera, cirugía de rodilla, transplante de órgano o PTCA, repercusión coronaria, restenosis, eventos isquémicos peri-operativos (PCI), necesidad reducida de revascularización área de infarto reducida, trastornos de coagulación, trombocitopenia, trombosis de vena profunda, pancreatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), neuropatía diabética, retinopatía, neuropatía diabética, psoriasis, isquemia de miembro crítica, claudicación, impotencia, cáncer de próstata, hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipertrigliceridemia, cualquier condición estenótica que conduzca a patología isquémica, diabetes incluidas Tipo I y Tipo II, ictiosis, ataque, placas vulnerables, ruptura de placa vulnerable, enfermedad de Alzheimer, ulceración del miembro inferior, isquemia coronaria severa, linfomas, cataratas, disfunción endotelial, xantomas, disfunción de órgano final, enfermedad vascular, enfermedad vascular que resulte de tabaquismo y diabetes, enfermedad de arteria coronaria y carótida, placas creadas por regresión y contracción, combinaciones de procedimientos quirúrgicos que resulten en lesión del endometrio, daño endotelial como resultado de procedimientos quirúrgicos, morbilidad asociada con enfermedad vascular, ulceraciones en el lumen arterial, restenosis como resultado de angioplastia transluminal precutánea y subindicaciones de lo anterior.

Las composiciones y los métodos de la presente invención pueden utilizarse para aumentar los niveles de HDL, aumentar niveles bajos de HDL, disminuir niveles de LDL, disminuir niveles altos de LDL, aumentar temporalmente los niveles LDL, disminuir los niveles de triglicéridos, aumentar o disminuir el nivel de otros lípidos, aumentar la estabilidad de placa o disminuir la probabilidad de ruptura de placa, aumentar o disminuir vasodilatación, tratar o prevenir inflamación, tratar o prevenir enfermedades inflamatorias o una respuesta inflamatoria, fortalecer o estabilizar el músculo liso y la intima de vasos, estimular la

24
27X

efusión de colesterol extracelular para transporte al hígado, modular respuestas inmunes, movilizar colesterol de placas ateroscleróticas y modificar cualquier membrana, célula, tejido, órgano y región extracelular y/o estructura en la cual sean provechosas modificaciones composicionales y/o funcionales. Las composiciones y los métodos de la presente invención también abarcan aplicaciones tópicas y curación de heridas.

Generalmente, los métodos comprenden administrar una composición de liposomas a un mamífero, preferiblemente a un ser humano que tenga una enfermedad o condición; dicha composición de liposoma comprende liposomas con un diámetro promedio superior a 100 nm, preferiblemente entre 100 nm y 250 nm, preferiblemente entre 100 nm y 140 nm, y más preferiblemente entre 110 y 120 nm. En realizaciones particulares, las liposomas administradas a sujetos tienen un tamaño de diámetro promedio entre 100 y 110 nm, 110 y 120 nm, 120 y 130 nm, 130 y 140 nm, 140 y 150 nm, 150 y 160 nm, 160 y 170 nm, 170 y 180 nm, 180 y 190 nm, y entre 190 y 200 nm. En una realización más preferida, las liposomas utilizadas son ETC-588 (un producto de propiedad de Esperion Therapeutics, Inc.) que tienen un diámetro promedio entre 100 nm y 140 nm, preferiblemente entre 110 nm y 120 nm luego de su manufactura.

Los presentes métodos son particularmente útiles para el tratamiento de lesiones ateroscleróticas así como las otras enfermedades arriba mencionadas y condiciones corporales asociadas con trastornos de lípidos. En una realización en particular, los métodos de la presente invención pueden inhibir o prevenir de manera profiláctica la formación o expansión de placas ateroscleróticas, reducir el contenido de colesterol de placas ateroscleróticas y/o reducir el volumen de placas ateroscleróticas y por lo tanto, el grado de cualquier obstrucción del lumen vascular. La reducción en el volumen de la placa será generalmente entre 5% y 30%, en ocasiones hasta del 50% y en otros casos 75% o más. Generalmente, el contenido de colesterol se reducirá al menos entre 10% y 30%, a menudo entre 30% y 50% y en algunos casos hasta entre 75% y 85% o más. El colesterol puede movilizarse de las placas bien sea por efusión directa en las liposomas o en las lipoproteínas que posteriormente transfieren el colesterol a las liposomas. A medida que el colesterol es transferido a las liposomas de las lipoproteínas, las lipoproteínas pueden recibir más colesterol de las placas. Generalmente, cuando el colesterol es recibido de las lipoproteínas, el colesterol es transferido de HDL.

Los métodos pueden ser útiles para tratar aterosclerosis, así como otras enfermedades y condiciones corporales en una variedad de animales y en una variedad de vasos sanguíneos. Típicamente, el animal será un ser humano, aunque primates no humanos, perros, gatos, roedores, caballos, vacas y similares pueden tratarse por los métodos de la presente invención. Aterosclerosis de cualquier vaso sanguíneo, tal como la aorta, arterias carótidas

25
26

Las formulaciones de liposomas de la presente invención también pueden ser administradas a pacientes para aumentar los niveles de HDL, aumentar niveles bajos de HDL, disminuir niveles de LDL, disminuir niveles altos de LDL, aumentar temporalmente los niveles LDL, disminuir los niveles de triglicéridos, aumentar o disminuir el nivel de otros lípidos, aumentar la estabilidad de placa o disminuir la probabilidad de ruptura de placa, aumentar o disminuir vasodilatación, tratar o prevenir inflamación, tratar o prevenir enfermedades inflamatorias o una respuesta inflamatoria, fortalecer o estabilizar el músculo liso y la intima de vasos, estimular la efusión de colesterol extracelular para transporte al hígado, modular respuestas inmunes, movilizar colesterol de placas ateroscleróticas y modificar cualquier membrana, célula, tejido, órgano y región extracelular y/o estructura en la cual sean provechosas modificaciones composicionales y/o funcionales. Las composiciones y los métodos de la presente invención también abarcan aplicaciones tópicas y curación de heridas.

Los métodos de la presente invención también son útiles para tratamientos profilácticos, en particular para prevenir recurrencia o complicaciones en pacientes que se estén recuperando de procedimientos vasculares invasivos. Las regiones vasculares que tengan el endotelio dañado están en mayor riesgo para desarrollar placas ateroscleróticas. Por lo tanto, procedimientos vasculares invasivos tales como angioplastia coronaria, injerto de *bypass* vascular y otros procedimientos que lesionen la capa endotelial vascular pueden practicarse junto con los métodos de la presente invención. Puesto que el procedimiento invasivo lesiona el endotelio, las liposomas actúan para remover el colesterol de la región lesionada e inhiben o evitan la expansión de formación de placas durante la curación del endotelio.

Las hiperlipidemias también pueden tratarse por los métodos de la presente invención. La administración de liposomas, solas o enlazadas a apolipoproteína AI y apolipoproteína AII, apolipoproteína E, a individuos que tengan hipoalfalipoproteinemia por causas genéticas o secundarias, hiperlipidemia familiar combinada e hipercolesterolemia familiar es un tratamiento útil.

Las liposomas administradas en los métodos de la presente invención estarán compuestas por los lípidos que se mencionan arriba. Generalmente, los lípidos serán en estado líquido cristalino a 37°C. También generalmente, los lípidos incluirán uno o más fosfolípidos en algunos casos fosfatidilcolina o fosfatidil glicerol, aunque las liposomas pueden estar compuestas por muchos otros lípidos, cuyos ejemplos ya se describieron arriba.

Las liposomas pueden administrarse de muchas formas. Por ejemplo, las composiciones pueden administrarse por vía oral o parenteral. Generalmente, las composiciones serán administradas por vía parenteral, preferiblemente por vía intravenosa o intramuscular, subcutánea, interperitoneal, intra-arterial, intratecal, vía linfos, o intravascular. La

(comunes, internas y externas), arterias coronarias, arterias mesentéricas, arterias renales, arterias ilíacas, arterias popliteales y similares, podrán tratarse por los métodos de la presente invención. Igualmente, flebosclerosis o cualquier condición en la que se formen depósitos de placas que contengan colesterol u otro material dentro de la intima o medios internos de las venas se pueden tratar por los métodos de la presente invención. Pacientes humanos para ser tratados incluyen infantes, niños, adolescentes, adultos y personas mayores que no hayan sido tratadas previamente o que hayan sido tratadas previamente para trastornos asociados con el colesterol. Los métodos de la presente invención también incluyen tratamiento a pacientes antes, durante después de cirugía y aquellos con enfermedades específicas o condiciones corporales que se mencionan aquí y/u otras enfermedades y condiciones que no se mencionan aquí. En realizaciones particulares, los métodos incluyen administrar las formulaciones de liposomas descritas aquí a pacientes que sufran de arteriosclerosis incluida aterosclerosis, flebosclerosis o cualquier condición venosa en la que se formen depósitos de placas que contengan colesterol u otro material dentro de la intima o medios internos de las venas, síndromes coronarios agudos, angina, incluidas angina estable y angina inestable, inflamación o enfermedades inflamatorias incluidas pero no limitadas a: inflamación vascular e inflamación dermal, falla cardíaca congestiva, enfermedad coronaria del corazón (CHD), hipertensión, arritmias ventriculares coronarias, arritmias supraventriculares, enfermedad vascular periférica, infarto fatal del miocardio, infarto no fatal del miocardio, isquemia incluida isquemia cardiovascular, hibernación del miocardio, ataques de isquemia transitorios, isquemia no asociada a enfermedad cardiovascular incluida lesión por repercusión de isquemia tal como lesión debida a cirugía de cadera, cirugía de rodilla, transplante de órgano o PTCA, repercusión coronaria, restenosis, eventos isquémicos peri-operativos (PCI), necesidad reducida de revascularización área de infarto reducida, trastornos de coagulación, trombocitopenia, trombosis de vena profunda, pancreatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), neuropatía diabética, retinopatía, neuropatía diabética, psoriasis, isquemia de miembro crítica, claudicación, impotencia, cáncer de próstata, hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipertrigliceridemia, cualquier condición estenótica que conduzca a patología isquémica, diabetes incluidas Tipo I y Tipo II, ictiosis, ataque, placas vulnerables, ruptura de placa vulnerable, enfermedad de Alzheimer, ulceración del miembro inferior, isquemia coronaria severa, linfomas, cataratas, disfunción endotelial, xantomas, disfunción de órgano final, enfermedad vascular, enfermedad vascular que resulte de tabaquismo y diabetes, enfermedad de arteria coronaria y carótida, placas creadas por regresión y contracción, combinaciones de procedimientos quirúrgicos que resulten en lesión del endometrio, daño endotelial como resultado de procedimientos quirúrgicos, morbilidad asociada con enfermedad vascular, ulceraciones en el lumen arterial, restenosis como resultado de angioplastia transluminal precutánea y subindicaciones de lo anterior.

administración puede hacerse por medio de una sonda a permanencia crónica o por una sonda vía infusión venosa con una bomba, vía infusión venosa con jeringa, vía infusión venosa con administración de jeringa a presión. En otras realizaciones, la administración puede ser sublingual, bucal, mucosal, tópica, rectal, vaginal o transdermal. En una realización en particular, las composiciones de la presente invención son administradas tópicamente para prevenir o tratar inflamación para ayudar en la curación de heridas. En realizaciones preferidas, las liposomas serán administradas por vía intravenosa. Con frecuencia, las liposomas serán administradas a una vena central grande, tal como la vena cava superior o la vena cava inferior, para dejar que se administren soluciones altamente concentradas en vasos de gran volumen y flujo. Las liposomas pueden administrarse intra-arterialmente antes, durante o luego de procedimientos vasculares para entregar una alta concentración directamente a un vaso afectado. Las liposomas también pueden administrarse directamente a vasos en forma tópicas por cirujanos durante procedimientos abiertos. En algunos casos, las liposomas pueden ser administradas por vía oral o transdermal. Las liposomas también pueden ser incorporadas en *stents* vasculares para entrega de duración prolongada luego de la colocación. Esto es especialmente efectivo para tratamiento de angioplastia de restenosis de lesiones en las arterias coronarias.

En realizaciones particulares, las formulaciones de liposomas de la presente invención pueden administrarse por vía intravenosa, preferiblemente vía una bomba de infusión, a una tasa entre: 1-2 ml/min, 2-3 ml/min, 3-4 ml/min, 4-5 ml/min, 5-6 ml/min, 6-7 ml/min, 7-8 ml/min, 8-9 ml/min, 9-10 ml/min, 10-11 ml/min, 11-12 ml/min, 12-13 ml/min, 13-14 ml/min, 14-15 ml/min, 15-16 ml/min, 16-17 ml/min, 17-18 ml/min, 18-19 ml/min, 19-20 ml/min, 20-30 ml/min, 30-40 ml/min, 40-50 ml/min, 50-60 ml/min, 60-70 ml/min, 70-80 ml/min, 80-90 ml/min, o 90-100 ml/min; u otra tasa de administración predeterminada. En una realización preferida, las formulaciones de liposomas de la presente invención son administradas por vía intravenosa vía una bomba de infusión, bombas de infusión, goteo IV y/o goteo rápido a una tasa de aproximadamente 10 ml/min. En otra realización, las formulaciones de liposomas de la presente invención pueden administrarse vía una máquina de diálisis o aféresis.

En otras realizaciones específicas, la concentración de liposomas para infusión intravenosa u otra forma de administración puede variar entre 1-10 mg/ml, 10-20 mg/ml, 20-30 mg/ml, 30-40 mg/ml, 40-50 mg/ml, 50-60 mg/ml, 60-70 mg/ml, 70-80 mg/ml, 80-90 mg/ml, 90-100 mg/ml, 100-110 mg/ml, 110-120 mg/ml, 120-130 mg/ml, 130-140 mg/ml, 140-150 mg/ml, 150-160 mg/ml, 160-170 mg/ml, 170-180 mg/ml, 180-190 mg/ml o 190-200 mg/ml, 200-210 mg/ml, 210-220 mg/ml, 220-230 mg/ml, 230-240 mg/ml, 240-250 mg/ml, 250-260 mg/ml, 260-270 mg/ml, 270-280 mg/ml, 280-290 mg/ml, 290-300 mg/ml, 300-310 mg/ml, 310-320 mg/ml, 320-330 mg/ml, 330-340 mg/ml, 340-350 mg/ml, 350-360 mg/ml, 360-370

28
gk

mg/ml, 370-380 mg/ml, 380-390 mg/ml o 390-400 mg/ml; u otra concentración predeterminada. En una realización preferida, la concentración de liposomas para infusión intravenosa es de aproximadamente 200 mg/ml.

Los métodos de la presente invención incluyen administrar las formulaciones de liposomas de la presente invención, de manea terapéutica o profiláctica, a animales que tengan cualquiera de las enfermedades o condiciones arriba mencionadas o cualquier otra enfermedad o condición corporal. La dosis de liposomas puede variar según la condición clínica y el tamaño del sujeto o paciente que reciba el tratamiento. En realizaciones específicas, la invención abarca dosis entre 20 mg/kg a 300 mg/kg, 40 mg/kg a 200 mg/kg, y/o dosis que son toleradas por pacientes, que sean efectivas para el tratamiento y que al mismo tiempo eviten o reduzcan efectos adversos.

En realizaciones particulares, las liposomas de la presente invención son administradas a pacientes en dosis simples o divididas entre 50 mg/kg y 300 mg/kg. En realizaciones separadas preferidas, las liposomas de la presente invención son administradas a pacientes en dosis simples o divididas entre 100 mg/kg y 200 mg/kg, y más preferiblemente entre 50 mg/kg y 200 mg/kg. En otras realizaciones más particulares, las partículas de vesículas son administradas a pacientes en dosis simples o divididas de entre 100 mg/kg y 120 mg/kg, 120 mg/kg y 130 mg/kg, 130 mg/kg y 140 mg/kg, 140 mg/kg y 150 mg/kg, 150 mg/kg y 160 mg/kg, 160 mg/kg y 170 mg/kg, 170 mg/kg y 180 mg/kg, 180 mg/kg y 190 mg/kg, o entre 190 mg/kg y 200 mg/kg. En otras realizaciones, las liposomas son administradas a pacientes en cantidades de dosis fijas de entre 0-1g, 1-2g, 2-3g, 3-4g, 4-5g, 5-6g, 6-7g, 7-8g, 8-9g, 9-10g, 10-11g, 11-12g, 12-13g, 13-14g, 14-15g, 15-16g, 16-17g, 17-18g, 18-19g, o 19-20g.

En realizaciones específicas, esas cantidades de dosis (otras cantidades de dosis de liposomas) son administradas en una dosis simple o dividida en uno o más intervalos que varía entre: una vez al día, una vez cada 2 días, una vez cada 3 días, una vez cada 4 días, una vez cada 5 días, una vez cada 6 días, una vez cada 7 días, una vez cada 8 días, una vez cada 9 días, una vez cada 10 días, una vez cada 11 días, una vez cada 12 días, una vez cada 13 días, una vez cada 14 días, una vez cada 2-3 semanas, una vez cada 3-4 semanas, una vez cada 4-5 semanas, una vez cada 5-6 semanas, una vez cada 6-7 semanas, una vez cada 7-8 semanas, una vez cada 2-3 meses, una vez cada 3-4 meses, una vez cada 4-5 meses, una vez cada 5-6 meses una vez cada 6-7 meses, una vez cada 7-8 meses, una vez cada 8-9 meses, una vez cada 9-10 meses, una vez cada 10-11 meses, una vez cada 11-12 meses, una vez cada 1-2 años, una vez cada 2-3 años, una vez cada 3-4 años, una vez cada 4-5 años; o administrarse de otra forma a intervalos de tiempo predeterminados por un periodo de tratamiento predeterminado. En una realización particularmente preferida,

el intervalo de tiempo entre cantidades de dosis durante un curso de terapia es de aproximadamente una semana.

Periodos de tratamiento preferidos para un curso de terapia pueden abarcar desde cuando se administra la primera dosis a aproximadamente, 1, día, 2 día, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 1-2 semanas, 2-3 semanas, 3-4 semanas, 4-5 semanas, 5-6 semanas, 6-7 semanas, 7-8 semanas, 2-3 meses, 3-4 meses, 4-5 meses, 5-6 meses, 6-7 meses, 7-8 meses, 8-9 meses, 9-10 meses, 10-11 meses, 11-12 meses, 1-2 años, 2-3 años, 3-4 años, y 4-5 años.

En ciertas realizaciones, un curso de terapia puede ser por ciclos o intermitente, donde los compuestos y las formulaciones de la presente invención son administrados a sujetos por un periodo finito de tiempo o hasta que los eventos adversos o efectos secundarios garanticen reducción en dosis o cesación del tratamiento para un periodo de tiempo en particular (periodo de receso). La reducción en dosis, cesación del tratamiento o duración del periodo de receso puede determinarse a discreción del médico. Luego de dicho periodo de receso o luego de que se terminen dichos eventos adversos o efectos secundarios, o a discreción del médico, se puede resumir el tratamiento si se requiere.

La tolerancia, seguridad y eficiencia (incluidos pero no limitados a niveles de colesterol, enzimas del hígado, niveles sanguíneos de determinantes o marcadores específicos y factores fisiológicos) pueden monitorearse antes, durante o luego de un curso de terapia y/o durante los diversos periodos durante un curso de terapia intermitente o cíclica. En realizaciones preferidas, factores fisiológicos, cambios vasculares, estabilidad de placas, paredes de vasos y otros marcadores son monitoreados por técnicas de imágenes, incluidas pero no limitadas a (por ej: imágenes de resonancia magnética (MRI), ultrasonido intravascular y técnicas de flujo sanguíneo). Los marcadores sanguíneos pueden monitorearse por pruebas sanguíneas conocidas en la técnica. Durante o después de que se termine el monitoreo, el régimen del tratamiento puede modificarse de conformidad [incluida la modificación de las cantidades de dosis, tamaño o distribución de liposomas, tasas de administración, concentración de liposomas, número de dosis, tiempo entre intervalos o duración de los periodos de tratamiento].

Además, las liposomas de la presente invención son administradas a pacientes en combinación con otros fármacos, productos terapéuticos o terapias reguladoras de lípidos. Por ejemplo, las liposomas de la presente invención pueden administrarse simultáneamente con inhibidores de reductasa HMG-CoA, fibratos, secuestrantes de ácido biliar, ácido nicotínico y otros agente anti-hiperlipidémicos, agentes anti-diabéticos y/o agentes de control glicérico, miméticos Apo-AI y elevadores HDL de Esperion Therapeutics, Inc., otros agentes cardiovasculares conocidos en la técnica y combinaciones de lo mismo.

En una realización en particular, las liposomas de la presente invención son administradas a pacientes que sufran de diabetes, simultáneamente con otros agentes de control anti-diabéticos y/o glicéricos. En otras realizaciones particulares, las liposomas son administradas para prevenir, tratar o manejar a un paciente que sufra de inflamación, una enfermedad inflamatoria, o para prevenir o reducir una respuesta inflamatoria. En otras realizaciones específicas, las liposomas de la presente invención son aplicadas tópicamente a la piel para tratar inflamación cutánea, subcutánea o localizada, o para ayudar en la curación de una herida. En otra realización específica, las liposomas de la presente invención son administradas a un paciente para prevenir, manejar o tratar a un paciente que sufra de la enfermedad de Alzheimer. En otra realización específica, las liposomas de la presente invención son administradas a un paciente para prevenir, manejar o tratar a un paciente que sufra de aterosclerosis, flebosclerosis o cualquier condición en la que se formen depósitos de placas que contengan colesterol u otro material dentro de la intima o medios internos de los vasos sanguíneos. En otra realización específica, las liposomas de la presente invención son administradas a un paciente para prevenir, manejar o tratar a un paciente que sufra de isquemia, incluida isquemia no cardiovascular. En otra realización específica, las liposomas de la presente invención se utilizan para pretratar a pacientes antes de cirugía electiva que pueda inducir lesión de repercusión de isquemia, tal como cirugía de la cadera, cirugía de rodilla, transplante de órganos, PTCA.

En una realización preferida, el periodo de tratamiento para un curso de terapia no es superior a 14 semanas. En otras realizaciones particularmente preferidas, las liposomas son administradas entre 5-200 mg/kg a intervalos de 4-7 días con dosis totales entre 1-4, 1-8 ó 1-4 administradas durante cada curso de terapia. En otras realización en particular, las liposomas son administradas entre 5 y 200 mg/kg una vez a la semana durante aproximadamente 4 a 16 semanas, preferiblemente aproximadamente 10 semanas (para un total de 10 tratamientos).

En una realización preferida, liposomas en una concentración entre 50 y 200 mg/ml con un diámetro promedio entre 50 y 250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de aterosclerosis, solas o en combinación con otros agentes antiescleróticos, en una dosis de 100 mg/kg, y a una tasa de 10 ml/min más rápida cada 7 días para un total de 10 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de aterosclerosis, solas o en combinación con otros agentes antiescleróticos, en una dosis de 150 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 12 dosis.

31

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de aterosclerosis, solas o en combinación con otros agentes antiescleróticos, en una dosis de 200 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 14 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de falla cardíaca congestiva, enfermedad cardíaca coronaria, hipertensión o arritmias, solas o en combinación con otros agentes cardiovasculares, en una dosis de 100 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 10 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de falla cardíaca congestiva, enfermedad cardíaca coronaria, hipertensión o arritmias, solas o en combinación con otros agentes cardiovasculares, en una dosis de 150 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 12 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de falla cardíaca congestiva, enfermedad cardíaca coronaria, hipertensión o arritmias, solas o en combinación con otros agentes cardiovasculares, en una dosis de 200 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 14 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de inflamación, solas o en combinación con otros agentes anti-inflamatorios, en, en una dosis de 100 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 10 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de inflamación, solas o en combinación con otros agentes anti-inflamatorios, en, en una dosis de 150 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 12 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más

En una realización en particular, las liposomas de la presente invención son administradas a pacientes que sufran de diabetes, simultáneamente con otros agentes de control anti-diabéticos y/o glicéricos. En otras realizaciones particulares, las liposomas son administradas para prevenir, tratar o manejar a un paciente que sufra de inflamación, una enfermedad inflamatoria, o para prevenir o reducir una respuesta inflamatoria. En otras realizaciones específicas, las liposomas de la presente invención son aplicadas tópicamente a la piel para tratar inflamación cutánea, subcutánea o localizada, o para ayudar en la curación de una herida. En otra realización específica, las liposomas de la presente invención son administradas a un paciente para prevenir, manejar o tratar a un paciente que sufra de la enfermedad de Alzheimer. En otra realización específica, las liposomas de la presente invención son administradas a un paciente para prevenir, manejar o tratar a un paciente que sufra de aterosclerosis, flebosclerosis o cualquier condición en la que se formen depósitos de placas que contengan colesterol u otro material dentro de la intima o medios internos de los vasos sanguíneos. En otra realización específica, las liposomas de la presente invención son administradas a un paciente para prevenir, manejar o tratar a un paciente que sufra de isquemia, incluida isquemia no cardiovascular. En otra realización específica, las liposomas de la presente invención se utilizan para pretratar a pacientes antes de cirugía electiva que pueda inducir lesión de repercusión de isquemia, tal como cirugía de la cadera, cirugía de rodilla, trasplante de órganos, PTCA.

En una realización preferida, el periodo de tratamiento para un curso de terapia no es superior a 14 semanas. En otras realizaciones particularmente preferidas, las liposomas son administradas entre 5-200 mg/kg a intervalos de 4-7 días con dosis totales entre 1-4, 1-8 ó 1-4 administradas durante cada curso de terapia. En otras realización en particular, las liposomas son administradas entre 5 y 200 mg/kg una vez a la semana durante aproximadamente 4 a 16 semanas, preferiblemente aproximadamente 10 semanas (para un total de 10 tratamientos).

En una realización preferida, liposomas en una concentración entre 50 y 200 mg/ml con un diámetro promedio entre 50 y 250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de aterosclerosis, solas o en combinación con otros agentes antiescleróticos, en una dosis de 100 mg/kg, y a una tasa de 10 ml/min más rápida cada 7 días para un total de 10 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de aterosclerosis, solas o en combinación con otros agentes antiescleróticos, en una dosis de 150 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 12 dosis.

preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de inflamación, solas o en combinación con otros agentes anti-inflamatorios, en, en una dosis de 200 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 14 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de isquemia, solas o en combinación con otros agentes anti-isquémicos, en una dosis de 100 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 10 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de isquemia, solas o en combinación con otros agentes anti-isquémicos, en una dosis de 150 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 12 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de isquemia, solas o en combinación con otros agentes anti-isquémicos, en una dosis de 200 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 14 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipertrigliceridemia, solas o en combinación con agentes anti-hiperlipidémicos, anti-hiperlipoproteinémicos, anti-hipoalfalipoproteinémicos o anti-hipertrigliceridémicos, en una dosis de 100 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 10 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipertrigliceridemia, solas o en combinación con agentes anti-hiperlipidémicos, anti-hiperlipoproteinémicos, anti-hipoalfalipoproteinémicos o anti-hipertrigliceridémicos, en una dosis de 150 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 12 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de

34
24

hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipertrigliceridemia, solas o en combinación con agentes anti-hiperlipidémicos, anti-hiperlipoproteinémicos, anti-hipoalfalipoproteinémicos o anti-hipertrigliceridémicos, en una dosis de 200 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 14 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de enfermedad cardiovascular y diabetes, solas o en combinación con agentes de control antidiabético y/o glicémico y/o agentes cardiovasculares, en una dosis de 100 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 10 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de enfermedad cardiovascular y diabetes, solas o en combinación con agentes de control antidiabético y/o glicémico y/o agentes cardiovasculares, en una dosis de 150 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 12 dosis.

En otra realización específica, liposomas en una concentración entre 50-200 mg/ml con un diámetro entre 50-250 nm $\pm$ 50%, preferiblemente entre 100-140 nm $\pm$ 50%, más preferiblemente entre 110-120 nm $\pm$ 50% son administradas a un paciente que sufra de enfermedad cardiovascular y diabetes, solas o en combinación con agentes de control antidiabético y/o glicémico y/o agentes cardiovasculares, en una dosis de 200 mg/kg y a una tasa de 10 ml/min o más rápida cada 7 días para un total de 14 dosis.

Los regímenes de dosis también incluyen administraciones en bolo o tratamiento de infusión continua que puede incluir el uso de una dosis primaria seguida por una dosis de mantenimiento. En realizaciones preferidas, la dosis será constante durante el curso del tratamiento. En otras realizaciones preferidas, la dosis variará. En realizaciones particulares, las formulaciones de liposomas serán administradas solo una vez, y en otras realizaciones administradas serialmente en dosis múltiples y en otras realizaciones, administradas en dosis múltiples no consecutivas. La duración, programa de los tratamiento y regímenes de dosificación pueden variarse por métodos que conocen las personas versadas en la técnica. Las mediciones séricas de colesterol total libre, colesterol total esterificado, colesterol HDL, colesterol LDL y colesterol VLDL pueden usarse para evaluar y modificar las cantidades y los programas de dosis durante el régimen del tratamiento. A medida que el colesterol es movilizado de las placas, sube el colesterol sérico. Se aconseja que el colesterol sérico total y el colesterol HDL se eleven durante la terapia y que el colesterol esterificado caiga (o se afecte en forma mínima) durante la

35
G
M

terapia. Generalmente, la dosis de liposoma para diferentes animales se aproximará a la dosis humana determinada por peso. Los pacientes tratados con este tipo de composiciones y según este tipo de métodos pueden ser de cualquier edad y pueden sufrir de una o más de las enfermedades o condiciones corporales enunciadas arriba y/u otras enfermedades y condiciones.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se proveen a modo de ilustración y no como limitación.

Ejemplo 1

Dosis Múltiples de Liposomas ETC en pacientes con aterosclerosis

Se hizo un estudio de dosis múltiple que evaluó los efectos de dosis múltiples de liposomas ETC-588 (el estudio ETC-588-003) en pacientes humanos con aterosclerosis. Las liposomas ETC-588 (200 mg/ml) fueron administradas por vía intravenosa por infusión utilizando una bomba de infusión. Las liposomas ETC-588 fueron probadas como fosfolípido (PL). Los grupos de dosis fueron los siguientes: se estudiaron placebo (7 ó 14 dosis), 100 mg/kg (7 dosis) ó 200 mg/kg (7 dosis). Las dosis fueron administradas a intervalos de 4 días (q4d) o intervalos de 7 días (q7d). En el estudio participó un total de 42 pacientes (36 hombres y 6 mujeres) entre 44 y 76 años (edad promedio 63 ± 7 años). El peso promedio de los pacientes fue de $87,7 \text{ kg} \pm 17,0 \text{ kg}$ con un rango entre 52,4 g y 147,7 kg. La línea base promedio de niveles de colesterol HDL de los pacientes fue de $36 \pm 4 \text{ mg/dL}$ y la línea base promedio de los niveles totales de colesterol de los pacientes fue de $182 \pm 36 \text{ mg/ml}$. Además, el siguiente porcentaje de pacientes tenía una historia de: enfermedad arterial coronaria: 98%, enfermedad de arteria periférica; 2%, injerto de *bypass* de arteria coronaria: 57%, angina estable: 29% y angina inestable: 19%

El colesterol total y no esterificado (UC) y PL se probó por métodos automatizados estándar. Los sujetos fueron asignados a grupos de tratamiento de acuerdo con un programa de aleatorización. En cada punto de tiempo y para cambio predosis y posdosis se resumieron seguridad y tolerancia, datos de laboratorio, signos vitales y eventos adversos utilizando estadística descriptiva. Las mediciones farmacocinéticas y farmacodinámicas se resumieron utilizando estadística descriptiva. De los 42 pacientes que participaron en el estudio, 36 recibieron realmente el medicamento, aunque 2 pacientes se retiraron antes de completar todas las dosis por razones diferentes de eventos adversos o efectos secundarios. El número de pacientes que reportó un evento adverso (AE) fue de 26 en total (72%) y el número de pacientes que reportó un evento adverso grave (SAE) fue de 5 (14%) en total. El número de pacientes incluidos en el análisis de seguridad fue de 36, mientras que 33 pacientes fueron incluidos en los análisis farmacocinéticas y farmacodinámicos (con datos

36

farmacocinéticos incompletos para 3 pacientes). También se examinaron los efectos de ETC-588 sobre la función endotelial (estructura vascular) marcadores inflamatorios e imágenes de resonancia magnética (MRI).

Los resultados se presentan en las Figuras 2 y 3. Los resultados demuestran que la movilización de colesterol ocurrió en todas las dosis de ETC-588 con eficiencias variadas. Los siguientes eventos adversos y eventos adversos graves se reportaron para cada grupo.

Grupo de dosis

Categoría de evento adverso (AE)	Placebo (n=6)	50 mg/kg q7d (n=4)	50 mg/kg q4d (n=4)	100 mg/kg q7d (n=5)	100 mg/kg q4d (n=5)	200 mg/kg q7d (n=5)	200 mg/kg q4d (n=7)
Cualquier AE	4 66,7%	4 (100%)	2 (50,0%)	5 (100%)	3 (60,0%)	2 (40,0%)	6 (85,7%)
Cualquier SAE	0	0	1 (25,0%)	0	1 (25,0%)	1 (20,0%)	2 28,6%
Cesó algún tratamiento	0	0	0	0	0	0	0

A continuación se resumen los eventos adversos más comunes en pacientes con al menos una ocurrencia de un evento adverso. Eventos adversos graves (contracción del cuello de la vejiga, dolor en el pecho, hiperglicemia o exacerbación de diabetes) fueron considerados por el médico tratante como no asociados con la administración de ETC-588.

Evento adverso (No. total de incidencias)	Placebo N=6	50 mg/kg N=8	100 mg/kg N=10	200 mg/kg N=12
Dolor de cabeza (23)	2	1	5	4
Mareo (6)	1	3	0	0
Fatiga (6)	0	0	2	3
Náusea (5)	0	2	0	1
Aumento de presión sanguínea (4)	0	2	1	0
Dolor en el pecho (3)	0	1	1	0

En general, los resultados del estudio ETC-588-003 sugieren que las liposomas ETC-588 movilizan colesterol de manera dependiente de dosis y que dosis de 200 mg/kg o menos son seguras y son bien toleradas por lo general. Además, como se demuestra arriba, intervalos de dosificación de 7 días parecen ser óptimos sobre los intervalos de dosificación de 4 días para liposomas ETC-588 porque la dosificación de 7 días permite el despeje de fosfolípidos y colesterol no esterificado en el suero. Además, los intervalos de dosificación

37
37

de 7 días pueden ser óptimos sobre los intervalos de dosificación de 4 días porque los eventos adversos y los eventos adversos graves pueden reducirse o prevenirse.

Por ejemplo, tal como se demuestra en las anteriores tablas, cuando se administró 200 mg/kg en intervalos de 7 días, el porcentaje de cualquier evento adverso fue 40% y cualquier evento adverso grave fue de 20%. Al contrario, cuando se administró 200 mg/kg en intervalos de 4 días, el porcentaje de cualquier evento adverso fue de 85,7% y cualquier evento adverso grave fue de 28,6%. Igualmente, cuando se administró 100 mg/kg en intervalos de 7 días, el porcentaje de "cualquier evento adverso grave" fue de 0%. Al contrario, cuando se administró 100 mg/kg en intervalos de 4 días, el porcentaje de "cualquier evento adverso grave" fue de 25%. Igualmente, cuando se administró 50 mg/kg en intervalos de 7 días, el porcentaje de "cualquier evento adverso grave" fue de 0%. Sin embargo, cuando se administró 50 mg/kg en intervalos de 4 días, el porcentaje de "cualquier evento adverso grave" fue de 25%.

REIVINDICACIONES

1. Un método para prevenir, tratar o manejar una enfermedad o una condición corporal que comprende administrar liposomas entre 50 mg/kg y 300 mg/kg en dosis simples o divididas; dichas liposomas comprenden fosfolípidos y una capa acuosa y tienen un diámetro promedio entre 50 nm y 250 nm.
2. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en una dosis entre 50 mg/kg y 300 mg/kg a intervalos de 4 a 10 días.
3. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas tienen un diámetro promedio entre 50 y 150 nm.
4. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas tienen un diámetro promedio entre 50 y 200 nm.
5. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas tienen un diámetro promedio entre 100 y 200 nm.
6. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas tienen un diámetro promedio entre 100 y 250 nm.
7. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas tienen un diámetro promedio entre 150 y 200 nm.
8. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas tienen un diámetro promedio entre 150 y 250 nm.
9. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en combinación con otras vesículas fosfolípidas seleccionadas del grupo compuesto por vesículas multilamelares, vesículas unilamelares grandes, vesículas unilamelares pequeñas y mezclas de lo mismo.
10. El método de la reivindicación 1, que no causa un incremento o reducción sustancial en los niveles LDL del sujeto.
11. El método de la reivindicación 1, que no causa un incremento o reducción sustancial en los niveles LDL del sujeto.
12. El método de la reivindicación 1, en el cual el fosfolípido es seleccionado del grupo compuesto por fosfatidilcolina de huevo, fosfatidil glicerol de huevo, distearoilfosfatidilcolina o distearoilfosfatidil glicerol, fosfatidil colina, fosfatidil glicerol, lecitin, beta, glicolípidos, gamma-dipalmitoil-alfa-lecitin, esfingomielin, fosfatidilserina,

ácido fosfatídico, N-(2,3-di(9-Z)-octadeceniloxy))-prop-1-il-N,N,N-cloruro de trimetilamonio, fosfatidiletanolamina, lisolecitin, lisofosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, cefalin, cardiolipin, cerebrosidas, dicetilfosfato, dioleoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidil glicerol, dioleilfosfatidil glicerol, palmitoil-oleoil-fosfatidilcolina, di-estearoil-fosfatidilcolina, estearoil-palmitoil-fosfatidilcolina, di-palmitoil-fosfatidiletanolamina, di-estearoil-fosfatidiletanolamina, di-mirstoil-fosfatidilserina, di-oleoil-fosfatidilcolina, oleoil-palmitoil fosfatidilcolina, oleoil-palmitoil fosfatidilcolina, un lípido que esté en fase líquido-cristalina a 37°C y mezclas de lo mismo.

13. El método de la reivindicación 1, en donde el fosfolípido es palmitoil-oleoil-fosfatidilcolina.

14. El método de la reivindicación 1, en donde la enfermedad o condición corporal es seleccionada del grupo compuesto por aterosclerosis, flebosclerosis o cualquier condición venosa en la que se formen depósitos de placas que contengan colesterol u otro material dentro de la intima o medios internos de las venas, síndromes coronarios agudos, angina, incluidas angina estable y angina inestable, inflamación o enfermedades inflamatorias incluidas pero no limitadas a: inflamación vascular e inflamación dermal, falla cardíaca congestiva, enfermedad coronaria del corazón (CHD), hipertensión, arritmias ventriculares coronarias, arritmias supraventriculares, enfermedad vascular periférica, infarto fatal del miocardio, infarto no fatal del miocardio, isquemia incluida isquemia cardiovascular, hibernación del miocardio, ataques de isquemia transitorios, isquemia no asociada a enfermedad cardiovascular incluida lesión por repercusión de isquemia tal como lesión debida a cirugía de cadera, cirugía de rodilla, trasplante de órgano o PTCA, repercusión coronaria, restenosis, eventos isquémicos peri-operativos (PCI), necesidad reducida de revascularización área de infarto reducida, trastornos de coagulación, trombocitopenia, trombosis de vena profunda, pancreatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), neuropatía diabética, retinopatía, neuropatía diabética, psoriasis, isquemia de miembro crítica, claudicación, impotencia, cáncer de próstata, hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipoalfalipoproteinemia, hipertrigliceridemia, cualquier condición estenótica que conduzca a patología isquémica, diabetes incluidas Tipo I y Tipo II, ictiosis, ataque, placas vulnerables, ruptura de placa vulnerable, enfermedad de Alzheimer, ulceración del miembro inferior, isquemia coronaria severa, linfomas, cataratas, disfunción endotelial, xantomas, disfunción de órgano final, enfermedad vascular, enfermedad vascular que resulte de tabaquismo y diabetes, enfermedad de arteria coronaria y carótida, placas creadas por regresión y contracción, combinaciones de procedimientos quirúrgicos que resulten en lesión del endometrio, daño endotelial como resultado de procedimientos quirúrgicos, morbilidad asociada con enfermedad vascular, ulceraciones en el lumen arterial, restenosis como resultado de angioplastia transluminal precutánea y subindicaciones de lo anterior.

40
✗

15. El método de la reivindicación 1, en donde el tratamiento fortalece la íntima de las paredes de los vasos, estimula la efusión de colesterol extracelular para transporte al hígado, modula respuestas inmunes, moviliza colesterol de placas ateroscleróticas, ayuda en la curación de heridas, modifica cualquier membrana, tejido, órgano corporal, región o estructura corporal.
16. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en combinación o son enlazada en forma accesoria a compuestos seleccionados del grupo compuesto por péptidos, paroxanasa, lipoproteína lipasa Apo-A-I y miméticos, variantes de A-I y combinaciones de lo mismo.
17. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en combinación con moléculas pequeñas o fármacos que afecten los niveles de colesterol.
18. El método de la reivindicación 17, en donde la molécula pequeña es una estatina, HDL reconstituido, HDL pequeño o partícula de lipoproteína HDL de mimética sintética
19. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en combinación con uno o más agentes cardiovasculares, agentes antidiabéticos u otras sustancias terapéuticas.
20. El método de la reivindicación 19, en donde el agente cardiovascular es seleccionado del grupo compuesto por moléculas pequeñas, estatinas, aspirina, bloqueadores beta incluidos clopidogrel bloqueadores de calcio, heparina incluida heparina de peso molecular bajo, agentes reductores de glucosa, nitratos, inhibidores IIb/IIIa, inhibidores ACE, fibratos y secuestrantes de ácido biliar.
21. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en una dosis de aproximadamente 50 mg/kg cada 7 días.
22. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en una dosis de aproximadamente 100 mg/kg cada 7 días.
23. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en una dosis de aproximadamente 150 mg/kg cada 7 días.
24. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en una dosis de aproximadamente 200 mg/kg cada 7 días.
25. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en una dosis de aproximadamente 250 mg/kg cada 7 días.

41 ~~XX~~

26. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas en una dosis de aproximadamente 300 mg/kg cada 7 días.
27. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas una vez.
28. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas dos veces a intervalos entre 4 y 7 días.
29. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas tres veces a intervalos entre 4 y 7 días.
30. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas cuatro veces a intervalos entre 4 y 7 días.
31. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas cinco veces a intervalos entre 4 y 7 días.
32. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas seis veces a intervalos entre 4 y 7 días.
33. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas siete veces a intervalos entre 4 y 7 días.
34. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas ocho veces a intervalos entre 4 y 7 días.
35. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas nueve veces a intervalos entre 4 y 7 días.
36. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas diez veces a intervalos entre 4 y 7 días.
37. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas once veces a intervalos entre 4 y 7 días.
38. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas doce veces a intervalos entre 4 y 7 días.
39. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas trece veces a intervalos entre 4 y 7 días.
40. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas catorce veces a intervalos entre 4 y 7 días.

42

41. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos semanales.
42. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de dos semanas.
43. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos mensuales.
44. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 2 meses.
45. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 3 meses.
46. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 4 meses.
47. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 5 meses.
48. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 6 meses.
49. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 7 meses.
50. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 8 meses.
51. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 9 meses.
52. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 10 meses.
53. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 11 meses.
54. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 3 años.
55. El método de la reivindicación 1, en donde las liposomas son administradas de 2 a 14 veces a intervalos de 4 años.

56. Un método para reducir el colesterol en el tejido periférico al mismo tiempo que reduce o evita efectos adversos asociados con terapia de liposomas, que comprende administrar a un paciente que lo requiera, una dosis entre 100 mg/kg y 200 mg/kg de liposomas con un tamaño de partícula promedio entre 50 nm y 250 nm.

57. Un método para prevenir o tratar una enfermedad o trastorno asociado con niveles anormales de colesterol, que comprende administrar a un paciente que lo requiera, dosis entre 100 mg/kg y 200 mg/kg de liposomas; dicha administración se hace en dosis simples o múltiples cada 7 o más días.

58. El método de la reivindicación 56, en donde la administración se hace una vez cada 7 días.

59. El método de la reivindicación 56, en donde la administración se hace entre 6 a 14 veces.

60. Un método para reducir el colesterol en un ser humano enfermo, que comprende administrar a dicho ser humano liposomas en una dosis entre 100 mg/kg y 200 mg/kg cada 4 o más días; dichas liposomas tienen un diámetro promedio entre 50 nm y 250 nm.

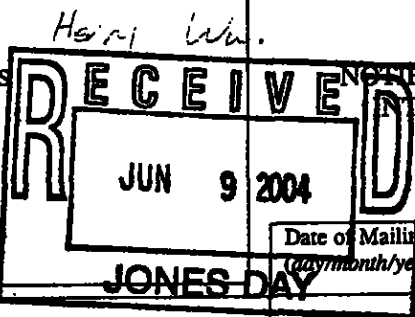
61. El método de la reivindicación 59, que además comprende administrar dichas liposomas en combinación con uno o más agentes cardiovasculares, agentes antidiabéticos y/o glicémicos, y/u otros agentes terapéuticos.

PATENT COOPERATION TREATY

44

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:
LAURA A. CORUZZI
PENNIE & EDMONDS LLP
1155 AVENUE OF THE AMERICAS
NEW YORK, NY 10036



PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

Date of Mailing
(day/month/year)

04 JUN 2004

Applicant's or agent's file reference

10173-41-228

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/US03/10339

International filing date (day/month/year)

04 April 2003 (04.04.2003)

Priority date (day/month/year)

05 April 2002 (05.04.2002)

Applicant

ESPERION LUV DEVELOPMENT, INC.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. **REMINDER**

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices)(Article 39(1))(see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

Name and mailing address of the IPEA/US

Mail Stop PCT, Attn: IPEA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. (703)305-3230

Form PCT/IPEA/416 (July 1992)

Authorized officer

Gollamudi S. Kishore
Gollamudi S. Kishore, Ph.D.

Telephone No. (703) 308-0196

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 10173-41-228	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/US03/10339	International filing date (day/month/year) 04 April 2003 (04.04.2003)	Priority date (day/month/year) 05 April 2002 (05.04.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC IPC(7): A61K 9/127, 9/133 and US Cl.: 424/450; 514/824		
Applicant ESPERION LUV DEVELOPMENT, INC.		
1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet. ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of <u>—</u> sheets. 3. This report contains indications relating to the following items: I ☒ Basis of the report II ☐ Priority III ☐ Non-establishment of report with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV ☐ Lack of unity of invention V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI ☐ Certain documents cited VII ☐ Certain defects in the international application VIII ☐ Certain observations on the international application		
Date of submission of the demand 04 November 2003 (04.11.2003)	Date of completion of this report 24 March 2004 (24.03.2004)	
Name and mailing address of the IPEA/US Mail Stop PCT, Attn: IPEA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703)305-3230	Authorized officer <i>Pritha Sawhney</i> For Gollamudi S. Kishore, Ph.D. Telephone No. (703) 308-0196	

Form PCT/IPEA/409 (cover sheet)(July 1998)

46

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

☒ the international application as originally filed.☒ the description:

pages 1-32 as originally filed

pages NONE, filed with the demand

pages NONE, filed with the letter of _____.

☒ the claims:

pages 33-38, as originally filed

pages NONE, as amended (together with any statement) under Article 19

pages NONE, filed with the demand

pages NONE, filed with the letter of _____.

☒ the drawings:

pages 1-3, as originally filed

pages NONE, filed with the demand

pages NONE, filed with the letter of _____.

☐ the sequence listing part of the description:

pages NONE, as originally filed

pages NONE, filed with the demand

pages NONE, filed with the letter of _____.

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in printed form.☐ filed together with the international application in computer readable form.☐ furnished subsequently to this Authority in written form.☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:☐ the description, pages NONE☐ the claims, Nos. NONE☐ the drawings, sheets/fig NONE5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/US03/1033946
47

V. Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. STATEMENT

Novelty (N)	Claims <u>47-55</u>	YES
	Claims <u>1-46 and 56-61</u>	NO
Inventive Step (IS)	Claims <u>NONE</u>	YES
	Claims <u>1-61</u>	NO
Industrial Applicability (IA)	Claims <u>1-61</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO

2. CITATIONS AND EXPLANATIONS

Claims 1-17, 19-61 lack novelty under PCT Article 33(2) as being anticipated by HOPE et al. (US 6,139,871).

HOPE et al. disclose a method of treatment of atherosclerosis using liposomes of claimed sizes. The amounts of the liposomes and the protocol of administration fall within the ranges claimed (note the entire patent, col. 4, line 55 through col. 9, line 29 in particular).

Claims 18 and 47-55 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over HOPE et al. (US 6,139,871) cited above.

HOPE et al do not teach the administration of statins in addition. However, since statins are known in the art for lowering of cholesterol, it would have been obvious to one of ordinary skill in the art to administer these compounds with the expectation of obtaining at least an additive effect. HOPE et al also teach all of the claimed administration protocols. However, these are deemed to be parameters manipulated by an artisan to obtain the best possible results.

Claims 1-20 and 56-57 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over WILLIAMS (US 5,746,223).

WILLIAMS discloses a method of controlling hepatic cholesterol homeostasis and altering arterial function using liposomes of claimed sizes and protocol (abstract, Figures, col. 20, line 39 through col. 22, line 44 and claims).

Claims 21-55 and 58-61 and 47-55 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over WILLIAMS et al (US 5,746,223).

WILLIAMS et al. do not all of the claimed administration protocols. However, these are deemed to be parameters manipulated by an artisan to obtain the best possible results.

Claims 1-61 meet the criteria set out in PCT Article 33(4), and thus have industrial applicability because the subject matter claimed can be made or used in industry

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

48

NOTE OF INFORMAL COMMUNICATION WITH THE APPLICANT

(PCT Rule 66.6)

International application No. PCT/US03/10339	Applicant's or agent's file reference 10173-41-228	Date of informal communication (day/month/year) 24 March 2004 (24.03.2004)
Applicant ESPERION LUV DEVELOPMENT, INC.		

Communication ☒ by telephone ☐ personal	Participants ☐ Identity checked ☐ authorization checked ☐ personally known ☒ Applicant: ES/PER.ION LUV DEVELOPMENT, INC. ☒ Agent: Henry Woo/Laura Coruzzi ☒ Examiner(s): Gollamudi S. Kishore, Ph.D.
---	--

Summary of communication:

An authorization for sending 409 directly instead of a 408 was requested by the examiner. In a voice mail message on 03/23/04, the attorney Henry Woo gave such an authorization.

☐ An extension of time limit is granted (Form PCT/IPEA/427).☒ A copy of this note is being sent to the applicant with Form PCT/IPEA/429.

PCT/IPEA/424.

Name and mailing address of the IPEA/US Mail Stop PCT, Attn: IPEA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703)305-3230	Authorized officer Gollamudi S. Kishore, Ph.D. Telephone No. (703) 308-0196
--	---

Form PCT/IPEA/428 (July 1992)

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ✓	()	()
MODELO DE UTILIDAD	()	()
Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
Descripción de la invención.	()	()
Dibujos de ser estos pertinentes. X	()	()
Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()		INCOMPLETA ()
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
Representación gráfica o fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()		INCOMPLETA ()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()		INCOMPLETA ()

Firma Responsable: Claudia M Neiva

Fecha:

51
50

2020

Bogotá D C

Doctor(a)
LUIS FELIPE CASTILLO GIBSON
Apoderado(a)
ESPERION LUV DEVELOPEMENT INC.

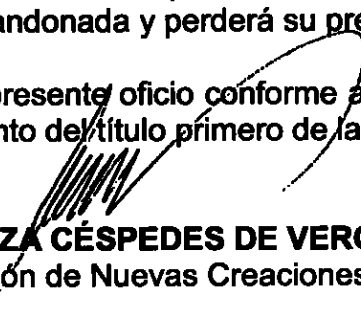
REFERENCIA:	Radicación N°	04-106850	
	Solicitud internacional	PCT/IB03/01310	
	Fecha inicio fase nacional	2004-11-05	
	Trámite	011	10482
	Evento	379	
	Actuación	430	
	Folios	001	

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- La solicitud no contiene copia del documento en que consta la cesión del derecho de patente del inventor al solicitante o a su causante (Art. 26-k Decisión 486).
- La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando éste fuere una persona jurídica.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha,
12 NOV. 2004
202063