

TRADUZIONE DEL TESTO DEL BREVETTO EUROPEO N. 3735226

Dal titolo:

"Composizioni iniettabili di antifungini triterpenoidi incapsulati in liposomi"

*** **

DESCRIZIONE

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda composizioni comprendenti vescicole di liposomi che incapsulano composti antifungini triterpenoidi derivati da enfumafungin. Più in particolare, l'invenzione riguarda composizioni comprendenti vescicole a doppio strato fosfolipidico che incapsulano triterpenoidi derivati da enfumafungin di Formula (I) (o sali farmaceuticamente accettabili o relativi idrati) che sono inibitori della sintesi di (1,3)- β -D-glucano, che possono essere usati per trattare e/o prevenire infezioni fungine sistemiche. Le composizioni della presente invenzione hanno buone caratteristiche di tollerabilità locale e sono appropriate per la somministrazione mediante iniezione.

STATO DELL'ARTE DELL'INVENZIONE

Le infezioni fungine sono un problema sanitario principale e si manifesta più comunemente come malattia fungina invasiva (ad esempio, candidemia, aspergillosi invasiva), infezioni fungine localizzate (ad esempio, empiema pleurico e ascesso localizzato nell'addome, nel cervello, nel polmone, ecc.) e infezioni mucocutanee (ad esempio, candidosi orale, esofagea e vulvovaginale). Il tipo e la portata dell'infezione dipendono dai fattori di virulenza del patogeno fungino,

dalle difese dell'ospite e dalle aree anatomiche coinvolte.

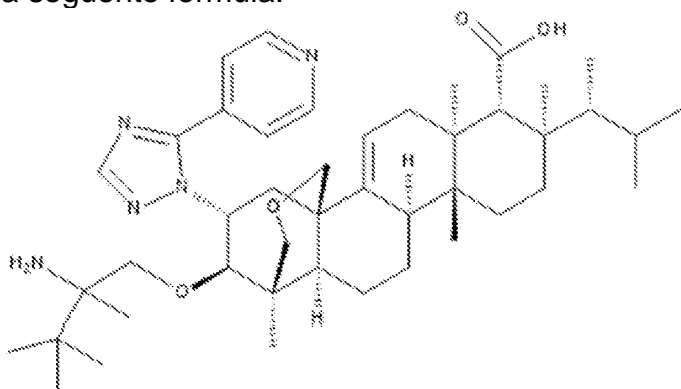
Infezioni fungine sistemiche gravi sono più comuni in pazienti immuno-compromessi come i pazienti che ricevono chemioterapia per trattare tumori maligni, o che ricevono agenti immunomodulatori per trattare condizioni infiammatorie croniche, o che sono affetti da immunodeficienze, acquisite o dovute a disturbi genetici. Nonostante le terapie antifungine attualmente disponibili, le infezioni fungine sistemiche sono associate a un tasso di mortalità fino al 50%, a seconda del patogeno e della condizione preesistente del paziente.

Enfumafungin è un glicoside triterpenico emiacetale che viene prodotto in fermentazioni di *Hormonema spp.* associato a foglie vive di *Juniperus communis* (brevetto US n. 5,756,472; Pelaez et al., *Systematic and Applied Microbiology*, 23:333-343, 2000; Schwartz et al., *JACS*, 122:4882-4886, 2000; Schwartz, R.E., *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 11(11): 1761-1772, 2001). Enfumafungin è uno dei vari glicosidi triterpenici che hanno attività antifungine *in vitro*. È stato determinato che la modalità dell'azione antifungina di enfumafungin e altri glicosidi triterpenoidi antifungini consiste nell'inibizione della sintesi di glucano della parete della cellula fungina mediante la loro azione specifica sulla (1,3)- β -D-glucano sintasi (Onishi et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44:368-377, 2000; Pelaez et al., *Systematic and Applied Microbiology*, 23:333-343, 2000). La 1,3- β -D-glucano sintasi rimane un bersaglio interessante per l'azione di farmaci antifungini poiché è presente in molti funghi patogenici e quindi offre un ampio spettro antifungino. Inoltre, perché non esiste una controparte nei mammiferi di

(1,3)- β -D-glucano sintasi, i derivati di enfumafungin descritti qui hanno poca o nessuna tossicità basata su questo meccanismo. I derivati di composti triterpenoidi di enfumafungin usati secondo questa invenzione hanno dimostrato attività contro isolati fungini di *Candida* spp., inclusi quegli isolati che sono resistenti agli azoli o altri inibitori di glucano sintasi (ad esempio, agenti lipopeptidici come echinocandine), a indicare che il bersaglio biologico e molecolare dei derivati di enfumafungin è diverso da quello di altri inibitori di glucano sintasi.

Vari derivati di enfumafungin sono stati divulgati, ad esempio, nelle pubblicazioni di brevetti internazionali n. WO 2007/126900 e WO 2007/127012.

SCY-078 è un composto rappresentativo dei derivati di enfumafungin descritti qui e ha attività contro numerose specie di *Candida* e *Aspergillus*, inclusi i ceppi resistenti ai farmaci. SCY-078 è un derivato triterpenoide acido carbossilico e alchilammino etere sostituito avente la seguente formula:



Senza voler essere vincolati dalla teoria: Grazie alle funzionalità ammino e acido carbossilico, SCY-078 è una molecola anfifilica e presenta comportamento tensioattivo includente formazione di micelle,

legame a superfici e proteine plasmatiche. Wring et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61: e02068-16, 2017, divulga proprietà farmacocinetiche di SCY-078 dopo somministrazione i.v. e orale.

La somministrazione endovenosa di SCY-078 è stata associata a reazioni locali nel sito di iniezione (qui di seguito indicate come "ISR"), che includono dolore, irritazione, infiammazione e flebite che ne ha impedito la somministrazione attraverso le vene periferiche. Sebbene il meccanismo sottostante delle ISR osservate non sia chiaramente compreso, e senza voler essere vincolati dalla teoria: Le ISR osservate possono essere attribuite a interazione diretta localizzata di SCY-078 con l'endotelio vascolare in corrispondenza del sito di iniezione quando SCY-078 viene introdotto nel flusso sanguigno per via endovenosa.

Vi è la necessità nell'arte di essere in grado di somministrare SCY-078 e altri antifungini derivati di enfumafungin per via endovenosa attraverso una vena periferica con poche ISR e/o poco pronunciate, e migliorare la flessibilità e la comodità per caregiver e pazienti.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione fornisce composizioni iniettabili come definito nella rivendicazione 1. Le composizioni comprendono vescicole a doppio strato singolo o liposomi che incapsulano un composto triterpenoide derivato da enfumafungin e idratate in una fase acquosa, adatte per somministrazione endovenosa attraverso una vena periferica. Le vescicole possono essere fatte di fosfolipidi e colesterolo. Il pH della fase acquosa è preferibilmente da circa 5,0 a circa 7,0. Una soluzione di monosaccaride e una soluzione di disaccaride sono esempi della fase

acquosa.

Le composizioni iniettabili preferibilmente comprendono SCY-078 o un relativo sale come derivato di enfumafungin.

Le composizioni iniettabili possono essere somministrate per via endovenosa per trattare e/o per prevenire infezioni fungine, come infezioni fungine sistemiche, incluse quelle causate da specie di *Candida* o specie di *Aspergillus*. Con le composizioni iniettabili della presente invenzione, reazioni locali nel sito di iniezione (che includono dolore, irritazione, infiammazione e flebite) dopo somministrazione endovenosa possono essere ridotte di numero e/o grado rispetto a tali reazioni dopo somministrazione endovenosa di una composizione non liposomiale contenente lo stesso principio attivo.

La presente invenzione fornisce anche la composizione iniettabile dell'invenzione per uso in un metodo di trattamento o prevenzione di infezioni fungine in pazienti mediante somministrazione endovenosa della composizione iniettabile.

La presente invenzione fornisce inoltre metodi di produzione di composizioni secondo l'invenzione.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

I fosfolipidi sono molecole anfifiliche aventi una testa ionizzabile idrofila o "testa polare" e una coda idrofoba comprendente acidi grassi a catena lunga. Quando idratate, molecole fosfolipidiche multiple (facoltativamente con altre molecole come colesterolo) possono formare liposomi, che sono vescicole concentriche, a doppio strato, chiuse che intrappolano acqua o altro mezzo acquoso. Le code di acidi grassi delle

molecole fosfolipidiche formano parte dell'interno della membrana a doppio strato del liposoma. Le teste polari su una superficie della membrana si orientano verso l'interno acquoso del liposoma e le teste polari sull'altra superficie della membrana si orientano verso l'ambiente esterno acquoso.

A seconda delle loro caratteristiche fisicochimiche, i medicinali possono essere incorporati in un liposoma nell'interno acquoso o nel doppio strato lipidico, con molecole idrofobe che sono associate principalmente nel doppio strato lipidico e/o molecole idrofile che sono incorporate (ad esempio, dissolte o disperse) nel mezzo acquoso all'interno del liposoma.

I liposomi possono essere unilamellari, cioè, avere un doppio strato di fosfolipidi che racchiude un centro acquoso, o multilamellari, cioè, comprendenti molte vescicole a doppio strato concentriche riempite di acqua. Le vescicole multilamellari ("MLV") possono avere una distribuzione dimensionale ampia ed eterogenea e generalmente non sono soggette a un processo di produzione riproducibile. Le MLV non sono desiderabili per la somministrazione endovenosa a causa della loro dimensione particellare grande. Inoltre, le MLV sono difficili da sterilizzare mediante filtrazione. I liposomi unilamellari che sono relativamente piccoli sono desiderabili per composizioni iniettabili che devono essere somministrate per via endovenosa.

Sebbene i liposomi siano stati usati per erogare medicinali per bersagliare tessuti e ridurre la tossicità sistemica, la loro utilità nella riduzione delle ISR che si verificano localmente in corrispondenza di un

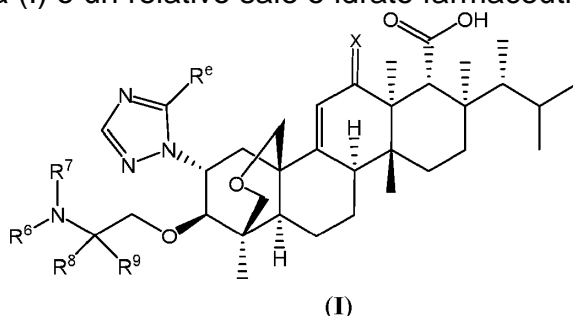
sito di iniezione o di infusione non è stata compresa chiaramente. Inoltre, prima della presente invenzione, non era noto se l'incorporazione di triterpenoidi derivati da enfumafungin nei liposomi fosse possibile. Inoltre, come per SCY -078, in particolare: Questo farmaco presenta un grado elevato di legame proteico, e non era noto se il rilascio o la fuoriuscita di farmaco incapsulato si verificherebbe dopo somministrazione endovenosa di SCY-078 nel flusso sanguigno; una composizione liposomiale efficace dovrebbe avere liposomi che rimangono intatti nel flusso sanguigno per un tempo sufficiente a minimizzare il rilascio o la fuoriuscita di farmaco incapsulato in corrispondenza del sito di infusione. Con la presente invenzione, una composizione di vescicole di fosfolipide-colesterolo che incapsulano un antifungino triterpenoide derivato da enfumafungin come SCY-078 o un relativo sale farmaceuticamente accettabile può essere somministrata per via endovenosa e le vescicole possono rimanere intatte nel flusso sanguigno fino ad assorbimento da parte dei macrofagi negli organi del sistema reticoloendoteliale (RES) come il fegato, la milza, ecc. Ancora ulteriormente, sebbene la manifestazione di ISR possa avvenire a concentrazioni molto basse di SCY-078 libero (non incapsulato), con la presente invenzione la gravità e la frequenza di ISR dopo somministrazione endovenosa di SCY-078 può essere mitigata riducendo al minimo la disponibilità di farmaco libero localmente in corrispondenza del sito di iniezione. La presente invenzione prevede l'incapsulamento di SCY-078 (o un relativo sale farmaceuticamente accettabile) o altro antifungino triterpenoide derivato da enfumafungin in un sistema a base di fosfolipidi ("PL") come i liposomi,

come definito nella rivendicazione 1, come approccio per ridurre le ISR risultanti dalla somministrazione endovenosa fornendo al contempo i vantaggi dell'antifungino. Con la presente invenzione, SCY-078 può essere incapsulato nei liposomi con efficienza elevata per ridurre al minimo il farmaco libero (non incapsulato) e per rendere la composizione liposomiale adatta alla produzione commerciale. In aggiunta, le caratteristiche fisicochimiche dei liposomi come descritto qui sono stabili, e ciò favorisce la conservazione della composizione.

La presente invenzione fornisce una composizione iniettabile comprendente:

una fase acquosa; e

una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna un composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile:



in cui:

X è O o H, H;

R^e è C(O)NR^fR^g o un gruppo eteroarile ad anello a 6 membri contenente 1 o 2 atomi di azoto in cui il gruppo eteroarile è facoltativamente mono-sostituito su un carbonio di anello con fluoro o cloro su un azoto di anello con ossigeno;

R^f, R^g, R⁶ e R⁷ sono, ciascuno indipendentemente, idrogeno o C₁-C₃ alchile;

R⁸ è C₁-C₄ alchile, C₃-C₄ cicloalchile o C₄-C₅ cicloalchil-alchile;

R⁹ è metile o etile; e

R⁸ e R⁹ sono facoltativamente presi insieme per formare un anello saturo a 6 membri contenente 1 atomo di ossigeno,

in cui l'una o più vescicole unilamellari sono idratate nella fase acquosa.

Il pH della fase acquosa è preferibilmente da circa 5,0 a circa 7,0. Una soluzione di monosaccaride e una soluzione di disaccaride sono esempi della fase acquosa. La composizione iniettabile può essere somministrata per via endovenosa per trattare e/o prevenire infezioni fungine, come infezioni fungine sistemiche, incluse quelle causate da specie di *Candida* o specie di *Aspergillus*.

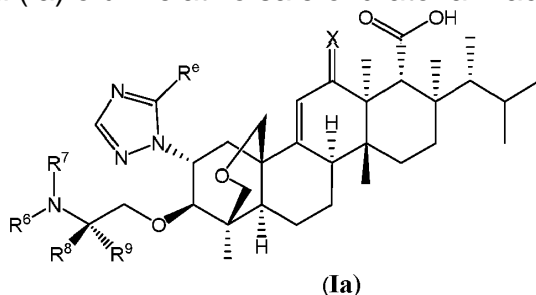
L'invenzione fornisce anche la composizione dell'invenzione per uso in metodi di trattamento e/o prevenzione di un'infezione fungina mediante somministrazione endovenosa della composizione iniettabile comprendente una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna il composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile. Inoltre, l'invenzione fornisce l'uso delle vescicole che incapsulano il composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile nella preparazione di un medicinale iniettabile per trattare o prevenire un'infezione fungina.

La presente invenzione fornisce anche una composizione

iniettabile comprendente:

una fase acquosa; e

una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna un composto di Formula (Ia) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile:



in cui i sostituenti sono come previsti in Formula (I),

in cui l'una o più vescicole unilamellari sono idratate nella fase acquosa.

Il pH della fase acquosa è preferibilmente da circa 5,0 a circa 7,0. Una soluzione di monosaccaride e una soluzione di disaccaride sono esempi della fase acquosa. La composizione iniettabile può essere somministrata per via endovenosa per trattare e/o prevenire infezioni fungine, come infezioni fungine sistemiche, incluse quelle causate da specie di *Candida* o specie di *Aspergillus*.

L'invenzione fornisce anche la composizione dell'invenzione per uso in metodi di trattamento e/o prevenzione di un'infezione fungina mediante somministrazione endovenosa della composizione iniettabile comprendente una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna il composto di Formula (Ia) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile. Inoltre, l'invenzione fornisce l'uso delle vescicole che

incapsulano il composto di Formula (Ia) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile nella preparazione di un medicinale iniettabile per trattare o prevenire un'infezione fungina.

Nella forma di realizzazione 1: X è H, H, e gli altri sostituenti sono come forniti in Formula (I).

Nella forma di realizzazione 2: R^e è piridile o pirimidinile facoltativamente mono-sostituito su un carbonio di anello con fluoro o cloro su un azoto di anello con ossigeno, e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1 o in Formula (I).

Nella forma di realizzazione 3: R^e è 4-piridile e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1 o in Formula (I).

Nella forma di realizzazione 4: R^e è C(O)NH₂ o C(O)NH(C₁-C₃ alchile) e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1 o in Formula (I).

Nella forma di realizzazione 5: R⁸ è C₁-C₄ alchile e R⁹ è metile; e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1, 2, 3 o 4, o in Formula (I).

Nella forma di realizzazione 6: R⁸ è t-butile, R⁹ è metile; e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1, 2, 3 o 4, o in Formula (I).

Nella forma di realizzazione 7: R⁶ e R⁷ sono, ciascuno indipendentemente, idrogeno o metile e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1, 2, 3, 4, 5 o 6, o in Formula (I).

Nella forma di realizzazione 1': X è H, H, e gli altri sostituenti sono come previsti in Formula (Ia).

Nella forma di realizzazione 2': R^e è piridile o pirimidinile facoltativamente mono-sostituito su un carbonio di anello con fluoro o cloro su un azoto di anello con ossigeno, e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1' o in Formula (Ia).

Nella forma di realizzazione 3': R^e è 4-piridile e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1' o in Formula (Ia).

Nella forma di realizzazione 4': R^e è C(O)NH₂ o C(O)NH(C₁-C₃ alchil) e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1' o in Formula (Ia).

Nella forma di realizzazione 5': R⁸ è C₁-C₄ alchile e R⁹ è metile; e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1', 2', 3' o 4', o in Formula (Ia).

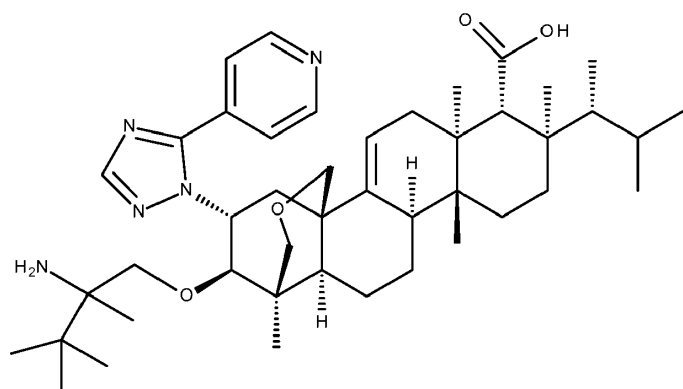
Nella forma di realizzazione 6': R⁸ è t-butile, R⁹ è metile; e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1', 2', 3' o 4', o in Formula (Ia).

Nella forma di realizzazione 7': R⁶ e R⁷ sono, ciascuno indipendentemente, idrogeno o metile e gli altri sostituenti sono come forniti nella forma di realizzazione 1', 2', 3', 4', 5' o 6', o in Formula (Ia).

In forme di realizzazione preferite, la presente invenzione fornisce una composizione iniettabile comprendente:

una fase acquosa; e

una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna un composto di Formula (II) (qui indicato come SCY-078) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile:



(II)

che è acido (1*S*,4*aR*,6*aS*,7*R*,8*R*,10*aR*,10*bR*,12*aR*,14*R*,15*R*)-15-[[2-ammino-2,3,3-trimetilbutil]ossi]-8-[(1*R*)-1,2-dimetilpropil]-14-[5-(4-piridinil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il]-1,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*,10*b*,11,12,12*a*-dodecaidro-1,6*a*,8,10*a*-tetrametil-4*H*-1,4*a*-propano-2*H*-fenantro[1,2-*c*]piran-7-carbossilico,

in cui l'una o più vescicole unilamellari sono idratate nella fase acquosa.

Il pH della fase acquosa è preferibilmente da circa 5,0 a circa 7,0. Una soluzione di monosaccaride e una soluzione di disaccaride sono esempi della fase acquosa. La composizione iniettabile può essere somministrata per via endovenosa per trattare e/o prevenire infezioni fungine, come infezioni fungine sistemiche, incluse quelle causate da specie di *Candida* o specie di *Aspergillus*.

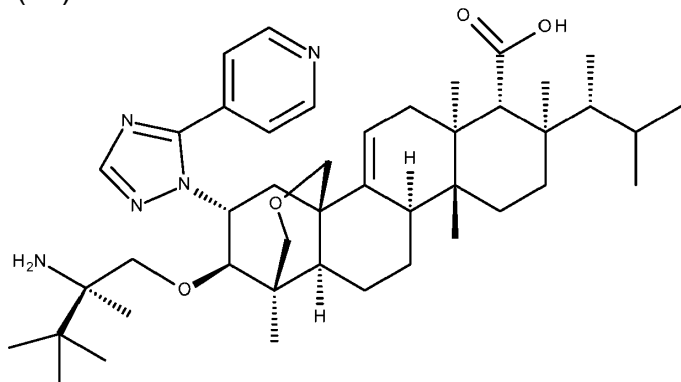
L'invenzione fornisce anche la composizione dell'invenzione per uso in metodi di trattamento e/o prevenzione di un'infezione fungina mediante somministrazione endovenosa della composizione iniettabile comprendente una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna il

composto di Formula (II) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile. Inoltre, l'invenzione fornisce l'uso delle vescicole che incapsulano il composto di Formula (II) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile nella preparazione di un medicinale iniettabile per trattare o prevenire un'infezione fungina.

In altre forme di realizzazione preferite, la presente invenzione fornisce una composizione iniettabile comprendente:

una fase acquosa; e

una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna un composto di Formula (IIa) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile:



(IIa)

che è acido (1*S*,4*aR*,6*aS*,7*R*,8*R*,10*aR*,10*bR*,12*aR*,14*R*,15*R*)-15-[[*(2R)*-2-ammino-2,3,3-trimetilbutil]ossi]-8-[[*(1R)*-1,2-dimetilpropil]-14-[5-(4-piridinil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il]-1,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*,10*b*,11,12,12*a*-dodecaidro-1,6*a*,8,10*a*-tetrametil-4*H*-1,4*a*-propano-2*H*-fenantro[1,2-*c*]piran-7-carbossilico,

in cui l'una o più vescicole unilamellari sono idratate nella fase acquosa.

Il pH della fase acquosa è preferibilmente da circa 5,0 a circa 7,0. Una soluzione di monosaccaride e una soluzione di disaccaride sono esempi della fase acquosa. La composizione iniettabile può essere somministrata per via endovenosa per trattare e/o prevenire infezioni fungine, come infezioni fungine sistemiche, incluse quelle causate da specie di *Candida* o specie di *Aspergillus*.

L'invenzione fornisce anche la composizione dell'invenzione per uso in metodi di trattamento e/o prevenzione di un'infezione fungina mediante somministrazione endovenosa della composizione iniettabile comprendente una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna il composto di Formula (IIa) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile. Inoltre, l'invenzione fornisce l'uso delle vescicole che incapsulano il composto di Formula (IIa) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile nella preparazione di un medicinale iniettabile per trattare o prevenire un'infezione fungina.

In forme di realizzazione preferite, il sale fosfato di un composto di Formula (I), (Ia), (II) o (IIa) viene usato o somministrato come descritto qui.

In forme di realizzazione preferite, il sale citrato di un composto di Formula (I), (Ia), (II) o (IIa) viene usato o somministrato come descritto qui.

La presente invenzione fornisce anche una composizione iniettabile come definito nella rivendicazione 1 comprendente: una o più vescicole unilamellari che incapsulano un composto di Formula (I), (Ia),

(II) o (IIa), o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile; e un trasportatore, adiuvante o veicolo farmaceuticamente accettabile per uso nel trattamento o nella prevenzione di un'infezione fungina.

Nella descrizione dei composti nelle forme di realizzazione esposte sopra, le sostituzioni indicate sono incluse solo nella misura in cui i sostituenti forniscono composti stabili coerentemente con la definizione.

I composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) e sali farmaceuticamente accettabili e/o relative forme idrate, hanno attività antimicrobica (ad esempio, antifungine) contro lieviti e altri funghi, inclusi uno o più tra *Acremonium*, *Absidia* (ad esempio, *Absidia corymbifera*), *Alternaria*, *Aspergillus* (ad esempio, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, e *Aspergillus versicolor*), *Bipolaris*, *Blastomyces* (ad esempio, *Blastomyces dermatitidis*), *Blastoschizomyces* (ad esempio, *Blastoschizomyces capitatus*), *Candida* (ad esempio, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida parapsilosis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida stellatoidea*, *Candida tropicalis*, *Candida utilis*, *Candida lipolytica*, *Candida famata* e *Candida rugosa*), *Cladosporium* (ad esempio, *Cladosporium carrionii* e *Cladosporium trichloides*), *Coccidioides* (ad esempio, *Coccidioides immitis*), *Cryptococcus* (ad esempio, *Cryptococcus neoformans*), *Curvularia*, *Cunninghamella* (ad esempio, *Cunninghamella elegans*), *Dermatophyte*, *Exophiala* (ad esempio, *Exophiala dermatitidis* e *Exophiala spinifera*), *Epidermophyton* (ad

esempio, *Epidermophyton floccosum*), *Fonsecaea* (ad esempio, *Fonsecaea pedrosoi*), *Fusarium* (ad esempio, *Fusarium solani*), *Geotrichum* (ad esempio, *Geotrichum candidum* e *Geotrichum clavatum*), *Histoplasma* (ad esempio, *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*), *Malassezia* (ad esempio, *Malassezia furfur*), *Microsporum* (ad esempio, *Microsporum canis* e *Microsporum gypseum*), *Mucor*, *Paracoccidioides* (ad esempio, *Paracoccidioides brasiliensis*), *Penicillium* (ad esempio, *Penicillium marneffeii*), *Phialophora*, *Pityrosporum ovale*, *Pneumocystis* (ad esempio, *Pneumocystis carinii*), *Pseudallescheria* (ad esempio, *Pseudallescheria boydii*), *Rhizopus* (ad esempio, *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* e *Rhizopus oryzae*), *Saccharomyces* (ad esempio, *Saccharomyces cerevisiae*), *Scedosporium* (ad esempio, *Scedosporium apiospermum*), *Scopulariopsis*, *Sporothrix* (ad esempio, *Sporothrix schenckii*), *Trichoderma*, *Trichophyton* (ad esempio, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*), e *Trichosporon* (ad esempio, *Trichosporon asahii*, *Trichosporon beigelii* e *Trichosporon cutaneum*). I composti non sono solo utili contro gli organismi che causano infezioni fungine patogene sistemiche nell'uomo, ma sono anche utili contro gli organismi che causano infezioni fungine superficiali come *Trichoderma* spp. e altre *Candida* spp. I composti sono particolarmente efficaci contro le specie di *Candida* e le specie di *Aspergillus*.

Vista la loro attività antifungina, i composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) e sali farmaceuticamente accettabili e/o relative forme idrate, sono utili per il trattamento e/o la prevenzione di uno o più di una varietà di infezioni fungine superficiali, cutanee, mucocutanee, sottocutanee e

sistemiche incluse nella vulva, vagina, pelle, occhi, capelli, unghie, mucosa orale, tratto gastrointestinale, bronchi, polmoni, pleura, peritoneo, endocardio, cervello, meningi, organo urinario, porzione vaginale, cavità orale, rene, cuore, canale uditivo esterno, ossa, cavità nasale, cavità paranasale, milza, fegato, tessuto ipodermico, dotto linfatico, articolazione, muscolo, tendine, cellula del plasma interstiziale in polmone, sangue, e così via.

I composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) e sali farmaceuticamente accettabili e/o relative forme idrate, sono utili per prevenire e trattare uno o più tra varie malattie infettive, come candidosi vulvovaginale (VVC), dermatofitosi (ad esempio, tricofitosi, infezioni da tigna o tinea), paronichia, pitiriasi versicolor, eritrasma, intertrigine, dermatite fungina da pannolino, vulvite da candida, balanite da candida, otite esterna, candidosi (cutanea e mucocutanea), mucocandidosi cronica (ad esempio, afta e candidosi vaginale), criptococcosi, geotricosi, tricosporosi, aspergilloso, penicilliosi, fusariosi, zigomicosi, sporotricosi, cromomicosi, coccidioidomicosi, istoplasmosi, blastomicosi, paracoccidioidomicosi, pseudallescheriosi, micetoma, cheratite fungina, otomicosi, pneumocistosi, ascesso fungino, empiema pleurico fungino e fungemia. I composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) e sali farmaceuticamente accettabili e/o relative forme idrate, possono anche essere usati come agenti profilattici per prevenire infezioni fungine sistemiche e topiche. L'uso come agenti profilattici può, per esempio, essere appropriato come parte di un regime di decontaminazione intestinale selettiva nella prevenzione di infezione in pazienti immuno-compromessi (ad esempio,

pazienti con AIDS, pazienti che ricevono terapia antitumorale o pazienti trapiantati). La prevenzione di crescita fungina in eccesso durante trattamento antibiotico può anche essere desiderabile in alcune sindromi o stati iatrogeni.

I composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) e sali farmaceuticamente accettabili e/o relative forme idrate, possono essere prodotti secondo i metodi di sintesi divulgati nel brevetto US n. 8,188,085.

Come usato qui, il termine "alchile" si riferisce a qualsiasi gruppo alchile a catena lineare o ramificata avente un numero di atomi di carbonio nell'intervallo specificato. Perciò, per esempio, "C₁₋₆ alchile" (o "C₁-C₆ alchile") si riferisce a tutti gli isomeri esil alchile e pentil alchile nonché n-, iso-, sec- e t-butile, n- e isopropile, etile e metile. Un altro esempio, "C₁₋₄ alchile" si riferisce a n-, iso-, sec- e t-butile, n- e isopropile, etile e metile.

Il termine "cicloalchile" si riferisce a qualsiasi anello ciclico di un alcano avente un numero di atomi di carbonio nell'intervallo specificato. Perciò, per esempio, "C₃₋₄ cicloalchile" (o "C₃-C₄ cicloalchile") si riferisce a ciclopropile e ciclobutile.

Il termine "cicloalchil-alchile" (o in modo equivalente "alchil-cicloalchile") come usato qui si riferisce a un sistema che include una porzione alchile come descritto sopra e include anche una porzione cicloalchile come descritto sopra. L'attacco a un "cicloalchil-alchile" (o "alchil-cicloalchile") può avvenire attraverso il cicloalchile o la porzione alchile. Il numero specificato di atomi di carbonio nei sistemi "cicloalchil-alchile" si riferisce al numero totale di atomi di carbonio nelle parti sia

alchile che cicloalchile. Esempi di C₄-C₅ cicloalchil-alchile includono ma non sono limitati a metilciclopropile, dimetilciclopropile, metilciclobutile, etilciclopropile, ciclopropilmetile, ciclopropiletile e ciclobutilmetile.

Il termine "alogeno" (o "alo") si riferisce a fluoro, cloro, bromo e iodio (cui è fatto in alternativa riferimento come a fluoro, cloro, bromo e iodio).

Il termine "o" come usato qui indica alternative che possono, eventualmente, essere combinate.

Se non espressamente affermato il contrario, tutti gli intervalli qui riportati sono inclusivi. Ad esempio, un anello eterociclico descritto come contenente "da 1 a 4 eteroatomi" significa che l'anello può contenere 1, 2, 3 o 4 eteroatomi. Resta anche inteso che qualsiasi intervallo qui riportato include nella sua portata tutti i sottointervalli entro quell'intervallo. Perciò, per esempio, un anello eterociclico descritto come contenente "da 1 a 4 eteroatomi" è destinato a includere come relativi aspetti, anelli eterociclici contenenti da 2 a 4 eteroatomi, 3 o 4 eteroatomi, da 1 a 3 eteroatomi, 2 o 3 eteroatomi, 1 o 2 eteroatomi, 1 eteroatomo, 2 eteroatomi, e così via.

Qualsiasi dei vari cicloalchile e anelli eterociclici/eteroarilici e sistemi ad anello definiti qui possono essere attaccati al resto del composto in corrispondenza di qualsiasi atomo di anello (cioè, qualsiasi atomo di carbonio o qualsiasi eteroatomo) a condizione che risulti un composto stabile. Anelli eteroaromatici a 5 o 6 membri adatti includono, ma non sono limitati a, piridile, pirazinile, pirimidinile, piridazinile e triazolile.

Un composto "stabile" è un composto che può essere preparato e isolato e la cui struttura e le cui proprietà rimangono o possono essere indotte a rimanere essenzialmente invariate per un periodo di tempo sufficiente a consentire un uso del composto per gli scopi qui descritti (ad esempio, somministrazione terapeutica o profilattica a un soggetto). Il riferimento a un composto include anche complessi stabili del composto come un idrato stabile.

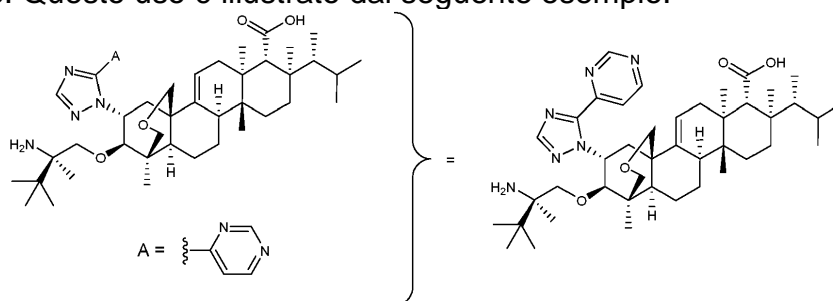
Come risultato della selezione di sostituenti e schema di sostituenti, alcuni dei composti di Formula (I), (Ia), (II), e (IIa) possono avere centri asimmetrici e possono presentarsi come miscele di stereoisomeri, o come singoli diastereomeri o enantiomeri. Salvo altrimenti indicato, tutte le forme isomeriche di questi composti (e sali farmaceuticamente accettabili e/o relative forme idrate), siano isolati o in miscele, rientrano nella portata della presente invenzione. Rientrano nella portata della presente invenzione anche le forme tautomeriche dei composti come illustrato (e sali farmaceuticamente accettabili e/o relative forme idrate).

Quando qualsiasi variabile si verifica più di una volta in qualsiasi costituente o in Formula (I), (Ia), (II) o (IIa), la sua definizione in ciascuna occorrenza è indipendente dalla sua definizione in ogni altra occorrenza. Inoltre, combinazioni di sostituenti e/o variabili sono ammesse solamente se tali combinazioni risultano in composti stabili.

Il termine "sostituito" include mono- e poli-sostituzione da parte di un sostituente nominato nella misura in cui tale sostituzione singola e multipla (inclusa una sostituzione multipla nello stesso sito) è

chimicamente consentita. Se non espressamente affermato il contrario, una sostituzione da parte di un sostituito nominato è permessa su qualsiasi atomo in un anello (ad esempio, un arile, un cicloalchile, un eteroarile, o un eterociclile) a condizione che tale sostituzione di anello sia chimicamente consentita e risulti in un composto.

Un legame terminato da una linea ondulata è usato qui per indicare il punto di attacco di un gruppo sostituito o di una struttura parziale. Questo uso è illustrato dal seguente esempio:



I composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) e sali farmaceuticamente accettabili e/o relative forme idrate, sono utili anche nella preparazione e nell'esecuzione di saggi di screening per composti antifungini. Per esempio, i composti sono utili per isolare mutanti, che sono strumenti di screening eccellenti per identificare ulteriori composti antifungini.

I composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) possono essere somministrati in forma di "sali farmaceuticamente accettabili" o idrati come appropriato. Altri sali possono, tuttavia, essere utili nella preparazione dei composti o dei loro sali farmaceuticamente accettabili. Per esempio, quando i composti contengono un gruppo ammina basico, essi possono essere opportunamente isolati come sali di acido trifluoroacetico (ad esempio, in seguito a purificazione con HPLC). La

conversione dei sali di acido trifluoroacetico in altri sali, inclusi sali farmaceuticamente accettabili, può essere effettuata mediante una serie di metodi standard noti nell'arte. Per esempio, può essere impiegata una resina a scambio ionico appropriata per generare il sale desiderato. In alternativa, la conversione di un sale di acido trifluoroacetico nell'ammina libera originaria può essere effettuata mediante metodi standard noti nell'arte (ad esempio, neutralizzazione con una base inorganica appropriata come NaHCO_3). Altri sali amminici desiderati possono quindi essere preparati in modo convenzionale facendo reagire la base libera con un acido organico o inorganico adatto. Sali di ammonio quaternario farmaceuticamente accettabili rappresentativi includono i seguenti: cloridrato, solfato, fosfato, carbonato, acetato, tartrato, citrato, malato, succinato, lattato, stearato, fumarato, ippurato, maleato, gluconato, ascorbato, adipato, gluceptato, glutammato, glucoronato, propionato, benzoato, mesilato, tosilato, oleato, lattobionato, laurilsolfato, besilato, caprilato, isetionato, gentisato, malonato, napsilato, edisilato, pamoato, xinafoato, napadisilato, bromidrato, nitrato, ossalato, cinnamato, mandelato, undecilenato, e camsilato. Molti dei composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) portano una porzione funzionale acida di acido carbossilico, nel qual caso relativi sali farmaceuticamente accettabili adatti possono includere sali di metalli alcalini, ad esempio, sali di sodio o di potassio; sali di metalli alcalino-terrosi, ad esempio, sali di calcio o di magnesio; e sali formati con ligandi organici adatti, ad esempio, sali di ammonio quaternario.

Viene anche descritto, ma non facente parte dell'invenzione

rivendicata, l'uso di profarmaci di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa). In generale, tali profarmaci saranno derivati funzionali dei composti, che sono facilmente convertibili in vivo nel composto richiesto. Perciò, nei metodi di trattamento della presente divulgazione, il termine "somministrazione" comprenderà il trattamento delle varie condizioni descritte con il composto specificamente divulgato o con un composto che converte nel composto specificato in vivo dopo somministrazione al paziente. Procedure convenzionali per la selezione e la preparazione di derivati di profarmaci adatti sono descritte, per esempio, in "Design of Prodrugs," ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985, che è incorporato per riferimento qui nella sua interezza. I metaboliti dei composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) includono specie attive prodotte dopo l'introduzione dei composti nell'ambiente biologico.

Il termine "somministrazione" e relative varianti (ad esempio, "somministrazione" di un composto) significa fornire un composto al soggetto che necessita di trattamento. Quando un composto di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) o relativo sale farmaceuticamente accettabile o un relativo idrato viene fornito in combinazione con un secondo agente attivo (ad esempio, altri agenti antifungini e/o antibatterici utili per il trattamento di infezioni fungine e/o batteriche), "somministrazione" e sue varianti intendono includere la fornitura concomitante e sequenziale del composto (o del sale, o relativo idrato) e dell'altro agente attivo.

Come usato qui, il termine "composizione" è destinato a comprendere un prodotto comprendente gli ingredienti specificati, nonché qualsiasi prodotto che risulta, direttamente o indirettamente, dalla

combinazione degli ingredienti specificati.

Per "farmaceuticamente accettabile" si intende che gli ingredienti della composizione farmaceutica debbano essere compatibili fra loro e non deleteri per il ricevente della stessa.

Il termine "soggetto" (in alternativa indicato qui come "paziente") secondo l'uso fattone qui si riferisce a un animale, preferibilmente un mammifero, in modo massimamente preferibile un essere umano che è stato oggetto di trattamento, osservazione, o esperimento.

L'espressione "quantità efficace" come usata qui indica una quantità di principio attivo o agente farmaceutico che provoca la risposta biologica o medica in un tessuto, sistema, animale o essere umano che è perseguita da un ricercatore, veterinario, medico o altra figura clinica. In una forma di realizzazione, la "quantità efficace" può essere una quantità terapeuticamente efficace che allevia i sintomi della malattia o condizione da trattare. In un'altra forma di realizzazione, la "quantità efficace" può essere una quantità profilatticamente efficace per la profilassi dei sintomi della malattia o condizione da prevenire o per ridurre la probabilità di comparsa. Il termine può anche riferirsi a una quantità efficace di inibizione del derivato di enfumafungin sufficiente a inibire (1,3)- β -D-glucano sintasi e provocare in tal modo la risposta perseguita.

I riferimenti "trattare", "che tratta", "trattamento" e relative varianti, si riferiscono in generale a un trattamento che, dopo che viene somministrato, determina la risoluzione o il miglioramento di uno o più segni o sintomi associati a un'infezione fungina, o che determina l'eradicazione dei funghi responsabili di un'infezione, o qualsiasi

combinazione di questi esiti.

Allo scopo di prevenire o trattare un'infezione fungina, il composto di Formula (I), (Ia), (II) o (IIa) (facoltativamente in forma di un sale o un idrato) può essere somministrato in modi convenzionali disponibili per uso unitamente ai prodotti farmaceutici.

Allo scopo di prevenire o trattare infezioni fungine che si verificano in condizioni o aree anatomiche che hanno pH acido, il composto di Formula (I), (Ia), (II) o (IIa) (facoltativamente in forma di un sale o un idrato) può essere somministrato da solo come agente terapeutico singolo o con uno o più altri agenti antifungini (in sequenza o contemporaneamente) come una combinazione di agenti terapeutici.

Allo scopo di prevenire o trattare un'infezione fungina, il composto di Formula (I), (Ia), (II) o (IIa) (facoltativamente in forma di un sale o un idrato) può essere somministrato con un trasportatore farmaceutico selezionato in base alla via di somministrazione scelta e alla pratica farmaceutica standard.

Ulteriore descrizione dei metodi adatti per uso nella preparazione di composizioni farmaceutiche e di ingredienti adatti per uso in dette composizioni è fornita in Remington's Pharmaceutical Sciences, 20a edizione, a cura di A. R. Gennaro, Mack Publishing Co., 2000.

I composti di Formula (I), (Ia), (II) e (IIa) e sali farmaceuticamente accettabili e/o relative forme idrate, possono essere somministrati, ad esempio, per via endovenosa, in un intervallo di dosaggio di, per esempio, da 0,001 a 1000 mg/kg di peso corporeo di mammifero (ad esempio, essere umano) per giorno in una dose singola o in dosi divise. Un

esempio di un intervallo di dosaggio è da 0,01 a 500 mg/kg di peso corporeo per giorno per via endovenosa in una dose singola o in dosi divise. Un altro esempio di un intervallo di dosaggio è da 0,1 a 50 mg/kg di peso corporeo per giorno per via endovenosa in dosi singole o divise. Il livello di dose specifico e la frequenza di dosaggio per qualsiasi particolare paziente possono essere variati e dipenderanno da una varietà di fattori tra cui l'attività del composto specifico impiegato, la stabilità metabolica e la lunghezza di azione di tale composto, l'età, il peso corporeo, la salute generale, il genere, il regime alimentare, la modalità e il tempo di somministrazione, la velocità di escrezione, la combinazione farmacologica, la gravità della particolare condizione e l'ospite sottoposto alla terapia.

L'attività antifungina dei composti può essere dimostrata mediante vari saggi noti nell'arte, per esempio, mediante la loro concentrazione minima inibitoria (MIC) contro i lieviti e concentrazione minima efficace (MEC) contro muffe filamentose e dermatofiti in un saggio di microdiluzione in brodo, o valutazione in vivo dell'attività anti-*Candida* e anti-*Aspergillus* in modelli murini e di coniglio. È stato trovato che i composti di Formula (I) forniti negli esempi del brevetto US n. 8,188,085 inibiscono la crescita di *Candida* spp. Nell'intervallo di <0,03-32 µg/mL o a dare una MEC contro *Aspergillus fumigatus* nell'intervallo di <0,03-32 µg/mL.

Le vescicole a doppio strato singolo o liposomi che incapsulano composti antifungini triterpenoidi derivati da enfumafungin secondo la presente invenzione preferibilmente hanno una granulometria media

(diametro della vescicola) da circa 150 nm o meno, più preferibilmente da circa 100 nm o meno o circa 70 a circa 80 nm. Le vescicole vengono idratate in una fase acquosa adatta, come acqua contenente un monosaccaride o un disaccaride. Qualsiasi fase acquosa a bassa forza ionica è adatta per l'idratazione delle vescicole. La fase acquosa preferibilmente è isotonica. Il pH della fase acquosa deve essere tra circa 4,0 e circa 8,0, e preferibilmente da circa 5,0 a circa 7,0.

Metodi per produrre vescicole a doppio strato singolo o liposomi includono metodi che forniscono energia e forza di taglio sufficienti (ad esempio, sonicazione, omogeneizzazione ad alta pressione, miscelazione microfluidica, ecc.) per formare vescicole unilamellari. Le vescicole a doppio strato singole descritte qui possono essere ottenute mediante sonicazione, miscelazione microfluidica, e/o omogeneizzazione di sospensioni idratate comprendenti un antifungino derivato da enfumafungin (cioè un composto di Formula (I), (Ia), (II) o (IIa) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile), fosfolipide e colesterolo. In forme di realizzazione preferite, SCY-078 (o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile), fosfolipide ("PL") e colesterolo ("CHOL") vengono sospesi in una fase acquosa avente un pH da circa 5,0 a circa 7,0 in un rapporto molare di SCY-078 : PL : CHOL di 1 : 7 : 2.5, e sottoposti a sonicazione, miscelazione microfluidica, omogeneizzazione, e/o un altro processo che determinerebbe la formazione di vescicole a doppio strato singole comprendenti fosfolipide e colesterolo, che incapsulano SCY-078 (o relativo sale o idrato) all'interno delle vescicole. Il sale citrato di SCY-078 è un farmaco

preferito da incapsulare nelle vescicole a doppio strato singolo descritte qui.

Un singolo tipo di fosfolipide può essere usato per formare vescicole a doppio strato singolo come descritto qui, oppure due o più differenti tipi di fosfolipidi possono essere usati in combinazione per formare le vescicole a doppio strato singolo. Fosfolipidi adatti per uso nella formazione delle vescicole a doppio strato singolo descritti qui includono ma non sono limitati a: fosfatidilcolina ("PC"), acido fosfatidico ("PA"), fosfatidilserina ("PS"), fosfatidiletanolamina ("PE"), e fosfatidilglicerolo ("PG") derivati sinteticamente o presenti in natura.

I fosfolipidi usati nella formazione delle vescicole a doppio strato singolo descritte qui sono preferibilmente PC e PG usati in combinazione.

PC adatte includono ma non sono limitate a: dipalmitoil fosfatidilcolina ("DPPC"), distearoil fosfatidilcolina ("DSPC"), dilauoil fosfatidilcolina ("DLPC"), e dimiristoil fosfatidilcolina ("DMPC") derivati sinteticamente, e PC da fonti naturali come PC di uovo e PC di soia.

PG adatti includono ma non sono limitati a: dipalmitoil fosfatidilglicerolo ("DPPG"), distearoil fosfatidilglicerolo ("DSPG"), dilauoil fosfatidilglicerolo ("DLPG"), e dimiristoil fosfatidilglicerolo ("DMPG") derivati sinteticamente, e PG da fonti naturali come PG di uovo.

Preferibilmente, il contenuto di fosfolipidi delle vescicole che incapsulano derivati di enfumafungin secondo la presente invenzione è da 50 a 80 percento in moli.

Il colesterolo stabilizza il doppio strato lipidico e può impedire la fuoriuscita del farmaco incapsulato, ma quantità eccessive di colesterolo

possono influenzare negativamente l'efficienza di incapsulamento. Preferibilmente, il contenuto di colesterolo delle vescicole che incapsulano derivati di enfumafungin secondo la presente invenzione è da 10 a 30 percento in moli.

Preferibilmente, il contenuto di farmaco delle vescicole che incapsulano derivati di enfumafungin secondo la presente invenzione è da 5 a 12 percento in moli.

Le vescicole a doppio strato singolo che incapsulano un composto antifungino triterpenoide derivato da enfumafungin sono idratate in una fase acquosa. Preferibilmente, la fase acquosa contiene uno o più monosaccaridi (come glucosio, fruttosio e galattosio) e/o uno o più disaccaridi (come saccarosio, trealosio e lattosio), che rendono le composizioni iniettabili (vescicole a doppio strato singolo che incapsulano il farmaco, idratate nella fase acquosa) isotoniche e possono migliorare la stabilità del doppio strato. Quando uno o più monosaccaridi vengono impiegati nella fase acquosa, essi sono preferibilmente presenti in una quantità da circa il 4 al 6% (p/v) rispetto alla composizione iniettabile (vescicole che incapsulano il farmaco, idratate nella fase acquosa). Quando vengono impiegati disaccaridi nella fase acquosa, essi sono preferibilmente presenti in una quantità da circa l'8 al 10% (p/v) rispetto alla composizione iniettabile (vescicole che incapsulano il farmaco, idratate nella fase acquosa).

Preferibilmente, la concentrazione del farmaco incapsulato espressa come mg per mL della composizione iniettabile (vescicole a doppio strato singolo che incapsulano il farmaco, idratate nella fase

acquosa) è 0,01 - 50 mg/mL, e più preferibilmente 0,1 - 5 mg/mL.

Per preparare una dispersione lipidica contenente un agente antifungino derivato da enfumafungin, fosfolipide e colesterolo vengono disciolti in un solvente organico come un C₁-C₅ alcol (preferibilmente metanolo o etanolo), e la soluzione precedente viene aggiunta a una soluzione di antifungino derivato da enfumafungin in un solvente organico come etanolo. In alternativa, l'agente antifungino può essere aggiunto direttamente a una soluzione di fosfolipide e colesterolo. In un recipiente di reazione adatto come un pallone a fondo tondo, il solvente viene fatto evaporare (facoltativamente sotto vuoto) per ottenere una dispersione lipidica contenente l'agente antifungino. Il solvente può essere rimosso mediante altri metodi, come mediante l'uso di un essiccatore per atomizzazione. Vantaggiosamente, la dispersione lipidica contenente l'agente antifungino derivato da enfumafungin è stabile e consente la conservazione e la comodità in quanto la dispersione lipidica può essere idratata in qualsiasi momento desiderato e portata attraverso altri processi per formare liposomi.

La dispersione lipidica contenente l'agente antifungino viene idrata in una soluzione acquosa preferibilmente contenente un monosaccaride o un disaccaride per produrre una sospensione idratata. La sospensione idratata viene miscelata usando un miscelatore ad alto sforzo di taglio (ad esempio, a circa 10000 rpm) e le vescicole multilamellari risultanti sono sottoposte a omogeneizzazione ad alta pressione (ad esempio da circa 10000 a circa 30000 psi, e a una temperatura di processamento nell'intervallo, ad esempio, da circa 25 °C

a circa 70 °C) per formare vescicole a doppio strato singolo (unilamellari). Le vescicole a doppio strato singolo possono essere sterilizzate, come per esempio facendole passare attraverso un filtro da 0,45 µm e 0,22 µm, e/o mediante sterilizzazione a calore umido. La sospensione filtrata di vescicole a doppio strato singolo può essere congelata e disidratata sotto alto vuoto (liofilizzata) per la conservazione a lungo termine. Composizioni iniettabili pronte all'uso si ottengono aggiungendo acqua sterile alla polvere liofilizzata e miscelando.

La quantità di agente antifungino incapsulato in vescicole preparate secondo i metodi descritti qui può essere determinata usando, per esempio, un saggio di cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC). La dimensione delle vescicole può essere determinata usando, per esempio, procedure di diffusione della luce come dispersione della luce dinamica (DLS).

Le vescicole a doppio strato singolo che incapsulano un agente antifungino derivato da enfumafungin sono state somministrate in modelli animali, inclusi ratti e conigli, per valutare la tollerabilità locale (ISR) dopo somministrazione endovenosa. La valutazione clinica e istopatologica dei tessuti del sito di infusione è stata condotta per valutare la tollerabilità locale. È stata anche determinata la stabilità delle vescicole nelle condizioni che simulano infusione delle vescicole nel flusso sanguigno per dimostrare l'utilità delle composizioni iniettabili descritte qui.

ESEMPI

I seguenti esempi servono soltanto a illustrare l'invenzione e per la sua attuazione pratica. Gli esempi non devono essere interpretati

come limitazioni della portata dell'invenzione.

PREPARAZIONE DI LIPOSOMI CHE INCAPSULANO SCY-078

Esempi da A a I

Per gli esempi da A a I: una miscela di fosfolipidi comprendente DSPC e DSPG; colesterolo; e il derivato di enfumafungin SCY-078 in rapporti molari variabili come mostrato in Tabella 1 sono stati disciolti in solvente (etanolo a 70 °C) e sottoposti a miscelazione microfluidica (NanoAssemblr™) con acqua in un rapporto in volume di solvente: acqua 1:3 a 65 °C a una portata di 10 mL/min per formare vescicole a doppio strato singolo o liposomi caricati con (con incapsulato) SCY-078. Il solvente e il farmaco libero (non incapsulato) nella sospensione di liposomi sono stati rimossi mediante filtrazione a flusso tangenziale ("TFF").

Esempi da J a P

Gli esempi J e K sono stati preparati mediante metodo di idratazione a film sottile. Quantità specificate di: miscela di fosfolipidi comprendente DSPC e DSPG; colesterolo; e SCY-078 come mostrato in Tabella 2 sono stati disciolti in etanolo a 70 °C. In un pallone a fondo tondo come recipiente di reazione adatto, il solvente è stato rimosso mediante evaporazione sotto vuoto per ottenere un film di dispersione lipidica contenente l'antifungino.

Per gli esempi da L a P, il solvente è stato rimosso mediante essiccamento per atomizzazione. Quantità specificate di: miscela di fosfolipidi comprendente DSPC e DSPG; colesterolo; e SCY-078 come

mostrato in Tabella 2 sono stati disciolti in etanolo a 70 °C e miscelati per formare una dispersione colloidale uniforme. La dispersione è stata spruzzata come una nebulizzazione fine a 20 mL/min attraverso un ugello di 0,7 mm a una pressione di atomizzazione di circa 70 psi ed essiccata a circa 50 °C. La polvere essiccata per atomizzazione è stata raccolta ed essiccata fino a un peso costante sotto vuoto.

Per gli esempi da J a P, la dispersione lipidica contenente agente antifungino ottenuto mediante evaporazione a film sottile o essiccamento per atomizzazione è stata idratata in soluzione acquosa contenente saccarosio 7,5% (p/v). La sospensione idratata è stata miscelata usando un miscelatore ad alto sforzo di taglio a 10000 rpm per circa 5 minuti e le vescicole multilamellari risultanti sono state sottoposte a omogeneizzazione ad alta pressione (Microfluidics®) a una pressione nell'intervallo da circa 10000 a circa 30000 psi e usando una temperatura di processamento nell'intervallo da circa 25 °C a circa 70 °C per formare vescicole a doppio strato singolo.

I liposomi preparati negli Esempi M, O e P sono stati sottoposti a sterilizzazione tramite filtrazione attraverso un filtro da 0,45 µm e 0,22 µm. I liposomi nell'Esempio M sono stati liofilizzati. I liposomi nell'Esempio N sono stati sterilizzati mediante calore umido a 121 °C per 12 minuti.

CARATTERIZZAZIONE DEI LIPOSOMI CHE INCAPSULANO SCY-078

Formulazioni con vari DSPC : Colesterolo : DSPG : Rapporti molar di SCY-078 come mostrato in Tabella 1 e Tabella 2 sono stati

valutati per quanto riguarda la formazione di vescicole a doppio strato singolo, distribuzione granulometrica, carica superficiale e quantità di SCY-078 incapsulato.

Dopo la formazione delle vescicole o dei liposomi, SCY-078 libero (non incapsulato) è stato rimosso mediante TFF (Esempi da A a I). Laddove TFF non è stata usata nel processo di produzione, eventuale SCY-078 non incapsulato è stato separato da SCY-078 incapsulato mediante dialisi usando una membrana di estere di cellulosa con cut off di peso molecolare (MWCO) di 20.000 Dalton.

SCY-078 incapsulato in liposomi è stato separato da qualsiasi SCY-078 non incapsulato mediante cromatografia di esclusione dimensionale usando una colonna Sephadex[®] G-25. La quantità di SCY-078 incapsulato in liposomi è stata determinata usando un saggio HPLC. SCY-078 è stato separato su una colonna C18 e rilevato mediante spettroscopia ultravioletta (UV) a 210 nm. La granulometria delle vescicole è stata determinata mediante DLS (Zetasizer Nano, Malvern Instruments). La carica superficiale (potenziale zeta) è stata determinata mediante micro-elettroforesi a laser doppler in una cella elettroforetica monouso.

Come mostrato nelle Tabelle 1 e 2, è stato trovato che varie formulazioni con rapporti molari specifici di DSPC : Colesterolo: DSPG : SCY-078 formano vescicole di liposomi a doppio strato singolo o liposomi con efficienze di intrappolamento maggiori del 95%. È stato trovato sorprendentemente che essenzialmente nessun farmaco libero (non incapsulato) può essere rilevato anche se un processo di rimozione di

qualsiasi farmaco non incapsulato non faceva parte del processo di produzione (Esempi da J a O). È stato anche trovato sorprendentemente che le vescicole rimanevano stabili dopo sterilizzazione a calore umido, senza variazione della dimensione delle vescicole e con >95% di SCY-078 trattenuto all'interno delle vescicole (Esempio N).

Tabella 1. Composizioni di liposomi preparate mediante miscelazione microfluidica in NanoAssemblr™

Esempio	Rapporto molare	% in moli			Dimensione particellare media (nm)	Potenziale zeta (carica, mV)	% di SCY-078 incapsulato
		SCY-078	PL	CHOL			
A	1:1:2,5:1,25	17,4	60,9	21,7	4527,3	-26,31	49,3
B	1:0,5:5:2,5	11,1	61,1	27,8	4359	-6,43	58,3
C	1:1,2:3:1,5	14,9	62,7	22,4	175,5	-31,59	82,3
D	1:1:5:2,5	10,5	63,2	26,3	173,3	-37,93	81,7
E	1:1,5:3,75:1,87	12,3	64,7	23	89,6	-39,72	98,0

	Rapporto molare	% in moli					
Esempio	SCY- 078:PG:PC:CH OL	SC Y- 078	PL	CHO L	Dimensio ne particellar e media (nm)	Potenzia le zeta (carica, mV)	% di SCY-078 incapsula to
F	1:1,6:4:2	11,6	65, 1	23,3	104,7	-47,05	95,7
G	1:2:5:2,5	9,5	66, 7	23,8	124,9	-53,34	96,3
H	1:3:5:2,5	8,7	69, 7	21,6	146,0	-59,33	98,3
I	1:2:5:1,25	10,8	75, 7	13,5	122,0	-48,19	97,7

Tabella 2. Composizioni di liposomi preparate mediante omogeneizzazione ad alta pressione in un Microfluidizer

	Rapporto molare	% in moli					
Esempio	SCY- 078:PG:PC:CH OL	SC Y- 078	PL	CHO L	Dimensio ne particellar e media (nm)	Potenzia le zeta (carica, mV)	% di SCY-078 incapsula to
J	1:1,5:3,75:1,87	12,3	64, 7	23	81,6	-32,0	99
K	1:2:5:2,5	9,5	66, 7	23,8	91,2	-47,2	96
L	1:2:5:2,5	9,5	66, 7	23,8	95	-54,0	99
M	1:2:5:2,5	9,5	66, 7	23,8	98	-	99
N	1:2:5:1,25	9,5	66, 7	23,8	100	-55,6	>95
O	1:2:5:1,25	9,5	66, 7	23,8	51,1	-47,3	>99
P	1:2:5:1,25	9,5	66, 7	23,8	78	-74,1	>95

**VALUTAZIONE DELLA STABILITÀ FISICOCHIMICA DI
DISPERSIONE LIPIDICA ESSICCATA PER ATOMIZZAZIONE
CONTENENTE SCY-078**

La stabilità dell'intermedio essiccato per atomizzazione (dispersione lipidica contenente SCY-078) è stata valutata in condizioni di conservazione ambiente (25 °C / RH 60%) e accelerate (40 °C / RH 75%). Come mostrato in Tabella 3, l'intermedio essiccato per atomizzazione era stabile rispetto al saggio di SCY-078 e alla formazione di prodotti di degradazione, senza cambiamenti o tendenze significativi osservati per 3 mesi se conservati in condizioni di conservazione ambiente (25 °C / RH 60%) e accelerate (40 °C / RH 75%). Questi risultati mostrano che l'intermedio essiccato per atomizzazione può essere opportunamente conservato, ad esempio, in condizioni ambiente prima dell'idratazione e di altro processamento per formare liposomi, un attributo commercialmente desiderabile.

Tabella 3. Valutazione della stabilità della dispersione essiccata per atomizzazione di SCY-078

Test	All'inizio	3 mesi	
		25 °C/RH 60%	40 °C/RH 75%
Aspetto (<i>visivo</i>)	Polvere fine bianca	Polvere bianca	Polvere bianca
Saggio (mg/g) SCY-078 come base libera	89,2	92,2	90,7

Test	All'inizio	3 mesi	
		25 °C/RH 60%	40 °C/RH 75%
Prodotti di degradazione			
Singoli (specificati e non specificati)^A	Nessuna impurità >0,1%	Nessuna impurità >0,1%	Nessuna impurità >0,1%
Totale	Nessuna impurità >0,1%	Nessuna impurità >0,1%	Nessuna impurità >0,1%
Contenuto di acqua (%)	2,3	1,8	3,1
A: Valore del report per i prodotti di degradazione $\geq 0,1\%$ dell'area (ad eccezione dei picchi presenti allo stesso livello o inferiore al livello nell'API)			

VALUTAZIONE DELLA STABILITÀ FISICOCHIMICA DI LIPOSOMI CHE INCAPSULANO SCY-078

È stata valutata la stabilità nelle condizioni di refrigerazione (2 °C - 8 °C) di una sospensione pronta da diluire di liposomi che incapsulano SCY-078. Come mostrato in Tabella 4, non vi è stata variazione nel saggio con SCY-078 e di granulometria media. Inoltre, non c'è stata fuoriuscita di farmaco incapsulato durante la conservazione, a dimostrare una forte associazione di SCY-078 con il doppio strato lipidico dei

liposomi. Questi risultati dimostrano stabilità e il potenziale per una stabilità a lungo termine adatta per varie applicazioni commerciali per le composizioni liposomiali descritte qui.

Tabella 4. Valutazione della stabilità dell'iniezione di liposoma SCY-078 (concentrazione 4 mg/mL)

Esempio	Condizione di conservazione	Tempo di conservazione	Saggio (mg/mL)	Dimensione particellare media (nm)	% incapsulata
N		All'inizio	3,8	100	>95%
N	2 °C - 8 °C	3 mesi	3,78	89,6	--
O		All'inizio	3,80	51,1	>99%
O	2 °C - 8 °C	6 mesi	4,00	53,4	>99%

VALUTAZIONE DELLA STABILITÀ FISIOLÓGICA DI LIPOSOMI CHE INCAPSULANO SCY-078

La stabilità delle vescicole o liposomi che incapsulano SCY-078 è stata valutata incubando i liposomi in siero bovino fresco 50% per 24 ore a 37 °C. Le frazioni di liposomi sono state separate dai componenti del siero mediante cromatografia di esclusione dimensionale usando una colonna Sephadex® G-25. Le frazioni di liposomi e di siero raccolte sono state analizzate per il contenuto di SCY-078 mediante HPLC. I risultati come mostrato in Tabella 5 dimostrano che sebbene nessun SCY-078 sia stato rilevato nelle frazioni proteiche di siero, essenzialmente tutto il

contenuto nominale di SCY-078 è stato recuperato dalle frazioni di liposomi. Considerando l'alto grado di legame di proteine mediante SCY-078, questi risultati hanno indicato sorprendentemente che SCY-078 rimaneva incapsulato in liposomi intatti nelle condizioni che simulano somministrazione endovenosa nel flusso sanguigno.

VALUTAZIONE DELLA TOLLERABILITÀ LOCALE DEI LIPOSOMI CHE INCAPSULANO SCY-078 NEGLI ANIMALI

Studio di tolleranza locale dell'infusione endovenosa in ratti Sprague Dawley

In uno studio di infusione endovenosa di 14 giorni in ratti, ogni animale è stato infuso SCY-078 incapsulato in liposoma (10 o 40 mg/kg/giorno), o con SCY-078 in soluzione (10 o 40 mg/kg/giorno), o con controllo con soluzione salina. Agli animali è stata praticata l'infusione tramite cateteri permanenti impiantati chirurgicamente nella vena cava; come tale, la valutazione della risposta del sito di infusione ha evidenziato osservazioni istologiche di infiammazione vascolare. Complessivamente, l'incidenza e la gravità dell'infiammazione vascolare aumentavano per SCY-078 somministrato come una soluzione, rispetto all'infiammazione vascolare negli animali trattati con soluzione salina; tuttavia, l'infiammazione vascolare non è stata osservata negli animali a cui è stato somministrato SCY-078 incapsulato in liposoma (Tabella 6).

Studio di irritazione endovenosa locale in conigli bianchi della Nuova Zelanda

Questo studio ha valutato l'irritazione locale del controllo con soluzione salina, SCY-078 40 mg/kg/dose in soluzione, e SCY-078

incapsulato in liposoma (10 o 40 mg/kg) a dosaggio giornaliero doppio (a distanza di 6 ore \pm 15 minuti). Le dosi sono state somministrate tramite infusione endovenosa di un'ora a una velocità di 20 mL/ora tramite catetere permanente a conigli bianchi della Nuova Zelanda per cinque giorni consecutivi.

L'infusione endovenosa giornaliera doppia di SCY-078 somministrato come una formulazione in soluzione a 40 mg/kg/dose per un periodo di 1 ora ha determinato reazioni locali avverse in corrispondenza del sito di infusione e nell'area circostante, manifestate come eritema da molto lieve/lieve a grave e edema, che ha portato all'eutanasia non programmata di tutti gli animali in questo gruppo dopo solo uno giorno di dosaggio. Al contrario, gli animali che hanno ricevuto infusione endovenosa giornaliera doppia di SCY-078 incapsulato in liposoma a 10 e 40 mg/kg sono stati in grado di completare il dosaggio di 5 giorni pianificato e la formulazione è stata ben tollerata.

I risultati per gli studi di tollerabilità locale negli animali ha dimostrato che SCY-078 incapsulato nei liposomi era meglio tollerato rispetto a SCY-078 in soluzione per quanto riguarda l'infiammazione vascolare e ISR in corrispondenza del sito di infusione e può essere adatto per somministrazione endovenosa attraverso una vena periferica.

Tabella 5. Stabilità dei liposomi che incapsulano SCY-078 in seguito a incubazione in siero fetale bovino a 37 °C

Tempo di incubazione nel siero a 37 °C (ore)	di SCY-078 recuperato (%) nelle frazioni di siero (0-29)	Liposomi recuperati (%) nelle frazioni di siero (0-29)	SCY-078 recuperato (%) nelle frazioni di liposomi (29-80) ¹
0 ore	<LOD	<LOD	112
1 ora	<LOD	<LOD	90
2 ore	<LOD	<LOD	118
4 ore	<LOD	<LOD	98
8 ore	<LOD	<LOD	91
24 ore	<LOD	<LOD	96
		Media	100,83
¹ Recupero di SCY-078 normalizzato rispetto al recupero di liposomi. Limite di rilevamento (LOD): SCY = 0,036 µg/mL; Liposomi = 0,017 µg/mL			

Tabella 6. Infiammazione vascolare in corrispondenza del sito di infusione in ratti Sprague Dawley

Designazione del gruppo	Controllo con soluzione salina	SCY-078 in soluzione		Liposoma SCY-078	
		10	40	10	40
Livello di dose (mg/kg/giorno)	0	10	40	10	40
<i>Sito di infusione, dal cranio alla punta del catetere</i>					

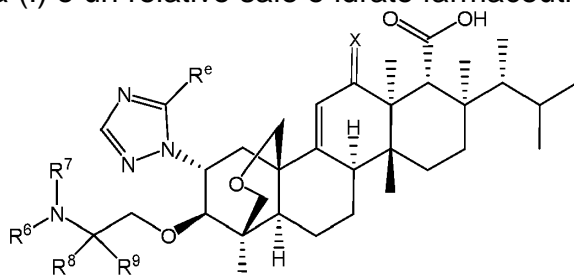
Designazione del gruppo	Controllo con soluzione salina	SCY-078 in soluzione		Liposoma SCY-078	
Totale	0/4	2/4	2/4	0/4	0/4
Minimo	0	2	1	0	0
Lieve	0	0	1	0	0
<i>Sito di infusione, punta del catetere</i>					
Totale	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4
Lieve	0	1	0	0	0
<i>Sito di infusione, dalla coda alla punta del catetere</i>					
Totale	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Minimo	0	0	0	0	0

RIVENDICAZIONI

1. Composizione iniettabile comprendente:

una fase acquosa; e

una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna un composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile:



(I)

in cui:

X è O o H, H;

R^e è C(O)NR^fR^g o un gruppo eteroarile ad anello a 6 membri contenente 1 o 2 atomi di azoto in cui il gruppo eteroarile è facoltativamente mono-sostituito su un carbonio di anello con fluoro o cloro su un azoto di anello con ossigeno;

R^f, R^g, R⁶ e R⁷ sono, ciascuno indipendentemente, idrogeno o C₁-C₃ alchile;

R⁸ è C₁-C₄ alchile, C₃-C₄ cicloalchile o C₄-C₅ cicloalchil-alchile;

R⁹ è metile o etile; e

R⁸ e R⁹ sono facoltativamente presi insieme per formare un anello saturo a 6 membri contenente 1 atomo di ossigeno,

in cui l'una o più vescicole unilamellari sono idratate nella fase acquosa.

2. Composizione iniettabile secondo la rivendicazione 1, in cui la concentrazione del composto incapsulato di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile nella composizione iniettabile è da circa 0,01 a circa 50 mg/mL.

3. Composizione iniettabile secondo la rivendicazione 1, in cui:

(a) la fase acquosa comprende zucchero, facoltativamente in cui lo zucchero è selezionato tra monosaccaridi, disaccaridi e relative combinazioni, facoltativamente in cui lo zucchero è selezionato tra saccarosio, trealosio, lattosio, glucosio, fruttosio e galattosio e relative combinazioni; e/o

(b) il pH della fase acquosa è nell'intervallo da circa 5,0 a circa 7,0.

4. Composizione iniettabile secondo la rivendicazione 1, in cui l'una o più vescicole unilamellari comprendono:

(a) fosfatidilcolina, acido fosfatidico, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerolo o relative combinazioni; o

(b) fosfatidilcolina e fosfatidilglicerolo, facoltativamente in cui:

(i) la fosfatidilcolina è selezionata tra dipalmitoil fosfatidilcolina, distearoil fosfatidilcolina, fosfatidilcolina di uovo, fosfatidilcolina di soia, dilauroil fosfatidilcolina e dimiristoil fosfatidilcolina; e/o

(ii) il fosfatidilglicerolo è selezionato tra dipalmitoil fosfatidilglicerolo, distearoil fosfatidilglicerolo, dilauroil fosfatidilglicerolo e dimiristoil fosfatidilglicerolo.

5. Composizione iniettabile secondo la rivendicazione 1, in cui il composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente

accettabile è presente nelle vescicole in una quantità da circa 5 a circa 12 per cento in moli, il fosfolipide è presente nelle vescicole in una quantità da circa 50 a circa 80 per cento in moli, e il colesterolo è presente nelle vescicole in una quantità da circa 10 a circa 30 per cento in moli.

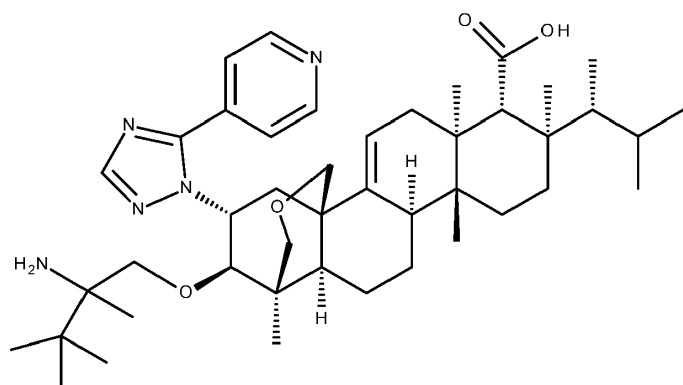
6. Composizione iniettabile secondo la rivendicazione 1, in cui il fosfolipide comprende fosfatidilglicerolo e fosfatidilcolina, e il rapporto molare tra: il composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile, e il fosfatidilglicerolo, e la fosfatidilcolina, e il colesterolo, è 1 : 2 : 5 : 2,5.

7. Composizione iniettabile secondo la rivendicazione 1, in cui la granulometria media dell'una o più vescicole unilamellari è inferiore a circa 150 nm, facoltativamente inferiore a circa 100 nm, facoltativamente da circa 70 a circa 80 nm.

8. Composizione iniettabile secondo la rivendicazione 1, comprendente:

una fase acquosa; e

una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna un composto di Formula (II) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile:



(II)

che è acido (1*S*,4*aR*,6*aS*,7*R*,8*R*,10*aR*,10*bR*,12*aR*,14*R*,15*R*)-15-[[2-ammino-2,3,3-trimetilbutil]ossi]-8-[(1*R*)-1,2-dimetilpropil]-14-[5-(4-piridinil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il]-1,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*, 10*b*,11,12,12*a*-dodecaidro-1,6*a*,8,10*a*-tetrametil-4*H*-1,4*a*-propano-2*H*-fenantro[1,2-*c*]piran-7-carbossilico,

in cui la concentrazione del composto incapsulato di Formula (II) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile nella composizione iniettabile è da circa 0,01 a circa 50 mg/mL,

in cui il fosfolipide comprende fosfatidilglicerolo e fosfatidilcolina, in cui il rapporto molare tra: il composto di Formula (II) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile, e il fosfatidilglicerolo, e la fosfatidilcolina, e il colesterolo, è 1 : 2 : 5 : 2,5,

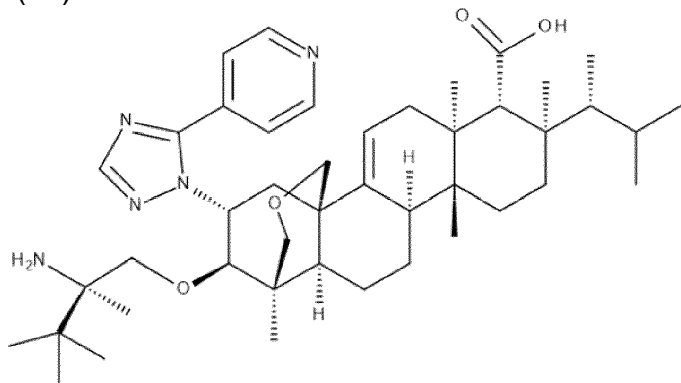
in cui la fase acquosa comprende zucchero e ha un pH da circa 5,0 a circa 7,0, e

in cui l'una o più vescicole unilamellari sono idratate nella fase acquosa.

9. Composizione iniettabile secondo la rivendicazione 1, comprendente:

una fase acquosa; e

una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo, e che incapsulano ciascuna un composto di Formula (IIa) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile:



(IIa)

che è acido (1*S*,4*aR*,6*aS*,7*R*,8*R*,10*aR*,10*bR*,12*aR*,14*R*,15*R*)-15-[[[(2*R*)-2-ammino-2,3,3-trimetilbutil]ossi]-8-[(1*R*)-1,2-dimetilpropil]-14-[5-(4-piridinil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il]-1,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*,10*b*,11,12,12*a*-dodecaidro-1,6*a*,8,10*a*-tetrametil-4*H*-1,4*a*-propano-2*H*-fenantro[1,2-*c*]piran-7-carbossilico,

in cui l'una o più vescicole unilamellari sono idratate nella fase acquosa.

10. Composizione iniettabile secondo la rivendicazione 9, in cui l'una o più vescicole unilamellari incapsulano il composto di Formula (IIa).

11. Composizione iniettabile secondo le rivendicazioni 1, 8 o 9, in cui l'una o più vescicole unilamellari incapsulano un sale farmaceuticamente accettabile del composto di Formula (I), Formula (II) o Formula (IIa), facoltativamente in cui l'una o più vescicole unilamellari

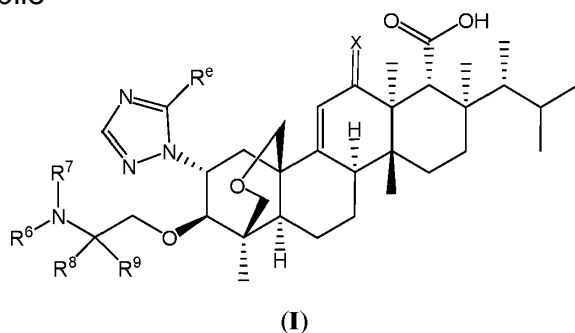
incapsulano il sale citrato del composto di Formula (I), Formula (II) o Formula (IIa).

12. Composizione iniettabile secondo le rivendicazioni 1, 8 o 9, per uso in un metodo di trattamento di un'infezione fungina in un soggetto che ne necessita, il metodo comprendendo somministrazione endovenosa della composizione iniettabile, facoltativamente in cui il soggetto è un essere umano.

13. Composizione iniettabile per uso secondo la rivendicazione 12, in cui l'infezione fungina è:

- (a) causata da *Candida* spp; o
- (b) causata da *Aspergillus* spp; o
- (c) è candidemia; o
- (d) è aspergillosi invasiva.

14. Metodo di produzione di una composizione iniettabile comprendente una o più vescicole unilamellari che incapsulano ciascuna un composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile



in cui:

X è O o H, H;

R^e è $C(O)NR^fR^g$ o un gruppo eteroarile ad anello a 6 membri contenente 1 o 2 atomi di azoto in cui il gruppo eteroarile è facoltativamente mono-sostituito su un carbonio di anello con fluoro o cloro su un azoto di anello con ossigeno;

R^f , R^g , R^6 e R^7 sono, ciascuno indipendentemente, idrogeno o C_1 - C_3 alchile;

R^8 è C_1 - C_4 alchile, C_3 - C_4 cicloalchile o C_4 - C_5 cicloalchil-alchile;

R^9 è metile o etile; e

R^8 e R^9 sono facoltativamente presi insieme per formare un anello saturo a 6 membri contenente 1 atomo di ossigeno,

il metodo comprendendo:

a) dissoluzione del fosfolipide e colesterolo in un alcol alifatico avente da uno a cinque atomi di carbonio per formare una prima soluzione;

b) dissoluzione del composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile nella prima soluzione per formare una seconda soluzione;

c) miscelazione della seconda soluzione;

d) evaporazione del solvente dalla seconda soluzione per produrre una dispersione di fosfolipide-colesterolo contenente il composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile;

e) idratazione della dispersione di fosfolipide-colesterolo contenente il composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile con una soluzione di zucchero per

produrre una sospensione idratata; e

f) formazione, dalla sospensione idratata, di una o più vescicole unilamellari che comprendono ciascuna fosfolipide e colesterolo e che incapsulano il composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile.

15. Metodo secondo la rivendicazione 14, in cui:

(a) l'alcol alifatico è selezionato tra metanolo o etanolo; e/o

(b) la soluzione di zucchero comprende zucchero selezionato tra monosaccaridi, disaccaridi e relative combinazioni, facoltativamente in cui lo zucchero è selezionato tra saccarosio, trealosio, lattosio, glucosio, fruttosio e galattosio e relative combinazioni.

16. Metodo secondo la rivendicazione 14, in cui circa il 90% o più della quantità del composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile presente durante il passaggio (b) è incapsulato durante il passaggio (f) nell'una o più vescicole unilamellari, facoltativamente in cui circa il 95% o più della quantità del composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile presente durante il passaggio (b) è incapsulato durante il passaggio (f) nell'una o più vescicole unilamellari.

17. Metodo secondo la rivendicazione 14, in cui il composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile è presente nelle vescicole in una quantità da circa 5 a circa 12 percento in moli.

18. Metodo secondo la rivendicazione 14, in cui il fosfolipide comprende fosfatidilglicerolo e fosfatidilcolina, e in cui il rapporto molare

tra: il composto di Formula (I) o un relativo sale o idrato farmaceuticamente accettabile, e il fosfatidilglicerolo, e la fosfatidilcolina, e il colesterolo, è 1 : 2 : 5 : 2,5.

19. Metodo secondo la rivendicazione 14, in cui:

(a) durante il passaggio (f), sonicazione, miscelazione microfluidica, omogeneizzazione, o una relativa combinazione viene usata per formare l'una o più vescicole unilamellari; e/o

(b) il metodo inoltre comprende sterilizzazione dell'una o più vescicole unilamellari prodotte nel passaggio (f); e/o

(c) il metodo inoltre comprende liofilizzazione dell'una o più vescicole unilamellari prodotte nel passaggio (f).

20. Metodo secondo la rivendicazione 14, in cui la granulometria media dell'una o più vescicole unilamellari è inferiore a circa 150 nm, facoltativamente inferiore a circa 100 nm, facoltativamente da circa 70 a circa 80 nm.