

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 948 715**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/127 (2006.01)
A61L 27/50 (2006.01)
A61K 31/685 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.08.2018 PCT/IL2018/050923**
(87) Fecha y número de publicación internacional: **28.02.2019 WO19038763**
(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2018 E 18847493 (6)**
(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.03.2023 EP 3672653**

(54) Título: **Formulación liposomal para la lubricación articular**

(30) Prioridad:

22.08.2017 US 201762548429 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.09.2023

(73) Titular/es:

MOEBIUS MEDICAL LTD. (100.0%)
27 HaBarzel Street
67910 Tel Aviv, IL

(72) Inventor/es:

BARENHOLZ, YECHEZKEL;
DOLEV, YANIV;
TURJEMAN, KEREN;
SARFATI, GADI y
AYAL-HERSHKOVITZ, MATY

(74) Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 948 715 T3

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

DESCRIPCIÓN

Formulación liposomal para la lubricación articular

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas liposomales en donde los propios fosfolípidos son los únicos agentes farmacéuticos activos y su uso terapéutico para la lubricación articular.

10 Antecedentes de la invención

Las disfunciones articulares afectan a una porción muy grande de la población. La suficiente biolubricación es un prerequisito para la movilidad articular adecuada, que es crucial para la prevención y mejora de cambios degradantes de la articulación.

15 Una disfunción articular común es la artrosis (OA), con una prevalencia superior a 20 millones solo en los Estados Unidos. El tratamiento actual se centra en la reducción de la sobrecarga de articulaciones, fisioterapia y alivio del dolor y la inflamación, generalmente por administración sistémica o intraarticular de fármacos.

20 El cartílago articular forma una superficie suave, tenaz, elástica y flexible que facilita el movimiento óseo. El espacio sinovial se llena con el líquido sinovial (SF) altamente viscoso, que contiene ácido hialurónico (HA) y la glicoproteína lubricina. El HA es un polímero de ácido D-glucurónico y D-N-acetilglucosamina, que es altamente inestable y se degrada en las condiciones inflamatorias de la OA (Nitzan, D.W., Kreiner, B. &Zeltser, R. TMJ lubricationsystem: its effect on the joint function, dysfunction, and treatment approach. Compend. Contin. Educ. Dent. 25, 437-444 (2004); Yui, N., Okano, T. &Sakurai, Y. Inflammation responsive degradation of crosslinked hyaluronic acid gels. J. Control. Release 22, 105-116 (1992)). La lubricina está compuesta por ~44 % de proteínas, ~45 % de hidratos de carbono y ~11 % de fosfolípidos (PL), de los cuales ~41 % son fosfatidicolinas (PC), ~27 % de fosfatidiletanolaminas (PE) y ~32 % de esfingomielinas. Estos PL se denominan “fosfolípidos de superficie activa” (SAPL).

30 La lubricación de límite, en donde las capas de moléculas lubricantes separan las superficies opuestas, se produce bajo la carga de articulaciones articulares. Se han propuesto varias sustancias diferentes como lubricantes de límite nativo en el cartílago articular, incluyendo HA y lubricina. Pickard y col. y Schwartz y Hills demostraron que los fosfolípidos definidos como fosfolípidos tensioactivos de lubricina facilitan la lubricación articular en el cartílago articular (Pickard, J.E., Fisher, J., Ingham, E. y Egan, J. Investigation into the effects of proteins and lipids on the frictional properties of articular cartilage. Biomaterials 19, 1807-1812 (1998); Schwarz, I.M. y Hills, B.A. Surface-active phospholipid as the lubricating component of lubricin. Br. J. Rheumatol. 37, 21-26 (1998)). Hills y colaboradores demostraron que las articulaciones con OA tienen una deficiencia de SAPL, y que la inyección del fosfolípido de superficie activa 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC) en las articulaciones de los pacientes con OA dio como resultado una mejora de la movilidad que dura hasta 14 semanas sin efectos secundarios importantes (Vecchio, P., Thomas, R. y Hills, B.A. Surfactant treatment for osteoarthritis. Rheumatology (Oxford) 38, 1020-1021 (1999); Gudimelte, O.A., Crawford, R. &Hills, B.A. Consolidation responses of delipidized cartilage. Clin. Biomech. 19, 534-542 (2004)). En otro estudio, utilizando una técnica de conservación de cartílago criogénica única, Watanabe y col. observaron vesículas globulares lipídicas en la superficie del cartílago sano, que se supone que desempeñan un papel importante en la lubricación (Watanabe, M. y col. Ultrastructural study of upper surface layer in rat articular cartilage by “in vivo cryotechnique” combined with various treatments. Med. Elect. Microsc. 33, 16-24 (2000)). Kawano y col. y Forsey y col., usando modelos animales, han demostrado que el uso de HA de alto peso molecular (~2000 kDa) combinado con DPPC mejoró la capacidad lubricante de esta última (Kawano, T. y col. Mechanical effects of the intraarticular administration of high molecular weight hyaluronic acid plus phospholipid on synovial joint lubrication and prevention of articular cartilage degeneration in experimental osteoarthritis. Arthritis Rheum. 48, 1923-1929 (2003); Forsey, R.W. y col. The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model. Biomaterials 27, 4581-4590 (2006)).

55 La patente US-6.800.298 describe composiciones de hidrogel a base de dextrano que contienen lípidos, particularmente fosfolípidos, para la lubricación de articulaciones de mamíferos.

60 La solicitud de patente US-2005/0123593 está dirigida a una composición que comprende glicosaminoglicanos encapsulados en un sistema de administración liposomal para administración intraarticular para el tratamiento de la artrosis.

65 La patente US-8.895.054 se refiere a métodos de lubricación articular y/o prevención de desgaste de cartílago que hace uso de liposomas que consisten esencialmente en membranas de fosfolípidos que tienen una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C.

Las composiciones farmacéuticas disponibles comercialmente para la prevención y el tratamiento de la artrosis, que se basan en ácido hialurónico como principio activo, incluyen, entre otros, Antalvisc®, Kartilage® y Kartilage® Cross. Dichas composiciones farmacéuticas incluyen manitol además de HA. Se encontró que el manitol tiene la capacidad

de reducir la degradación de HA bajo estrés oxidativo y, por tanto, puede usarse para aumentar significativamente el tiempo de residencia intraarticular del HA inyectado y mejorar la eficacia de la viscocomplementación de las inyecciones intraarticulares basadas en HA (M. Rinaudo, B. Lardy, L. Grange, and T. Conrozier, Polymers 2014, 6, 1948-1957). Un estudio clínico que compara tanto la seguridad como la eficacia de un viscocomplemento intraarticular fabricado de ácido hialurónico de peso molecular (PM) intermedio mezclado con alta concentración de manitol y un HA de alto PM solo (Bio-HA), en pacientes con artrosis de rodilla reveló que el viscocomplemento que contiene manitol no era menos efectivo que su Bio-HA comparador, en cuanto a alivio del dolor y mejora de la función durante seis meses, sin inducir más efectos secundarios (Conrozier, Thierry y col. The Knee, 2016, 23 (5), 842 - 848). The effect of mannitol on the efficacy of HA-based viscosupplement compositions was also studied by Eymard y col., (Eymard F, Bossert M, Lecurieux R, Maillet B, Chevalier X, y col. (2016) Addition of Mannitol to Hyaluronic Acid may Shorten Viscosupplementation Onset of Action in Patients with Knee Osteoarthritis: Post-Hoc Analysis of A Double-blind, Controlled Trial. J Clin Exp Orthop 2: 21) and Conrozier, T. y col. (Role of high concentrations of manitol on the stability of hyaluronan in an oxidative stress model induced by xanthine/xanthine oxidase Osteoarthritis and Cartilage, volumen 22, S478). Ferraccioli y col. han demostrado que la iluminación ultravioleta del líquido sinovial podría ser un método útil para la detección del efecto de eliminación de radicales libres de fármacos, ya que induce una caída de viscosidad debido a la producción de radicales libres. La protección de la viscosidad del líquido sinovial humano estaba mediada por la superóxido dismutasa, el manitol y la catalasa (G.F. Ferraccioli, U. Ambanelli, P. Fietta, N. Giudicelli, C. Giori, Decrease of osteoarthritic synovial fluid viscosity by means of u.v. illumination: A method to evaluate the free radical scavenging action of drugs, Biochemical Pharmacology, 30, (13) 1981, 1805-1808).

La solicitud de patente internacional WO2012/001679 se refiere a una formulación farmacéutica inyectable para el alivio o la reducción de la irritación articular o para la reducción de empeoramiento de la inflamación articular existente, formulada para inyección intraarticular, que comprende un principio activo de poliol, principio activo de poliol que es xilitol. La eficacia del xilitol se comparó con la eficacia del manitol y el glicerol para la prevención de la irritación articular, y se describió que una disolución de manitol o glicerol no evitó la irritación, cuando se inyectó por inyección intraarticular en la rodilla de un conejo.

El documento US 2017/128473 A1 describe una formulación de bicapa vesicular.

La solicitud de patente US-2014/0038917 se refiere a una formulación acuosa estéril e inyectable para administración en el espacio intraarticular de una articulación intraarticular de un sujeto, en forma de un gel que comprende: ácido hialurónico, o una de sus sales, y un poliol, preferiblemente, sorbitol a una concentración igual o superior a 7 mg/ml.

La solicitud de patente internacional WO2003/000191 se refiere a una composición y un método para tratar la artritis que comprende uno o más glicosaminoglicanos en combinación con uno o más inhibidores de hialuronidasa, en donde los inhibidores de hialuronidasa pueden seleccionarse de sulfato de heparán, sulfato de dextrano y sulfato de xilosa, y en donde el ácido hialurónico puede estar coencapsulado con un inhibidor de hialuronidasa en liposomas.

Se sabe que las composiciones de HA inyectables tienen diversos efectos secundarios, tales como dificultad con el movimiento, el dolor muscular o la rigidez, el dolor en las articulaciones y la hinchazón o el enrojecimiento en la articulación. Algunos de los efectos secundarios de Antalvisc® incluyen dolor transitorio e hinchazón de la articulación inyectada después de la inyección.

Por tanto, sigue existiendo una necesidad insatisfecha de una composición farmacéutica eficiente para la lubricación articular, que proporcionaría un efecto duradero, al tiempo que se reduce la probabilidad de efectos secundarios asociados con la administración intraarticular.

50 Resumen de la invención

La presente invención proporciona una formulación liposomal para la introducción en articulaciones sinoviales para proporcionar lubricación para reducir el dolor y la irritación y mejorar o restaurar la movilidad articular. La formulación liposomal se adapta específicamente para la administración intraarticular. La composición farmacéutica de la presente invención comprende liposomas, como un principio activo, que comprenden membranas de fosfolípidos que tienen una temperatura de transición de fase que es ligeramente menor que la temperatura fisiológica. Por tanto, los liposomas están en la fase desordenada líquida (LD) cuando se administran a la articulación sinovial. La composición farmacéutica comprende además un agente de tonicidad que es manitol. El agente de tonicidad se usa para reducir la irritación local evitando choque osmótico en el sitio de aplicación.

La presente invención se basa en parte en el sorprendente descubrimiento de que el manitol, un agente de tonicidad no iónico que se añadió a la composición liposomal, proporcionó una lubricación mejorada en comparación con un agente de tonicidad iónico. En particular, la adición de manitol a la formulación liposomal mejoró la eficacia de lubricación de la composición, mientras que el uso de cloruro de sodio dio como resultado una disminución de la eficiencia de lubricación de los liposomas. El efecto del manitol es aún más sorprendente en vista del hecho de que las composiciones farmacéuticas no comprenden ningún agente farmacéuticamente activo adicional además de los

propios fosfolípidos, y en particular, no contienen ácido hialurónico, cuya actividad se sabe que se mejora mediante la adición de polioles.

Por tanto, según un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente de tonicidad no iónico, que comprende un poliol que es manitol; y liposomas que comprenden al menos una membrana que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de un glicerofosfolípido (GPL), teniendo dicho GPL dos cadenas hidrocarbonadas C₁₂-C₁₈, que son iguales o diferentes, y la esfingomielina (SM) que tiene una cadena hidrocarbonada C₁₂-C₁₈, en donde la al menos una membrana tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C; en donde la composición farmacéutica está esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional. La composición farmacéutica es útil en la lubricación de una articulación de mamífero que tiene una temperatura que está por encima de la temperatura de transición de fase.

Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia.

En otro aspecto, se proporciona un método para lubricar una articulación de un mamífero, comprendiendo el método: administrar en una cavidad de la articulación una composición farmacéutica que comprende un agente de tonicidad, que comprende un poliol que es manitol; y liposomas que comprenden al menos una membrana que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de un glicerofosfolípido (GPL), teniendo dicho GPL dos cadenas hidrocarbonadas C₁₂-C₁₈, que son iguales o diferentes, y la esfingomielina (SM) que tiene una cadena hidrocarbonada C₁₂-C₁₈, en donde la al menos una membrana tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C; en donde la composición farmacéutica está esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional, en donde la articulación tiene una temperatura de articulación que está por encima de la temperatura de transición de fase.

En otro aspecto, se proporciona un método para el tratamiento del dolor o la irritación en una articulación de un sujeto que tiene un trastorno articular, comprendiendo el método lubricar una articulación de dicho sujeto administrando en una cavidad de la articulación una composición farmacéutica que comprende un agente de tonicidad que comprende un poliol que es manitol; y liposomas que comprenden al menos una membrana que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de un glicerofosfolípido (GPL), teniendo dicho GPL dos cadenas hidrocarbonadas C₁₂-C₁₈, que son iguales o diferentes, y la esfingomielina (SM) que tiene una cadena hidrocarbonada C₁₂-C₁₈, en donde la al menos una membrana tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C; en donde la composición farmacéutica está esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional, y en donde la articulación tiene una temperatura de articulación que está por encima de la temperatura de transición de fase.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un agente de tonicidad, que comprende un poliol que es manitol; y liposomas que consisten esencialmente en al menos una membrana que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de un glicerofosfolípido (GPL), teniendo dicho GPL dos cadenas hidrocarbonadas C₁₂-C₁₈, que son iguales o diferentes, y esfingomielina (SM) que tiene una cadena hidrocarbonada C₁₂-C₁₈, en donde la al menos una membrana tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C, para la preparación de una composición farmacéutica para la lubricación de una articulación de mamífero que tiene una temperatura por encima de dicha temperatura de transición de fase, en donde la composición farmacéutica está esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional.

En algunas realizaciones, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 5 % (p/p) y aproximadamente el 50 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En algunas realizaciones, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 20 % (p/p) y aproximadamente el 40 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En algunas realizaciones, los fosfolípidos están presentes en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 50 % (p/p) y aproximadamente el 95 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además un medio fluido en donde se dispersan o suspenden los liposomas. En realizaciones adicionales, el manitol se disuelve en dicho medio fluido. El medio fluido puede seleccionarse de tampón y agua. En determinadas realizaciones, dicho tampón comprende un tampón de histidina o solución salina tamponada con fosfato. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención. En determinadas realizaciones, dicho tampón comprende un tampón de histidina.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica está en forma de una suspensión farmacéuticamente aceptable que comprende liposomas suspendidos en el medio fluido.

Según algunas realizaciones, la concentración del poliol que es manitol dentro del liposoma es esencialmente la misma que la concentración del poliol en el medio fuera del liposoma.

- En algunas realizaciones, el manitol oscila entre aproximadamente el 0,1 % (p/p) y aproximadamente el 7 % (p/p). En todavía realizaciones adicionales, el porcentaje en peso de manitol oscila entre aproximadamente el 1 % (p/p) y aproximadamente el 5 % (p/p).
- 5 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad en el intervalo de aproximadamente 200 a aproximadamente 600 mOsm. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 300 mOsm. En determinadas de tales realizaciones, la composición farmacéutica es isotónica.
- 10 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 5-8.
- 15 En algunas realizaciones, la razón en peso entre los liposomas y el manitol oscila entre aproximadamente 15:1 y aproximadamente 1:1. En realizaciones adicionales, la razón en peso entre los liposomas y el manitol oscila entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 1:1.
- Según algunas realizaciones, los liposomas tienen más de una membrana. En determinadas de tales realizaciones, los liposomas son vesículas multilaminares (MLV).
- 20 En algunas realizaciones, el GPL comprende dos cadenas de acilo. En realizaciones adicionales, dichas cadenas se seleccionan del grupo que consiste en cadenas de acilo C₁₄, C₁₅, C₁₆ y C₁₈. En determinadas realizaciones, al menos una de dichas cadenas hidrocarbonadas es una cadena hidrocarbonada saturada. En realizaciones adicionales, las dos cadenas hidrocarbonadas están saturadas.
- 25 En algunas realizaciones, el PL es una fosfatidilcolina (PC). En realizaciones adicionales, la al menos una membrana comprende 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC).
- 30 En algunas realizaciones, la al menos una membrana comprende además una PC seleccionada del grupo que consiste en 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-dipentadecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (C15), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), y N-palmitoil-D-eritro-esfingosilosforilcolina (D-eritro C16). En algunas realizaciones, el porcentaje en moles de DMPC en la al menos una membrana oscila entre aproximadamente el 10 % y aproximadamente el 75 %.
- 35 En algunas realizaciones, la al menos una membrana comprende DMPC y DPPC. En realizaciones adicionales, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DPPC está en el intervalo de aproximadamente 25:75 a aproximadamente 70:30. En determinadas realizaciones, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DPPC es de aproximadamente 45:55.
- 40 En algunas realizaciones, la al menos una membrana comprende DMPC y C15. En realizaciones adicionales, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a C15 está en el intervalo de aproximadamente 25:75 a aproximadamente 45:55.
- 45 En algunas realizaciones, la al menos una membrana comprende DMPC y DSPC. En realizaciones adicionales, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DSPC es de aproximadamente 75:25.
- 50 En algunas realizaciones, la al menos una membrana comprende C15.
- La concentración total de los fosfolípidos en la composición farmacéutica según algunas realizaciones de la invención oscila entre aproximadamente 50 y aproximadamente 300 mM. En determinadas realizaciones, la concentración total de los fosfolípidos oscila entre aproximadamente 100 mM y aproximadamente 200 mM.
- 55 En algunas realizaciones, los fosfolípidos están presentes en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 0,5 % (p/p) y aproximadamente el 30 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica. En realizaciones adicionales, el porcentaje en peso de fosfolípidos oscila entre aproximadamente el 3 % (p/p) y aproximadamente el 30 % (p/p).
- 60 En algunas realizaciones, los liposomas tienen un diámetro medio de entre aproximadamente 0,5 µm y aproximadamente 10 µm.
- 65 En determinadas realizaciones, la al menos una membrana tiene la temperatura de transición de fase de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 35 °C.

En algunas realizaciones, la temperatura de la articulación está en el intervalo de aproximadamente 1-15 °C por encima de dicha temperatura de transición de fase.

5 En algunas realizaciones actualmente preferidas, la composición farmacéutica está esencialmente libre de ácido hialurónico.

En determinadas realizaciones, los liposomas consisten esencialmente en la al menos una membrana que comprende al menos un fosfolípido (PL), tal como se ha detallado anteriormente.

10 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende liposomas de MLV cuyas membranas consisten esencialmente en DMPC y DPPC; manitol; y tampón de histidina. En algunas realizaciones, la DMPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 1 % (p/p) y aproximadamente el 10 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica. En todavía realizaciones adicionales, la DPPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 2 % (p/p) y aproximadamente el 12 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica. En aún realizaciones adicionales, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 1 % (p/p) y aproximadamente el 7 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica.

20 En algunas realizaciones, la lubricación de la articulación es para el tratamiento de un trastorno articular o síntomas que surgen de los mismos. En realizaciones adicionales, el trastorno articular se selecciona del grupo que consiste en artritis, artrosis, artrosis en pacientes con artritis reumatoide, lesión articular traumática, unión bloqueada, lesión deportiva, estado tras la artrocentesis, cirugía artroscópica, cirugía abierta articular y artroplastia. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica es para la reducción del dolor de la articulación de la rodilla en pacientes con artrosis.

25 En algunas realizaciones, la lubricación es para prevenir el desgaste articular.

30 Según realizaciones específicas, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica parenteral que comprende una suspensión de liposomas. La composición farmacéutica puede estar en una forma adecuada para la administración por inyección intraarticular, administración artroscópica o mediante administración quirúrgica. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención.

35 La composición farmacéutica según las diversas realizaciones de la invención puede administrarse en una dosis de aproximadamente 0,5 ml a aproximadamente 10 ml. En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica se administra en una dosis de desde aproximadamente 1 ml hasta aproximadamente 6 ml. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica se administra en una dosis de aproximadamente 3 ml.

40 En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 350 mg de manitol. En una determinada realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 120 mg de manitol.

45 En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 50 mg hasta aproximadamente 1000 mg de fosfolípidos. En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 50 mg hasta aproximadamente 500 mg de DPPC. En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 40 mg hasta aproximadamente 300 mg de DMPC.

50 Las realizaciones adicionales y el alcance completo de aplicabilidad de la presente invención serán evidentes a partir de la descripción detallada dada a continuación en el presente documento. Sin embargo, debe entenderse que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican realizaciones preferidas de la invención, se dan solamente a modo de ilustración.

Breve descripción de las figuras

55 La figura 1 muestra termogramas de calorimetría diferencial de barrido (DSC) en bruto de composiciones liposomales isotónicas e hipotónicas que comprenden DMPC/DPPC.

La figura 2 muestra termogramas de calorimetría diferencial de barrido (DSC) en bruto de composiciones liposomales isotónicas e hipotónicas que comprenden C15.

60 La figura 3 es un gráfico de diagrama de barras que muestra el intervalo de temperatura de transición de la fase SO a LD de liposomas que comprende diferentes mezclas de fosfolípidos evaluadas a partir de las exploraciones de DSC. El área gris indica el intervalo de temperatura de 20 °C-39 °C.

La figura 4 muestra perfiles de agujas de fijación de cartílago antes y después de la prueba de desgaste en líquido a base de proteínas. La posición del hueso subcondral que aparece está marcada por una flecha. La escala no muestra la altura efectiva a medida que los perfiles se desplazan para una mejor visibilidad.

5 **Las figuras 5A-5B** muestran imágenes ópticas de la aguja de fijación de cartílago n.º 9 antes (**figura 5A**) y 12 horas después (**figura 5B**) de las pruebas de desgaste en líquido a base de proteínas. Además del anillo de cartílago externo, apareció hueso subcondral donde se desgastó el cartílago (indicado por la flecha).

10 **La figura 6** muestra perfiles de agujas de fijación de cartílago antes y después de la prueba de desgaste en composición liposomal. La escala no muestra la altura efectiva a medida que los perfiles se desplazan para una mejor visibilidad.

15 **Las figuras 7A-7B** muestran imágenes ópticas de la aguja de fijación de cartílago n.º 14 antes (**figura 7A**) y 6 horas después (**figura 7B**) de las pruebas de desgaste en composición liposomal.

15 **Las figuras 8A-8B** muestran imágenes ópticas de la aguja de fijación de cartílago n.º 17 antes (**figura 8A**) y 12 horas después (**figura 8B**) de las pruebas de desgaste en composición liposomal.

20 **Las figuras 9A-9B** muestran una comparación gráfica de la pérdida de masa (**figura 9A**) y la pérdida de altura (**figura 9B**) de la composición a base de proteínas frente a la composición liposomal. Las barras de error son una estimación aproximada de la precisión de medición.

25 **Las figuras 10A-10B** muestran perfiles de las superficies de cartílago antes y después de la prueba de desgaste en líquido a base de proteínas (**figura 10A**) y en la composición liposomal (**figura 10B**).

30 **La figura 11** muestra los parámetros de rugosidad Ra (•), Rk (◆), Rpk (▲) y Rvk (▼), antes (t=0) y después de la prueba de desgaste (6 h y 12h) para las agujas de fijación 13 a 18 sometidas a prueba en la composición liposomal, en donde Ra es una desviación media aritmética del perfil de rugosidad y Rk es una profundidad de rugosidad del núcleo (profundidad de rugosidad excluyendo el valor del pico más alto (Rpk) y el valle inferior (Rvk)).

Descripción detallada de algunas realizaciones

35 La presente invención proporciona una formulación liposomal para su uso en la lubricación de articulaciones de mamíferos, proporcionando dicha lubricación un dolor e irritación reducidos y permitiendo mejorar o restaurar la movilidad articular y reducir el desgaste de la articulación. La composición farmacéutica puede usarse además para el tratamiento, manejo o prevención de un trastorno o afección articular. La composición farmacéutica según los principios de la invención se basa en una composición liposomal, que tiene una temperatura de transición de fase definida de las membranas de los liposomas, estando dicha temperatura por debajo de la temperatura de la articulación.

40 El término “temperatura de transición de fase”, tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones a una temperatura a la que se produce la transición de fase ordenada sólida (SO) a fase líquida desordenada (LD) del liposoma. La temperatura de transición de fase de los liposomas puede evaluarse mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). Diversos parámetros del termograma de DSC que pueden examinarse para evaluar la temperatura de transición de fase incluyen T_{on} , que representa la temperatura a la que se inicia la transición de fase SO-LD y T_{off} , que representa la temperatura a la que finaliza la transición de fase SO-LD durante barridos de calentamiento y T_p y T_m , que representan la temperatura a la que se produce el cambio máximo en la capacidad calorífica durante la pretransición (T_p) y la transición principal (T_m), respectivamente.

50 Liposomas de vesículas multilaminares compuestos por diversas PC, con dos cadenas hidrocarbonadas C₁₂-C₁₆, donde previamente se demostró que son lubricantes de cartílago eficaces y reductores de desgaste a una temperatura ligeramente superior (por ejemplo, aproximadamente 1 °C, 2 °C, 3 °C, 5 °C, 8 °C, 11 °C y, en ocasiones, hasta aproximadamente 15 °C), la temperatura de transición de fase SO a LD (tal como se detalla en la patente estadounidense 8.895.054). Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden además un agente de tonicidad no iónico, que aumenta la osmolaridad de la composición.

55 Se encontró sorprendentemente que la eficiencia de lubricación de la composición farmacéutica que comprende manitol, como agente de tonicidad de poliol no iónico, fue significativamente mayor en comparación con una composición farmacéutica que comprende un agente de tonicidad iónico, y en particular, sal de cloruro de sodio. El efecto positivo de los polioles en comparación con el cloruro de sodio era completamente imprevisto, ya que la composición farmacéutica de la invención no se basa en ácido hialurónico, cuya actividad se sabe que se mejora mediante la adición de polioles.

60 Los inventores han demostrado además que la adición de manitol no alteró la temperatura de transición de fase de las membranas de liposomas. Sin querer limitarse a la teoría o el mecanismo de acción, puede suponerse que el efecto sorprendente de la adición de polioles no está directamente relacionado con la temperatura de transición de

fase del liposoma, que se ha informado previamente que es la característica esencial que proporciona la capacidad de lubricación del mismo.

Por tanto, según un aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente de tonicidad, que comprende un poliol que es manitol; y un liposoma que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de glicerofosfolípido (GPL) o esfingolípido (SPL) y que tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C, en donde la composición farmacéutica está esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es para su uso en la lubricación de una articulación de mamífero.

En otro aspecto, se proporciona un método para lubricar una articulación de un mamífero, comprendiendo el método: administrar en una cavidad de la articulación una composición farmacéutica que comprende: un agente de tonicidad, que comprende un poliol que es manitol; y un liposoma que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de glicerofosfolípido (GPL) o esfingolípido (SPL) que tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C, en donde la composición farmacéutica está esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional.

En otro aspecto, se proporciona un método para el tratamiento del dolor o la irritación en una articulación de un sujeto que tiene un trastorno articular, comprendiendo el método lubricar una articulación de dicho sujeto administrando en una cavidad de la articulación una composición farmacéutica que comprende: un agente de tonicidad que comprende un poliol que es manitol; y un liposoma que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de glicerofosfolípido (GPL) o esfingolípido (SPL) que tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C, en donde la composición farmacéutica está esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un agente de tonicidad, que comprende un poliol que es manitol y un liposoma que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de glicerofosfolípido (GPL) o esfingolípido (SPL) que tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C, para la preparación de una composición farmacéutica para la lubricación de una articulación de mamífero, en donde la composición farmacéutica está esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional.

El término “agente de tonicidad”, tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones a un agente de tonicidad adecuado para su uso en composiciones farmacéuticas para inyección intraarticular.

También se describe en el presente documento, pero no forma parte de la invención reivindicada, que el agente de tonicidad es no iónico. También se describe en el presente documento, pero que no forma parte de la invención reivindicada, que el poliol es un poliol lineal. También se describe en el presente documento, pero que no forma parte de la invención reivindicada, que el poliol es un poliol cíclico. Los ejemplos no limitativos de polioles no iónicos, que no se mencionan en las reivindicaciones, pero son útiles para comprender la invención, incluyen glicerol, dextrosa, lactosa y trehalosa.

El poliol de la invención es manitol. El manitol es un excipiente bien conocido y de bajo coste, usado frecuentemente por formuladores en diversos tipos de composiciones farmacéuticas. Tal como se mencionó anteriormente, el manitol se ha usado en combinación con ácido hialurónico en composiciones farmacéuticas para la lubricación articular. También se ha informado que el manitol es útil en la crioconservación de liposomas (Talsma H, van Steenbergen MJ, Salemkink PJ, Crommelin DJ, Pharm Res. 1991, 8 (8): 1021-6).

Debe enfatizarse que, según algunas realizaciones actualmente preferidas, el agente de tonicidad, que comprende un poliol que es manitol, no está encapsulado dentro de los liposomas. El término “encapsulado”, tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones, a la concentración del agente de tonicidad dentro del liposoma que es sustancialmente más alta que en el medio fuera del liposoma. La expresión “dentro del liposoma” debe entenderse que abarca al menos una fase acuosa interna del liposoma. El término “concentración” puede incluir concentración osmótica. La expresión “sustancialmente más alto”, tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones a la diferencia en la concentración de al menos aproximadamente el 90 %. En algunas realizaciones, el poliol, que es manitol, no está encapsulado dentro de los liposomas.

Según realizaciones adicionales, la concentración del agente de tonicidad dentro del liposoma es esencialmente la misma que la concentración del agente de tonicidad en el medio fuera del liposoma. La expresión “esencialmente igual”, tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones, a la diferencia en la concentración de menos de aproximadamente el 15 %. En realizaciones adicionales, la expresión “esencialmente igual” se refiere a la diferencia en la concentración de menos de aproximadamente el 10 %, menos de aproximadamente el 5 %, menos de aproximadamente el 2,5 %, o menos de aproximadamente el 1 %. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención.

Según realizaciones adicionales, la concentración del poliol que es manitol, dentro del liposoma es esencialmente la misma que la concentración del poliol en el medio fuera del liposoma.

5 En algunas realizaciones, los liposomas no se liofilizan. En realizaciones adicionales, los liposomas no se liofilizan y/o se descongelan antes de la administración a la articulación.

10 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además un medio fluido. En algunas realizaciones, los liposomas se dispersan o suspenden en dicho medio fluido. En realizaciones adicionales, el agente de tonicidad que es manitol se disuelve o dispersa en dicho medio fluido.

15 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica está en forma de una suspensión farmacéuticamente aceptable que comprende liposomas suspendidos en el medio fluido.

20 Además, se proporciona una suspensión farmacéuticamente aceptable que comprende la composición farmacéutica según las diversas realizaciones anteriores en el presente documento y que comprende además un medio fluido.

25 En algunas realizaciones, el poliol que es manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 5 % (p/p) y aproximadamente el 50 % (p/p), o de aproximadamente el 10 % (p/p) a aproximadamente el 40 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En determinadas realizaciones, el poliol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 30 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En realizaciones adicionales, el poliol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 15 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica.

30 En algunas realizaciones, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 10 % (p/p) y aproximadamente el 50 % (p/p), o de aproximadamente el 20 % (p/p) a aproximadamente el 50 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En realizaciones adicionales, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 30 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica.

35 En algunas realizaciones, los fosfolípidos que forman los liposomas están presentes en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 50 % (p/p) y aproximadamente el 95 % (p/p), o de aproximadamente el 60 % (p/p) y aproximadamente el 85 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En realizaciones adicionales, los fosfolípidos están presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 70 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En realizaciones adicionales, los fosfolípidos están presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 85 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica.

40 El término “peso seco”, tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones, al peso de una composición farmacéutica, que no incluye un medio fluido. En realizaciones adicionales, el término “peso seco” se refiere al peso de una composición farmacéutica, que no incluye agua.

45 En algunas realizaciones, las composiciones de esta invención son farmacéuticamente aceptables. La expresión “farmacéuticamente aceptable”, tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones a cualquier formulación que sea segura, y proporcione el suministro apropiado para la vía de administración deseada de una cantidad eficaz del principio activo para su uso en la presente invención. Esta expresión se refiere también al uso de formulaciones tamponadas, en donde el pH se mantiene en un valor deseado particular, que oscila entre pH 4,0 y pH 9,0, de acuerdo con la estabilidad de los compuestos y la vía de administración.

50 El medio fluido puede, por tanto, seleccionarse de tampón, agua y solución salina. En algunas realizaciones, el medio fluido comprende tampón. En determinadas realizaciones, dicho tampón comprende un tampón de histidina o solución salina tamponada con fosfato. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención. La concentración de histidina puede oscilar entre aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 10 mg/ml. En determinadas realizaciones, la concentración de histidina es de aproximadamente 2 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración de histidina oscila entre aproximadamente 1 mM y aproximadamente 50 mM. En determinadas realizaciones, la concentración de histidina es de aproximadamente 10 mM. La histidina puede estar presente en la composición en forma de una sal de ácido clorhídrico o acetato disuelta. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además cantidades mínimas de ácidos inorgánicos, tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico.

60 El pH de la composición farmacéutica puede oscilar entre aproximadamente 5 y aproximadamente 8. En algunas realizaciones, el pH oscila entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7. En determinadas realizaciones, el pH de la composición farmacéutica es de aproximadamente 6,5.

65 En algunas realizaciones, la concentración del poliol que es manitol en la composición farmacéutica oscila entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 100 mg/ml. En realizaciones adicionales, la concentración del poliol oscila

- entre aproximadamente 1 y aproximadamente 70 mg/ml. En todavía realizaciones adicionales, la concentración del poliol oscila entre aproximadamente 2,5 y aproximadamente 60 mg/ml. En aún realizaciones adicionales, la concentración del poliol oscila entre aproximadamente 5 y aproximadamente 50 mg/ml. En todavía realizaciones adicionales, la concentración del poliol oscila entre aproximadamente 30 y aproximadamente 50 mg/ml. En determinadas realizaciones, la concentración del poliol oscila entre aproximadamente 5 y aproximadamente 30 mg/ml.
- En algunas realizaciones, la concentración de manitol en la composición farmacéutica oscila entre aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 70 mg/ml. En realizaciones adicionales, la concentración de manitol oscila entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 70 mg/ml. En todavía realizaciones adicionales, la concentración de manitol oscila entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 50 mg/ml. En determinadas realizaciones, la concentración de manitol es de aproximadamente 40 mg/ml. En realizaciones adicionales, la concentración de manitol es de aproximadamente 20 mg/ml.
- En algunas realizaciones, la concentración de poliol que es manitol en la composición farmacéutica oscila entre aproximadamente 50 y aproximadamente 500 mM. En realizaciones adicionales, la concentración de poliol oscila entre aproximadamente 100 y aproximadamente 400 mM. En todavía realizaciones adicionales, la concentración de poliol oscila entre aproximadamente 200 y aproximadamente 300 mM.
- En algunas realizaciones, el poliol que es manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 0,05 % (p/p) y aproximadamente el 10 % (p/p), desde aproximadamente el 0,1 % (p/p) hasta aproximadamente el 7 % (p/p), desde aproximadamente el 0,5 % (p/p) hasta aproximadamente el 10 % (p/p), o desde aproximadamente el 1 % (p/p) hasta aproximadamente el 5 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica. En determinadas realizaciones, el porcentaje en peso del poliol es de aproximadamente el 4 % (p/p). En realizaciones adicionales, el porcentaje en peso del poliol es de aproximadamente el 2 % (p/p).
- En algunas realizaciones, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 0,1 % (p/p) y aproximadamente el 7 % (p/p), desde aproximadamente el 0,5 % (p/p) hasta aproximadamente el 10 % (p/p), o desde aproximadamente el 1 % (p/p) hasta aproximadamente el 7 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica. En determinadas realizaciones, el porcentaje en peso de manitol es de aproximadamente el 4 % (p/p).
- El término “peso total”, tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones, al peso de la composición farmacéutica que comprende el medio fluido. En realizaciones adicionales, el término “peso total” se refiere al peso de la suspensión farmacéuticamente aceptable.
- En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad en el intervalo de aproximadamente 200 a aproximadamente 600 mOsm. En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad en el intervalo de desde aproximadamente 250 hasta aproximadamente 500 mOsm. En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad en el intervalo de desde aproximadamente 250 hasta aproximadamente 400 mOsm. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 300 mOsm. En determinadas de tales realizaciones, la composición farmacéutica es isotónica.
- En algunas realizaciones, la razón en peso entre los liposomas y el poliol que es manitol oscila entre aproximadamente 30:1 y aproximadamente 1:2. En realizaciones adicionales, la razón en peso entre los liposomas y el poliol oscila entre aproximadamente 15:1 y aproximadamente 2:1. En todavía realizaciones adicionales, la razón en peso entre los liposomas y el poliol oscila entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 2:1. En aún realizaciones adicionales, la razón en peso entre los liposomas y el poliol oscila entre aproximadamente 6:1 y aproximadamente 2:1. En realizaciones adicionales, la razón en peso entre los liposomas y el poliol oscila entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 6:1.
- En algunas realizaciones, la razón en peso entre los liposomas y el manitol oscila entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 1:1. En realizaciones adicionales, la razón en peso entre los liposomas y el manitol oscila entre aproximadamente 6:1 y aproximadamente 2:1. En determinadas realizaciones, la razón en peso entre los liposomas y el manitol es de aproximadamente 4:1.
- En algunas realizaciones, el pH de la composición farmacéutica puede ajustarse mediante el uso de un ácido o base inorgánico. Los ejemplos no limitativos de bases inorgánicas adecuadas incluyen hidróxido de sodio e hidróxido de potasio. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención.
- Según algunas realizaciones de la invención, el GPL comprende un grupo de cabeza de fosfocolina (fosfatidilcolina, lípido a base de PC) o un grupo de cabeza de fosfoglicerol (fosfatidilglicerol, lípido a base de PG), y el SPL es una ceramida (N-acil esfingosina que lleva un grupo de cabeza de fosfocolina, también denominada N-acil esfingosina-fosfocolina (lípido a base de SM)).

- Las PC y las SM son fosfolípidos zwitteriónicos con restos de colina catiónica y de fosfato de diéster aniónico (que constituyen el grupo de cabeza de fosfocolina). La parte hidrófoba de la PC y el PG incluye 2 cadenas hidrocarbonadas (por ejemplo, acilos y alquillos). La SM también tiene dos cadenas hidrocarbonadas hidrófobas de las cuales una es la cadena de la propia base esfingoide y la otra es la cadena de N-acilo. La PC, la SM y el PG en donde las cadenas hidrocarbonadas están por encima de 12 átomos de carbono son todos de forma cilíndrica ya que su parámetro de empaquetamiento está en el intervalo de 0,74-1,0. Conforman bicapas lipídicas que se hidratan altamente y se vesiculan para formar vesículas lipídicas (liposomas) por encima de la temperatura de transición de la fase SO a LD. Las bicapas de los liposomas de PC y PG pueden estar en una fase sólida ordenada (SO), o en un 5 fase líquida desordenada (LD). La transformación entre las fases SO a LD implica una transición de fase endotérmica, de primer orden denominada transición de fase principal. T_m es la temperatura en donde se produce el cambio máximo en el cambio de capacidad calorífica durante la transición de la fase SO a LD. T_m y el intervalo de temperatura de la transición de la fase SO a LD de los PL dependen, entre otros, de la composición de la cadena hidrocarbonada de PL. En la fase LD (pero no en la fase SO), el grupo de cabeza de fosfocolina y fosfoglicerol cargado están altamente hidratados.
- 10 En algunas realizaciones, el término “temperatura de transición de fase” se refiere a la T_m . En otras realizaciones, el término “temperatura de transición de fase” se refiere al intervalo de temperatura de la transición de fase SO a LD.
- 15 Se observa además que los PG y la SM tienen T_m que son similares a las de la PC correspondiente (la misma longitud de sustitución de cadena(s) hidrocarbonada(s)). Por ejemplo, la T_m de 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosforilglicerol (DMPG) es idéntica a la de la DMPC, concretamente, 23 °C, y la de 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosforilglicerol (DPPG) o N-palmitoil SM es idéntica a la de la DPPC, concretamente, 41 °C. Por tanto, aunque los 20 siguientes ejemplos usan principalmente lípidos a base de PC, el PL según la invención también puede ser un lípido a base de PG o SM.
- 25 Según los principios de la invención, puede usarse una mezcla de dos o más PL (por ejemplo, dos PC diferentes, una PC con PG, dos PG diferentes, dos SM, una PC o PG con SM, etc.), siempre que la mezcla formada esté en estado LD, cuando está *in situ* (por ejemplo, en la región articular de una articulación sana o disfuncional).
- 30 En algunas realizaciones particulares, el liposoma comprende una PC. En realizaciones particulares adicionales, el liposoma comprende una combinación de dos PC diferentes. En otras realizaciones particulares, el liposoma comprende una combinación de una PC y una SM.
- 35 En algunas realizaciones, los liposomas se caracterizan porque comprenden al menos una membrana que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de un glicerofosfolípido (GPL) que tiene dos cadenas hidrocarbonadas C₁₂-C₁₈, iguales o diferentes, y un esfingolípido (SPL) que tiene una cadena hidrocarbonada C₁₂-C₁₈. La temperatura de transición de fase en donde se produce la transición de fase sólida ordenada (SO) a la fase líquida desordenada (LD), está dentro de un intervalo de temperatura de aproximadamente 20 °C a 40 aproximadamente 39 °C. Los liposomas se usan para lubricar articulaciones que tienen una temperatura de articulación que es mayor que la temperatura de transición de fase. Por consiguiente, los liposomas están en una fase LD dentro de la articulación.
- 45 Se observa que las condiciones anteriores son acumuladas, concretamente, la selección de PL (ya sea un solo PL o una combinación de PL con PL adicionales) contenido en el liposoma es tal que el liposoma tendrá una temperatura de transición de la fase SO-LD entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 39 °C.
- 50 El GPL o SPL puede tener una cadena hidrocarbonada de alquilo, alquenilo o acilo de C₁₂ a C₁₈. En el caso del GPL, las dos cadenas pueden ser iguales o diferentes. En algunas realizaciones, el GLP tiene cadenas hidrocarbonadas C₁₂-C₁₆. En realizaciones adicionales, el SPL tiene cadenas hidrocarbonadas C₁₂-C₁₆.
- 55 Una realización particular se refiere a la composición farmacéutica que comprende liposomas que tienen GPL o SPL con al menos una cadena de acilo C₁₄. Otra realización particular se refiere a la composición farmacéutica que comprende liposomas que tienen GPL o SPL con al menos una cadena de acilo C₁₅. Aún otra realización particular se refiere a la composición farmacéutica que comprende GPL que tienen al menos uno de cadenas de acilo C₁₄, C₁₅, C₁₆ y C₁₈. Todavía otra realización particular se refiere a la composición farmacéutica que comprende liposomas que tienen SPL con una cadena de acilo C₁₆.
- 60 En algunas realizaciones, al menos una cadena hidrófoba C₁₂-C₁₈ o C₁₂-C₁₆ está saturada. En realizaciones adicionales tanto las cadenas hidrófobas C₁₂-C₁₈ como C₁₂-C₁₆ están saturadas.
- 65 En una realización, dichas cadenas hidrófobas C₁₂-C₁₈ o C₁₂-C₁₆ están insaturadas.
- Los ejemplos no limitativos de fosfolípidos que pueden estar presentes en el liposoma según los principios de la invención incluyen 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC, T_m ~24 °C); 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC, T_m 41,4 °C); 1,2-dipentadecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (C15, T_m 33,0 °C); 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC, T_m 55 °C); y N-palmitoil-D-*eritro*-esfingosilfosforilcolina (D-*eritro* C16, T_m 41,0 °C). Los valores de

T_m de diversos lípidos a base de PC se pueden encontrar en "ThermotropicPhaseTransitions of Pure Lipids in Model Membranes and Their Modifications by Membrane Proteins", John R. Silvius, Lipid-Protein Interactions, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1982, y también en la base de datos Lipid Thermotropic Phase Transition - LIPID AT, y en Marsh (1990).

- 5 Según algunas realizaciones, cuando se usa una mezcla de dos o más PL, la razón molar entre los mismos está diseñada de manera que la T_m de la combinación proporciona un liposoma en fase LD cuando la composición farmacéutica se administra a la articulación. En realizaciones adicionales, la razón molar se elige para proporcionar un liposoma que tenga una temperatura de transición de fase en el intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C.
- 10 En algunas realizaciones, el liposoma comprende DMPC. En realizaciones adicionales, el liposoma consiste esencialmente en DMPC. En todavía realizaciones adicionales, la al menos una membrana del liposoma consiste esencialmente en DMPC. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC incluye un agente de tonicidad que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del agente de tonicidad en el medio fuera del liposoma. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC incluye un poliol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del poliol en el medio fuera del liposoma. En todavía realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC incluye manitol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración de manitol en el medio fuera del liposoma.
- 15 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un liposoma que comprende una combinación de DMPC y una PC adicional. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un liposoma que comprende una combinación de DMPC y una SPM.
- 20 En algunas realizaciones, el porcentaje en moles de DMPC en la membrana del liposoma oscila entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 100 %. En realizaciones adicionales, el porcentaje en moles de DMPC en la membrana del liposoma oscila entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 80 %. En realizaciones adicionales, el porcentaje en moles de DMPC en la membrana del liposoma oscila entre aproximadamente el 10 % y aproximadamente el 75 %, desde aproximadamente el 15 % hasta aproximadamente el 70 %, desde aproximadamente el 20 % hasta aproximadamente el 65 %, desde aproximadamente el 25 % hasta aproximadamente el 60 %, desde aproximadamente el 30 % hasta aproximadamente el 55 %, desde aproximadamente el 35 % hasta aproximadamente el 50 %, desde aproximadamente el 5 % hasta aproximadamente el 15 %, desde aproximadamente el 20 % hasta aproximadamente el 30 %, desde aproximadamente el 5 % hasta aproximadamente el 30 %, desde aproximadamente el 40 % hasta aproximadamente el 50 %, o desde aproximadamente el 70 % hasta aproximadamente el 80 %. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención. En algunas realizaciones a modo de ejemplo, el porcentaje en moles de DMPC en la membrana del liposoma es de aproximadamente el 10 %. En otras realizaciones a modo de ejemplo, el porcentaje en moles de DMPC en la membrana del liposoma es de aproximadamente el 25 %. En realizaciones adicionales a modo de ejemplo, el porcentaje en moles de DMPC en la membrana del liposoma es de aproximadamente el 45 %. En realizaciones adicionales a modo de ejemplo, el porcentaje en moles de DMPC en la membrana del liposoma es de aproximadamente el 75 %
- 25 En algunas realizaciones, el liposoma comprende una combinación de DMPC y DPPC. En realizaciones adicionales, el liposoma consiste esencialmente en DMPC y DPPC. En todavía realizaciones adicionales, la al menos una membrana del liposoma consiste esencialmente en DMPC y DPPC. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y DPPC incluye un agente de tonicidad que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del agente de tonicidad en el medio fuera del liposoma. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y DPPC incluye un poliol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del poliol en el medio fuera del liposoma. En todavía realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y DPPC incluye manitol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración de manitol en el medio fuera del liposoma.
- 30 En algunas realizaciones, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DPPC está en el intervalo de aproximadamente 25:75 a aproximadamente 70:30. En realizaciones adicionales, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DPPC está en el intervalo de aproximadamente 30:70 a aproximadamente 65:25, desde aproximadamente 35:65 hasta aproximadamente 60:30, o desde aproximadamente 40:60 hasta aproximadamente 55:45. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención. En determinadas realizaciones, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DPPC es de aproximadamente 45:55. En realizaciones adicionales, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DPPC es de aproximadamente 25:75.
- 35 En algunas realizaciones, la temperatura de transición de fase del liposoma que comprende una combinación de DMPC y DPPC oscila entre aproximadamente 33 °C y aproximadamente 37 °C.
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

- En algunas realizaciones, el liposoma comprende una combinación de DMPC y C15. En realizaciones adicionales, el liposoma consiste esencialmente en DMPC y C15. En todavía realizaciones adicionales, la al menos una membrana del liposoma consiste esencialmente en DMPC y C15. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y C15 incluye un agente de tonicidad que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del agente de tonicidad en el medio fuera del liposoma. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y C15 incluye un poliol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del poliol en el medio fuera del liposoma. En todavía realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y C15 incluye manitol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración de manitol en el medio fuera del liposoma.
- En algunas realizaciones, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a C15 está en el intervalo de aproximadamente 15:85 a aproximadamente 55:45. En realizaciones adicionales, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a C15 está en el intervalo de aproximadamente 25:75 a aproximadamente 45:55. En determinadas realizaciones, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a C15 es de aproximadamente 45:55. En realizaciones adicionales, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a C15 es de aproximadamente 25:75.
- En algunas realizaciones, la temperatura de transición de fase del liposoma que comprende una combinación de DMPC y C15 oscila entre aproximadamente 29 °C y aproximadamente 31 °C.
- En algunas realizaciones, la al menos una membrana comprende DMPC y DSPC. En realizaciones adicionales, el liposoma consiste esencialmente en DMPC y DSPC. En todavía realizaciones adicionales, la al menos una membrana del liposoma consiste esencialmente en DMPC y DSPC. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y DSPC incluye un agente de tonicidad que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del agente de tonicidad en el medio fuera del liposoma. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y DSPC incluye un poliol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del poliol en el medio fuera del liposoma. En todavía realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y DSPC incluye manitol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración de manitol en el medio fuera del liposoma.
- En algunas realizaciones, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DSPC es de aproximadamente 75:25.
- En algunas realizaciones, la temperatura de transición de fase del liposoma que comprende una combinación de DMPC y DSPC es de aproximadamente 27 °C.
- En algunas realizaciones, el liposoma comprende una combinación de DMPC y *D-eritro* C16. En realizaciones adicionales, el liposoma consiste esencialmente en DMPC y *D-eritro* C16. En todavía realizaciones adicionales, la al menos una membrana del liposoma consiste esencialmente en DMPC y *D-eritro* C16. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y *D-eritro* C16 incluye un agente de tonicidad que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del agente de tonicidad en el medio fuera del liposoma. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y *D-eritro* C16 incluye un poliol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del poliol en el medio fuera del liposoma. En todavía realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en DMPC y *D-eritro* C16 incluye manitol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración de manitol en el medio fuera del liposoma.
- En algunas realizaciones, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a *D-eritro* C16 está en el intervalo de aproximadamente 5:95 a aproximadamente 50:50. En realizaciones adicionales, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a *D-eritro* C16 está en el intervalo de aproximadamente 10:90 a aproximadamente 45:55, desde aproximadamente 10:90 hasta aproximadamente 40:60, desde aproximadamente 10:90 hasta aproximadamente 35:65, desde aproximadamente 10:90 hasta aproximadamente 30:70, o desde aproximadamente 10:90 hasta aproximadamente 25:75. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención. En algunas realizaciones, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a *D-eritro* C16 está en el intervalo de aproximadamente 5:95 a aproximadamente 50:50. En algunas realizaciones a modo de ejemplo, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a *D-eritro* C16 es de aproximadamente 10:90. En otras realizaciones a modo de ejemplo, la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a *D-eritro* C16 es de aproximadamente 25:75.
- En algunas realizaciones, la temperatura de transición de fase del liposoma que comprende una combinación de DMPC y *D-eritro* C16 oscila entre aproximadamente 27 °C y 32 °C.
- En algunas realizaciones, el liposoma comprende C15. En realizaciones adicionales, el liposoma consiste esencialmente en C15. En todavía realizaciones adicionales, la al menos una membrana del liposoma consiste esencialmente en C15. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en C15 incluye un agente de tonicidad que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del agente de tonicidad en el medio fuera del liposoma.

concentración del agente de tonicidad en el medio fuera del liposoma. En realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en C15 incluye un poliol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración del poliol en el medio fuera del liposoma. En todavía realizaciones adicionales, el liposoma que consiste esencialmente en C15 incluye manitol que tiene una concentración dentro del liposoma que es esencialmente la misma que la concentración de manitol en el medio fuera del liposoma.

5 La concentración total de PL en la composición farmacéutica según algunas realizaciones de la invención oscila entre aproximadamente 20 mM y aproximadamente 500 mM. En realizaciones adicionales, la concentración oscila entre aproximadamente 50 mM y aproximadamente 300 mM. En todavía realizaciones adicionales, la concentración oscila entre aproximadamente 100 mM y aproximadamente 200 mM. En aún realizaciones adicionales, la concentración oscila entre aproximadamente 130 mM y aproximadamente 170 mM. En determinadas realizaciones, la concentración total de PL es de aproximadamente 150 mM.

10 En algunas realizaciones, la concentración total de PL oscila entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 500 mg/ml. En realizaciones adicionales, la concentración oscila entre aproximadamente 30 mg/ml y aproximadamente 300 mg/ml. En todavía realizaciones adicionales, la concentración oscila entre aproximadamente 50 mg/ml y aproximadamente 200 mg/ml. En determinadas realizaciones, la concentración total de PL es de aproximadamente 100 mg/ml.

15 En algunas realizaciones, los fosfolípidos que forman los liposomas están presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 0,1 % (p/p) y aproximadamente el 40 % (p/p), desde aproximadamente el 0,5 % (p/p) hasta aproximadamente el 30 % (p/p), desde aproximadamente el 3 % (p/p) hasta aproximadamente el 30 % (p/p), o desde aproximadamente el 1 % (p/p) hasta aproximadamente el 20 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica. En determinadas realizaciones, los fosfolípidos que forman los liposomas están presentes en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 10 % (p/p).

20 Según algunas realizaciones, los liposomas adecuados para su uso en la composición farmacéutica de la presente invención no incluyen en sus bicapas un esterol activo de membrana, tal como colesterol. Debe observarse que la composición farmacéutica de la presente invención preferiblemente no contiene propilenglicol. Debe observarse además que la composición farmacéutica de la presente invención preferiblemente no contiene dextrano.

25 Adicionalmente, debe enfatizarse que los liposomas usados en la composición farmacéutica de la presente invención se usan en sí mismos como un principio activo y no como portador de un determinado agente farmacéuticamente activo. Como tal y como se mencionó anteriormente, las composiciones farmacéuticas según los principios de la presente invención están esencialmente libres de un agente farmacéuticamente activo adicional. La expresión "esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional", tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones a la composición farmacéutica que incluye menos de una cantidad terapéuticamente eficaz del agente farmacéuticamente activo, que es conocido para su uso en lubricación articular, tratamiento de disfunción articular, reducción del dolor articular, irritación y/o desgaste, o cualquier combinación de los mismos. La expresión "conocido para su uso", tal como se usa en el presente documento, se refiere en algunas realizaciones, a agentes farmacéuticamente activos aprobados para el uso indicado en el momento de la invención. En realizaciones adicionales, la expresión "conocido para su uso" se refiere a agentes farmacéuticamente activos que serán aprobados para el uso indicado en el futuro. En todavía realizaciones adicionales, la expresión "conocido para su uso" se refiere a agentes farmacéuticamente activos que se mencionan en la bibliografía científica y/o en las patentes como que son adecuados para el uso indicado.

30 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención no incluye un agente farmacéuticamente activo que es un agente de lubricación, tal como, entre otros, glicosaminoglicano o una sal, éster o derivado farmacéuticamente aceptable del mismo. En determinadas realizaciones, dicho glicosaminoglicano es ácido hialurónico o una sal o un éster que contiene hialuronano. En determinadas realizaciones, el ácido hialurónico no está encapsulado dentro del liposoma. Adicional o alternativamente, el ácido hialurónico no debe dispersarse en el medio fluido. En algunas realizaciones actualmente preferidas, la composición farmacéutica está esencialmente exenta de ácido hialurónico, o una sal o un éster farmacéuticamente aceptable del mismo. La expresión "esencialmente libre", tal como se usa en relación con ácido hialurónico, se refiere en algunas realizaciones a la composición farmacéutica que incluye menos de una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido hialurónico o su sal o éster. En realizaciones adicionales, la expresión "esencialmente libre" se refiere a la composición farmacéutica que incluye menos de una cantidad detectable de ácido hialurónico o su sal o éster.

35 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención no incluye un agente farmacéuticamente activo que es un agente de lubricación seleccionado de proteína de zona superficial (SZP), lubricina, proteoglicano 4 y análogos y derivados de los mismos.

40 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención no incluye un agente farmacéuticamente activo que es un agente antiinflamatorio, tal como xilitol, betametasona, prednisolona, piroxicam, aspirina, flurbiprofeno, salsalato de (+)-N- f 4-[3-(4-fluorofenoxi)fenoxi]-2-ciclopenten-1-il}-N-hidroxiurea, diflunisal, ibuprofeno, fenoprofeno, fenamato, ketoprofeno, nabumetona, naproxeno, diclofenaco, indometacina, sulindac,

tolmetina, etodolaco, ketorolaco, oxaprozina, celecoxib, meclofenamato, ácido mefenámico, oxifenbutazona, fenilbutazona, salicilatos, o agentes de tipo fitoestrogenosina.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención no incluye un agente farmacéuticamente activo que es un agente antiviral, tal como aciclovir, nelfinavir o Virazole.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención no incluye un agente farmacéuticamente activo que es un antibiótico, incluyendo antibióticos que pertenecen a la familia de penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídicos, macrólidos, carbapenem y penem, beta-lactámico monocíclico, inhibidores de beta-lactamasas y tetraciclinas, antibióticos polipeptídicos, cloranfenicol y derivados, ionóforospoliétericos y quinolonas. Los ejemplos no limitativos de tales antibióticos incluyen ampicilina, dapsona, cloranfenicol, neomicina, cefaclor, cefadroxil, cefalexina, cefradina, eritromicina, clindamicina, lincomicina, amoxicilina, ampicilina, bacampicilina, carbenicilina, dicloxacilina, ciclacicilina, picloxacilina, hetacilina, meticilina, naftilina, oxacilina, penicilina G, penicilina V, ticarcilina, Rifampin, tetraciclina, ácido fusídico, lincomicina, novobiocina y espectinomicina.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención no incluye un agente farmacéuticamente activo que es un agente antiinfeccioso, tal como cloruro de benzalconio o clorhexidina.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención no incluye un agente farmacéuticamente activo que es un esteroide. El término "esteroide", tal como se usa en el presente documento, se refiere a esteroides que se producen de manera natural y sus derivados, así como análogos de esteroides sintéticos o semisintéticos que tienen actividad similar a esteroides. El esteroide puede ser un glucocorticoide o corticosteroide. Los ejemplos de esteroides naturales y sintéticos específicos incluyen, pero no se limitan a: aldosterona, beclometasona, betametasona, budesonida, clopredol, cortisona, cortivazol, desoxicortona, desonida, desoximetasona, dexametasona, difluorocortolona, fluclorolona, flumetasona, flunisolida, fluocinolona, fluocinonida, fluocortina butilo, fluorocortisona, fluorocortolona, fluorometolona, flurandrenolona, fluticasona, halcinonida, hidrocortisona, icometasona, meprednisona, metilprednisolona, parametasona, prednisolona, prednisona, tixocortol o triamcinolona, y sus respectivas sales o derivados farmacéuticamente aceptables.

Según algunas realizaciones, los fosfolípidos se usan en la composición farmacéutica de la presente invención como un único principio activo.

Según algunas realizaciones, la composición farmacéutica consiste esencialmente en el agente de tonicidad no iónico que comprende un poliol y los liposomas, tal como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la expresión "que consiste esencialmente en" se refiere a una composición cuyo único principio activo es el principio activo indicado (es decir, liposomas), sin embargo, pueden incluirse otros compuestos que son para estabilizar, conservar o controlar la osmolaridad, viscosidad y/o el pH de la formulación, pero no están implicados directamente en el efecto terapéutico de los liposomas y/o fosfolípidos. En algunas realizaciones, la expresión "que consiste" se refiere a una composición, que contiene los liposomas, el agente de tonicidad y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas según las diversas realizaciones de la invención pueden esterilizarse y, si se desea, mezclarse con agentes auxiliares, por ejemplo, conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes sintéticos, sales adicionales para influir en la presión osmótica, sustancias colorantes y/o aromáticas y similares que no reaccionan de forma perjudicial con los liposomas.

El GPL, SPL o sus combinaciones forman liposomas, preferiblemente liposomas con un diámetro medio mayor de aproximadamente 0,3 µm, mayor de aproximadamente 0,5 µm, mayor de aproximadamente 0,8 µm, o mayor de aproximadamente 1 µm. El diámetro medio de los liposomas puede ser inferior a aproximadamente 10 µm, 8 µm, 7 µm, 6 µm o 5 µm. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención. Según algunas realizaciones, los liposomas tienen un diámetro medio en el intervalo de entre aproximadamente 0,3 µm y 10 µm. Según realizaciones adicionales, los liposomas tienen un diámetro medio en el intervalo de entre aproximadamente 0,5 µm y 9 µm. Según todavía realizaciones adicionales, los liposomas tienen un diámetro medio en el intervalo de entre aproximadamente 1 µm y 8 µm. Según aún realizaciones adicionales, los liposomas tienen un diámetro medio en el intervalo de entre aproximadamente 3 µm y 5 µm.

Los términos "diámetro medio" y "tamaño medio de partícula" se usan en el presente documento de manera intercambiable, haciendo referencia, en algunas realizaciones al diámetro medio de un liposoma derivado de la distribución del tamaño de partícula basado en un modelo de distribución de número. En algunas realizaciones, dichos términos se refieren al diámetro medio de un liposoma derivado de la distribución del tamaño de partícula basado en un modelo de distribución de volumen. En realizaciones adicionales, dichos términos se refieren al diámetro medio de un liposoma derivado de la distribución del tamaño de partícula basado en un modelo de distribución de área superficial. Puede determinarse la distribución del tamaño de partícula, entre otros, mediante difracción de la luz láser y/o mediante un método de contador Coulter.

Los liposomas pueden ser un liposoma de una sola membrana o pueden ser, según algunas realizaciones, liposomas de vesículas multilaminares (MLV). Según otras realizaciones, los liposomas también pueden ser liposomas grandes de vesículas multivesiculares (LMVV) o vesículas rehidratadas deshidratadas (DRV).

- 5 En algunas realizaciones actualmente preferidas, los liposomas son vesículas multilaminares (MLV). En determinadas de tales realizaciones, los liposomas tienen más de una membrana.

Según una realización, las MLV se definen por un diámetro medio en el intervalo de entre 0,3 µm y 10 µm. Según otra realización, las MLV se definen por un diámetro medio en el intervalo de entre 0,5 µm y 9 µm. Según todavía 10 realizaciones adicionales, las MLV se definen por un diámetro medio en el intervalo de entre aproximadamente 1 µm y 8 µm. Según aún realizaciones adicionales, las MLV se definen por un diámetro medio en el intervalo de entre aproximadamente 3 µm y 5 µm

15 En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un poliol que es manitol y liposomas de MLV, cuyas membranas consisten esencialmente en DMPC y DPPC. En una realización adicional, la composición farmacéutica comprende manitol y liposomas de MLV, cuyas membranas consisten esencialmente en DMPC y DPPC. En una realización adicional, la concentración de manitol oscila entre aproximadamente 1 y 20 aproximadamente 70 mg/ml. En aún otra realización, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad en el intervalo de desde aproximadamente 200 hasta aproximadamente 600 mOsm. En todavía otra realización, la razón en peso entre los liposomas y el manitol oscila entre aproximadamente 6:1 y aproximadamente 2:1.

25 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende manitol y liposomas de MLV, cuyas membranas consisten esencialmente en DMPC y DPPC. En algunas realizaciones, la DMPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 20 % (p/p) y aproximadamente el 40 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En una determinada realización, la DMPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 30 % (p/p). En algunas realizaciones, la DPPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 30 % (p/p) y aproximadamente el 60 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En una determinada 30 realización, la DPPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 40 % (p/p). En algunas realizaciones, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 20 % (p/p) y aproximadamente el 40 % (p/p) del peso seco de la composición farmacéutica. En una determinada realización, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 30 % (p/p).

35 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende manitol y liposomas, cuyas membranas consisten esencialmente en DMPC y DPPC, comprende además tampón de histidina como medio fluido. En realizaciones adicionales, la DMPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 1 % (p/p) y aproximadamente el 10 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica. En una determinada realización, la DMPC está presente en la composición farmacéutica en un 40 porcentaje en peso de aproximadamente el 4 % (p/p). En algunas realizaciones, la DPPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 2 % (p/p) y aproximadamente el 12 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica. En una determinada realización, la DPPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 5 % (p/p). En algunas realizaciones, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre aproximadamente el 1 % (p/p) y aproximadamente el 7 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica. En una determinada realización, el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso de aproximadamente el 4 % (p/p).

50 La composición farmacéutica según diversas realizaciones de la invención puede usarse para la preparación de una sustitución de PL de cartílago que se producen de manera natural, concretamente como lubricante articular y/o reductor de desgaste.

55 Se observa que la temperatura de las articulaciones en pacientes que padecen lubricación articular reducida o con desgaste articular, tal como la artrosis varía a medida que la enfermedad avanza [Hollander, J. L.; Moore, R., Studies in osteoarthritis using Intra-Articular Temperature Response tolInjection of Hydrocortisone. Ann. Rheum. Dis. 1956, 15, (4), 320-326]. De hecho, este cambio de temperatura se usó como una herramienta clínica para evaluar la inflamación de la artrosis [Thomas, D.; Ansell, B. M.; Smith, D. S.; Isaacs, R. J., Knee Joint Temperature Measurement using a Differential Thermistor Thermometer. Rheumatology 1980, 19, (1), 8-13]. En las articulaciones de la mano de pacientes con artrosis, se demostró que la temperatura varía de ~28 a ~33 °C [Varju, G.; Pieper, C. F.; Renner, J. B.; Kraus, V. B., Assessment of handosteoarthritis: correlation between thermographic and radiographic methods. Rheumatology 2004, 43, 915-919], mientras que la temperatura de una articulación temporomandibular sana (TMJ) varía entre desde ~35 hasta 37 °C [Akerman, S.; Kopp, S., Intra-articular and skin surface temperature of human temporomandibular joint. Scand. J. Dent. Res. 1987, 95, (6), 493-498].

65 Por tanto, según los principios de la invención es esencial y, de hecho, un prerequisito que los PL o la mezcla de los mismos estén en una fase LD, *in situ*, en la región articular para lubricarse con los mismos. En algunas

- realizaciones, los liposomas tienen una temperatura de desviación (límite superior) de la transición de fase SO a LD que no es superior a 15 °C de la temperatura *in situ*, es decir, en la articulación, dentro del intervalo de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C. Según los principios de la invención, los liposomas se forman a partir de GPL, SPL o su combinación, y la temperatura de transición de la fase SO a LD descrita anteriormente se refiere por tanto a liposomas que se forman a partir de GPL, SPL y combinaciones de los mismos, proporcionando así un liposoma en donde los PL o su mezcla están en fase LD.
- En determinadas realizaciones, el agente de tonicidad no iónico que comprende un poliol que es manitol no afecta a la temperatura de transición de fase de los liposomas. En realizaciones adicionales, la temperatura de transición de fase de los liposomas combinados con el agente de tonicidad no iónico que comprende un poliol que es manitol difiere de la temperatura de transición de fase de los liposomas solo por no más de aproximadamente el 10 %.
- En todavía realizaciones adicionales, la temperatura de transición de fase de los liposomas combinados con el agente de tonicidad no iónico que comprende un poliol que es manitol difiere de la temperatura de transición de fase de los liposomas solo por no más de aproximadamente el 5 %.
- La composición farmacéutica de la invención puede usarse para tratar, aliviar, retardar, prevenir, manejar o curar cualquier trastorno articular o síntomas derivados del mismo que esté asociado con disfunción articular. El término "trastorno articular", tal como se usa en el presente documento, debe tenerse en cuenta que significa cualquier aflicción (congénita, autoinmunitaria o de otro modo), lesión o enfermedad de la región articular que provoca degeneración, dolor, reducción de movilidad, inflamación, irritación o alteración fisiológica y disfunción de las articulaciones. El trastorno puede asociarse con la reducción de la secreción y la lubricación articular, así como de las complicaciones de artroplastia de rodilla y cadera.
- La articulación según los principios de la invención puede ser una cualquiera de la rodilla, cadera, tobillo, hombro, codo, tarsal, carpiana, interfalángica e intervertebral. Cada posibilidad representa una realización independiente de la invención. En determinadas realizaciones, dicha articulación es una articulación de rodilla.
- Los trastornos articulares específicos incluyen, pero no se limitan a, deficiencias de la secreción y/o lubricación articular que surge de la artritis, incluyendo las afecciones de la erosión articular en la artritis reumatoide, artrosis, artrosis en pacientes con artritis reumatoide, lesión articular traumática (incluyendo la lesión deportiva), articulación bloqueada (tal como en la articulación temporomandibular (TMJ)), estado tras la artrocentesis, cirugía artroscópica, cirugía abierta articular, articulación (por ejemplo, artroplastia de rodilla o cadera) en mamíferos, preferiblemente seres humanos. Un trastorno preferido a tratar o prevenir mediante el uso de la composición farmacéutica de la invención es la artrosis.
- En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica es para la reducción del dolor de la articulación de la rodilla en pacientes con artrosis.
- La composición farmacéutica de la presente invención podría usarse como una medida profiláctica para prevenir daños o degeneración futuros. Por ejemplo, la composición farmacéutica podría administrarse de manera intraarticular a los atletas de manera intermitente a lo largo de su carrera para minimizar el riesgo de lesión relacionada con la sobrecarga o degeneración del cartílago.
- La composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse exclusiva o como complemento de agentes antiinflamatorios, agentes analgésicos, relajantes musculares, antidepresivos o agentes que promueven la lubricación articular comúnmente usados para tratar trastornos asociados con la rigidez articular, tales como artritis. Un enfoque terapéutico combinado es beneficioso para reducir los efectos secundarios asociados con agentes, tales como fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), comúnmente usados para prevenir, manejar o tratar trastornos tales como artrosis asociada con lubricación articular reducida. Además de mejorar la seguridad, un enfoque terapéutico combinado también puede ser ventajoso para aumentar la eficacia del tratamiento.
- En algunas realizaciones, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para administración parenteral. La administración parenteral de la composición farmacéutica de la invención en una cavidad articular de un paciente puede realizarse mediante un método elegido del grupo que consiste en inyección intraarticular, administración artroscópica o administración quirúrgica. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica se formula en una forma adecuada para la administración por una vía seleccionada de inyección intraarticular, administración artroscópica o mediante administración quirúrgica. Una de las características beneficiosas de la composición farmacéutica descrita es la presencia del agente de tonicidad, que ajusta la osmolalidad de la composición liposomal a un valor fisiológico, reduciendo de ese modo los efectos secundarios asociados con la administración intraarticular.
- La composición farmacéutica según las diversas realizaciones de la invención puede administrarse en una dosis de aproximadamente 0,5 ml a aproximadamente 10 ml. En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica se administra en una dosis de desde aproximadamente 1 ml hasta aproximadamente 6 ml. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica se administra en una dosis de aproximadamente 3 ml.

- En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 350 mg de manitol. En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 40 mg hasta aproximadamente 250 mg de manitol. En una determinada realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 120 mg de manitol. En otra realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 40 mg de manitol. En una realización adicional, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 250 mg de manitol.
- En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 50 mg hasta aproximadamente 1000 mg de fosfolípidos. En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 100 mg hasta aproximadamente 800 mg de fosfolípidos. En una determinada realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 300 mg de fosfolípidos. En otra determinada realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 100 mg de fosfolípidos. En una realización adicional, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 600 mg de fosfolípidos.
- En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 30 mg hasta aproximadamente 550 mg de DPPC. En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 50 mg hasta aproximadamente 500 mg de DPPC. En una determinada realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 180 mg de DPPC. En otra realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 60 mg de DPPC. En una realización adicional, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 365 mg de DPPC.
- En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 450 mg de DMPC. En algunas realizaciones, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende de desde aproximadamente 40 mg hasta aproximadamente 300 mg de DMPC. En una determinada realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 140 mg de DPPC. En otra realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 45 mg de DPPC. En una determinada realización, una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende aproximadamente 275 mg de DPPC.
- La composición farmacéutica puede distribuirse en viales o en inyecciones individuales o cualquier otra forma conveniente para uso práctico.
- Los sujetos a los que se contempla la administración de las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen mamíferos, tales como, pero sin limitarse a, seres humanos y otros primates.
- A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta memoria descriptiva, las formas singulares "un/uno" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, una referencia a "un PL" es una referencia a uno o más PL y "un liposoma" se refiere a uno o más liposomas. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta memoria descriptiva, las formas plurales de palabras también incluyen referencias en singular, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Debe observarse que el término "y" o el término "o" se emplea generalmente en su sentido que incluye "y/o" a menos que el contenido indique claramente lo contrario.
- Sin embargo, a lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta memoria descriptiva, las palabras "comprender" y "contener" y variaciones de las expresiones, por ejemplo "que comprende" y "comprende", significan "que incluye pero no se limita a", y no están destinados a (y no) excluyen otros restos, aditivos, componentes, números enteros o etapas.
- Tal como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente", cuando se refiere a un valor medible tal como una cantidad, una duración temporal y similares, pretende abarcar variaciones de +/-10 %, más preferiblemente +/-5 %, incluso más preferiblemente +/-1 %, y todavía más preferiblemente +/-0,1 % del valor especificado, ya que tales variaciones son apropiadas para realizar los métodos descritos.
- Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar más completamente algunas realizaciones de la invención. Sin embargo, no deben interpretarse de ninguna manera como limitativos del amplio alcance de la invención.

Ejemplos

Materiales y métodos

Materiales

5 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC 14:0, cat: 556200), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC 16:0, cat: 556300) se obtuvieron de Lipoid (Ludwigshafen, Alemania). 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC 18:0, cat: 850365P), 1,2-dipentadecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (C15 (también abreviada en el presente documento como PC (15:0)), cat: 850350P) se obtuvieron de Avanti Polar Lipids (Alabaster, AL, EE. UU.). N-palmitoil-D-eritrosfingosilosforilcolina (palmitoil esfingomielina, *D*-eritro C16 (también abreviado en el presente documento C16 SPM), cat: 16608050) se obtuvo de Bio-Lab Ltd. (Jerusalén, Israel)

10 Se obtuvo agua altamente pura (resistencia de 18,2 megaohmios) usando el HPLC WaterPro PS/UltrafilterHybridSystem (Labconco, Kansas City, MO). Se obtuvo etanol de calidad HPLC de BioLabLtd, Jerusalén, Israel. Todos los monoclorhidrato de L-histidina monohidratado, hidróxido de sodio (NaOH) y D-manitol se obtuvieron de Merck (Darmstadt, Alemania). Se obtuvo glicerol de Merck, n.º de cat. 1.04093. El cloruro de sodio se obtuvo de J. T. Baker, n.º de cat. 4058-02

15 Métodos

Preparación de composiciones hipotónicas que comprenden liposomas de MLV

20 Se disolvió una mezcla de los fosfolípidos deseados en 2,5 ml de etanol hasta una concentración de 180 mM. Esta disolución se agitó con vórtex y se colocó en un baño de agua (60 °C) durante ~20 minutos. La agitación se repitió varias veces hasta que los fosfolípidos se disolvieron completamente. La disolución etanólica se transfirió a 10 ml de tampón de histidina caliente 10 mM o 7,5 mM (pH 6,5) se mezcló vigorosamente mediante agitación con vórtex durante 2 min para hidratar los lípidos y formar una dispersión de las MLV deseadas.

25 30 35 El etanol se eliminó mediante 5 ciclos de centrifugación y reemplazo de tampón frío a 4 °C. Para los sistemas liposomales que consisten en PC, se centrifugó a 3000 rpm, durante 40 minutos en el 1er ciclo y 30 minutos a 4000 rpm en ciclos posteriores. Para los sistemas liposomales que comprenden SPL, se centrifugó a 4000 rpm, durante 50 minutos dos veces con una noche en reposo entre en el 1er ciclo, y dos veces durante 40 minutos a 4000 rpm en los ciclos 2 y 3. Los ciclos 4 y 5 se realizaron durante 60 min a 4000 rpm. La monitorización en la eliminación de etanol se realizó mediante mediciones de osmolalidad. Después de cada reemplazo de tampón frío, los sedimentos se resuspendieron usando una pipeta estéril para aflojar el sedimento pegajoso, luego los tubos se cerraron firmemente y se agitaron con vórtex durante 2 minutos. El procedimiento de centrifugación y la sustitución de la disolución se repitieron hasta que la osmolalidad en la mezcla fue menor que 50 mOsm. Se midió la presión osmótica de HB (10 mM, 7,5 mM) y se encontró que era de 26 y 19 mOsm, respectivamente. MLV se almacenaron a 2-8 °C hasta su análisis.

Preparación de composiciones isotónicas que comprenden liposomas de MLV y un agente de tonicidad

40 Los liposomas se prepararon tal como se ha descrito anteriormente. La disolución etanólica de los liposomas se transfirió a 10 ml de tampón de histidina 13,5 mM caliente (pH 6,5) que comprende un agente de tonicidad seleccionado de manitol, glicerol y cloruro de sodio y se mezcló vigorosamente mediante agitación con vórtex durante 2 min para hidratar los lípidos y formar una dispersión de las MLV deseadas.

45 Las concentraciones de los agentes de tonicidad en el tampón de histidina fueron las siguientes: Glicerol - 235 mM; Manitol - 234 mM; y NaCl - 131 mM.

No se reivindican glicerol y NaCl, pero se ejemplifican en el presente documento para fines comparativos.

50 55 El procedimiento de centrifugación y la sustitución de la disolución se repitieron hasta que la osmolalidad en la mezcla fue de aproximadamente 300 mOsm. Las composiciones se almacenaron a 2-8 °C hasta su análisis.

Caracterización de liposomas de MLV

60 La concentración de fosfolípidos se determinó usando un método de Bartlett modificado [Barenholz, Y. y S. Amselem, Quality control assays in the development and clinical use of liposome-based formulations. Liposomes technology, 1993. 1: páginas 527-616]. La distribución de tamaño de liposoma se determinó mediante un analizador de tamaño de partícula por difracción láser (LS13320 Beckman Coulter), que permite medir el tamaño de partícula en el intervalo de 40 nm a 2 mm. También se usó un método de contador Coulter (que se basa en la medición de los cambios en la conductancia eléctrica a medida que las partículas suspendidas en un fluido conductor pasan a través de un pequeño orificio) para la determinación de la distribución de tamaños.

El modelo de cartílago sobre cartílago *ex vivo* para la evaluación de la eficiencia de lubricación

65 El cartílago articular normal de los donantes (edades: varón 70 años y mujeres 68, 72, 81, 87, 98 años) se obtuvieron de las operaciones de fracturas de cabeza femoral en el Centro médico Hadassah, Jerusalén. El tejido se congeló a -20 °C hasta que se analizó.

El líquido sinovial se agrupó de 8 donantes en el Centro Médico Hadassah, Jerusalén.

5 Los reactivos usados para la preparación de muestras de cartílago incluyeron Superglue (adhesivo de cianoacrilato, 3 g), NaCl (Bio Lab LTD, Israel, 19030291 n.º de cat: 19030291, lote n.º: 57747), y etanol (Frutarom, Israel, n.º de cat.: 5551640, lote n.º: 26141007).

10 Las muestras se prepararon en el laboratorio de Cartilage and Joints Diseases, Department of Biomedical Engineering Technion, IIT, Haifa, Israel. Las pruebas se realizaron en Shamban & Microsystems Tribology Laboratories, the Department of Mechanical Engineering Technion, IIT, Haifa, Israel. El aparato interno para mediciones de fricción se equipó con una celda de carga con un sistema de medición de extensómetro (HBM Z8, Alemania) y software LabView (National Instruments, EE. UU.).

15 El aparato se configuró como sigue. Los tapones de cartílago se prepararon y fijaron. A partir de cada cartílago, se prepararon 10-20 tapones, de 4 mm o 8 mm de diámetro. Estos tapones se asignaron al azar a las diversas formulaciones sometidas a prueba. Los tapones de 8 mm se montaron en el aparato en el soporte fijo y se sumergieron en una disolución que contenía 2 ml de líquido sinovial (SF) y la disolución sometida a prueba en una razón de 1:1 (v/v). Los tapones de 4 mm se fijaron en el pistón superior.

20 Mediciones: El ensayo de fricción se realizó con múltiples repeticiones en presencia de las diferentes muestras sometidas a prueba. Para cada medición, el tapón superior se colocó sobre el tapón inferior y después de un intervalo de permanencia de varios segundos, se midió el coeficiente de fricción. Para cualquier par dado de tapones, se realizaron no menos de 10 mediciones independientes, girándose los tapones antes de cada prueba posterior para proporcionar condiciones similares en todas las repeticiones.

25 El coeficiente de fricción estática se determinó en condiciones tribológicas específicas de carga aplicada, velocidad de deslizamiento, tiempo de permanencia y temperatura, tal como se muestra en la tabla 1:

30 Tabla 1: Condiciones experimentales del modelo de cartílago sobre cartílago:

Carga Normal	30 N
Velocidad de deslizamiento	1 mm s ⁻¹
Tiempo de permanencia (duración de carga antes de iniciar el deslizamiento)	5 s
Distancia de deslizamiento	5 mm
Temperatura lubricante	de 32 a 34 °C

40 Mediciones calorimétricas diferencial de barrido (DSC)

45 Para la determinación de la T_m de los diferentes sistemas liposomales, las muestras se sometieron a barrido usando MicroCal™ VP-DSC GE Healthcare Life Sciences (Uppsala, Suecia, ahora propiedad de Malvern R.U.). Muestras de MLV en HB y de una composición farmacéutica que comprende liposomas y manitol, a una concentración de fosfolípidos aproximadamente 20 mM, con HB o HB con manitol en la celda de referencia, se sometieron a barrido en el intervalo entre 10 °C y 75 °C, a la velocidad de calentamiento de 1 °C/min. Cada muestra estudiada se sometió a barrido tres veces a la misma velocidad, aumentando la temperatura desde 10 °C hasta 75 °C (barrido 1), disminuyendo la temperatura desde 75 °C hasta 10 °C (barrido 2) y aumentando de nuevo la temperatura desde 10 °C hasta 75 °C (barrido 3). El procesamiento de los datos calorimétricos se realizó mediante el software Origin® 7.0. T_{on} y T_{off} de la transición de fase principal se determinaron extrapolando una línea recta para definir el intervalo de temperatura de la transición de fase principal. Para el sistema F1, se realizó un análisis adicional mediante el modelo de ajuste: MN2State debido a un "hombro" amplio en el pico 2.

55 Ejemplo 1-Efecto del agente de tonicidad sobre las propiedades de lubricación de la composición farmacéutica liposomal

60 La lubricación de cartílago por la composición farmacéutica que comprende un agente de tonicidad y liposoma se evaluó usando un modelo *ex vivo* de cartílago sobre cartílago. El modelo *ex vivo* de cartílago sobre cartílago ofrece un sistema experimental para someter a prueba el efecto relativo de las preparaciones de biolubricantes sobre el coeficiente de fricción estática. Este tipo de medición puede ser indicativo de la capacidad de diferentes lubricantes para reducir el coeficiente de fricción del cartílago. El modelo *ex vivo* de cartílago sobre cartílago utiliza un aparato donde se permite que dos tapones de cartílago humano fijos se deslicen uno sobre el otro mientras se sumergen en diferentes disoluciones lubricantes. El aparato permite la medición de la fricción estática entre las dos muestras de cartílago [Merkher Y y col. "A rational human joint friction test using a human cartilage-on-cartilage." Tribology Letters (2006): 29-36]. Este modelo se ha usado en el pasado para comparar el coeficiente de fricción de diferentes

composiciones liposomales [Sivan S . “Liposomes act as effective biolubricants for friction reduction in human synovial joints.”Langmuir (2010): 1107-16].

El presente experimento se diseñó para determinar las propiedades relativas de lubricación de las formulaciones liposomales que comprenden un agente de tonicidad, tal como se refleja en las mediciones del coeficiente de fricción estática y compararlas con la formulación liposomal hipotónica. La tabla 2 presenta las composiciones farmacéuticas, que se sometieron a prueba. La combinación liposomal elegida fue DMPC/DPPC con una razón en porcentaje en moles de 45:55.

10 Tabla 2: Composiciones liposomales hipotónicas e isotónicas

Formulación n.º	Fosfolípidos (razón en porcentaje en moles)	Agente de tonicidad	Medio fluido
1	DMPC/DPPC (45 : 55)	-	Tampón de histidina
2	DMPC/DPPC (45 : 55)	Glicerol	Tampón de histidina
3	DMPC/DPPC (45 : 55)	Manitol	Tampón de histidina
4	DMPC/DPPC (45 : 55)	NaCl	Tampón de histidina

20 No se reivindican glicerol y NaCl, pero se ejemplifican en el presente documento para fines comparativos. Las composiciones liposomales comprendían 183 mg de DPPC y 136 mg de DMPC dispersados en 3 ml de tampón de histidina (HB) 10 mM pH 6,5. Las composiciones liposomales que comprenden el tampón de histidina 10 mM tenían una osmolaridad de aproximadamente 50 mOsm (tabla 3). Por consiguiente, para aumentar la osmolaridad al nivel isotónico de aproximadamente 300 mOsm, la concentración del agente de tonicidad debe ajustarse para proporcionar aproximadamente un soluto 250 mM.

25 Se añadió manitol en la cantidad de 120 mg (el 4 % en peso o 40 mg/ml) para formar una composición isotónica. Se añadió glicerol en la cantidad de 61 mg (el 2 % en peso o 20 mg/ml). Se añadió cloruro de sodio en la cantidad de 30 21 mg.

30 La tabla 3 resume las propiedades fisicoquímicas de las diferentes composiciones liposomales. Las composiciones liposomales se prepararon con tres agentes de tonicidad diferentes, cada uno tiene una contribución igual a la osmolalidad total de la preparación. La isotonicidad de estas preparaciones fue de aproximadamente 300 mOsm. Se realizó una comparación entre los agentes de tonicidad iónicos (NaCl) y no iónicos (manitol y glicerol). También se sometió a prueba una composición liposomal hipotónica sin un agente de tonicidad (menos de 50 mOsm). El efecto del agente de tonicidad en la capacidad de lubricación de la composición liposomal se evaluó usando la configuración del modelo de cartílago sobre cartílago, tal como se describe en *Materiales y métodos*.

40 Tabla 3: Propiedades fisicoquímicas de las composiciones liposomales.

		Formulaciones isotónicas			
		Tampón	Manitol	Glicerol	NaCl
45	pH	6,6	6,4	6,4	6,4
	Osmolalidad (mOsm)	49	307	299	289
50	Tamaño de partícula por volumen (μm)	5,8	4,4	3,8	4,5
	Tamaño de partícula por área superficial (μm)	3,4	2,8	2,9	3,2
55	Tamaño de partícula por número (μm)	1,3	1,5	1,7	1,8
	DMPC de ensayo (mM)	66,4	67,5	70,2	69,6
60	DPPC de ensayo (mM)	81,7	82,1	84,7	83,3
	Concentración de fosfolípidos (mM)	148	150	155	153
65	Razón de porcentaje en moles DMPC/DPPC	55,2/44,8	45,1/54,9	45,3/54,7	45,5/54,5
	Liso-miristoilfosfatidilcolina (%)	NMT* 0,5	ND**	ND	ND
	Liso-palmitoilfosfatidilcolina (%)	NMT 0,5	ND	ND	ND
	Ácido mirístico (%)	0,27	ND	ND	ND
	Ácido palmítico (%)	0,27	0,06	0,04	ND

		Formulaciones isotónicas			
	Tampón	Manitol	Glicerol	NaCl	
5	Impurezas totales	LT*** 0,2	0,06	0,04	ND
* NMT-No más de ** ND-No detectado *** LT-menor que					

10 La tabla 4 presenta resultados preliminares de coeficientes de fricción estática promedio obtenidos en el experimento. La precisión de las repeticiones de mediciones es similar entre todas las formulaciones sometidas a prueba, tal como se refleja en la DE relativa.

15 Tabla 4: Propiedades de lubricación de las composiciones liposomales.

Formulación	Tampón	Glicerol	Manitol	NaCl
Número de repeticiones	53	55	56	50
Prom. Coeficiente de fricción estática	0,093	0,075	0,064	0,098
D.E.	0,025	0,020	0,022	0,026

25 No se reivindican glicerol y NaCl, pero se exemplifican en el presente documento para fines comparativos. La comparación de las formulaciones reveló que la preparación que contenía manitol presentó el coeficiente de fricción estática más bajo en comparación con otras formulaciones isotónicas. El coeficiente de fricción estática más bajo indica que la formulación de manitol posee propiedades de lubricación más altas. Sorprendentemente, se encontró que el coeficiente de fricción estática obtenido cuando se usa la formulación de manitol era de aproximadamente un 30 % menor que cuando se usó la composición liposomal hipotónica sin un agente de tonicidad. La formulación de glicerol también proporcionó una mejor lubricación (un coeficiente de fricción estática promedio aproximadamente un 20 % inferior en comparación con la formulación hipotónica). Por el contrario, la adición de la tonicidad iónica al agente de composición liposomal no mejoró la capacidad de lubricación del mismo.

35 Ejemplo 2-Efecto del agente de tonicidad sobre las propiedades termotrópicas de las composiciones farmacéuticas liposomales

40 El presente experimento se diseñó para determinar si la adición de un agente de tonicidad afecta al comportamiento termotrópico y los parámetros termodinámicos de la composición liposomal, incluyendo el intervalo de la transición de fase SO-LD ($T_{on} \rightarrow T_{off}$), T_p , T_m , $T_{1/2}$ y ΔH . T_{on} y T_{off} representan la temperatura a la que se inició la transición de la fase SO-LD y se terminó durante los barridos de calentamiento, T_p y T_m representan la temperatura a la que se produce el cambio máximo en la capacidad calorífica durante la pretransición (T_p) y transición principal (T_m), $T_{1/2}$ representa el intervalo de temperatura (anchura) a media altura de la endoterma que representa el cambio de entalpía durante la transición de fase SO-LD y ΔH es el área bajo la curva que representa el cambio total en la entalpía durante la transición de fase SO-LD.

45 Se eligieron dos tipos de composiciones liposomales, cada uno se sometió a prueba con y sin manitol (como agente de tonicidad). Las composiciones liposomales sometidas a prueba se presentan en la tabla 5.

50 Tabla 5: Composiciones liposomales hipotónicas e isotónicas

Fosfolípidos (razón de porcentaje en moles (cuando sea aplicable)	Agente de tonicidad	Medio fluido
DMPC/DPPC (45 : 55)	-	Tampón de histidina
DMPC/DPPC (45 : 55)	Manitol	Tampón de histidina
1,2-dipentadecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (C15)	-	Tampón de histidina
1,2-dipentadecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (C15)	Manitol	Tampón de histidina

60 Las composiciones liposomales de DMPC/ DPPC comprendían 183 mg de DPPC y 136 mg de DMPC dispersados en 3 ml de tampón de histidina (HB) 10 mM pH 6,5. La composición liposomal C15 comprendía 212 mg (70,6 mg/ml) de fosfolípidos. Se añadió manitol en la cantidad de 120 mg (el 4 % en peso) para formar composiciones isotónicas.

65 La tabla 6 resume las propiedades fisicoquímicas de las diferentes composiciones liposomales.

65 Tabla 6: Propiedades fisicoquímicas de las composiciones liposomales.

Fosfolípido	Agente de tonicidad	PC totales (mM)	Osmolalidad de MLV (mOsm)	Distribución del tamaño por volumen		
				Prom. Media (μm)	Mediana (μm)	D.E.
DMPC/DPPC	-	105	34	2,7	2,18	1,73
DMPC/DPPC	manitol	91	288	4,24	2,70	4,61
C15	-	102,7	28	3,97	2,59	3,96
C15	manitol	99,3	272	3,1	2,61	1,96

Para la determinación del comportamiento termotrópico y los parámetros termodinámicos ($T_{on} \rightarrow T_{off}$, T_m , $T_{1/2}$, ΔH) de los diferentes sistemas, las muestras se sometieron a barrido usando MicroCalTM VP-DSC (GE HealthcareLifeSciences, Uppsala, Suecia). El procesamiento de los datos calorimétricos se realizó mediante el software Origin® 7.0. La forma en que se determinó el intervalo $T_{on} \rightarrow T_{off}$ se describe en *Materiales y métodos*.

La tabla 7 presenta la caracterización termotrópica de las composiciones liposomales sometidas a prueba evaluadas a partir de los barridos de DSC

Tabla 7: Caracterización termotrópica de las composiciones liposomales.

Fosfolípido	Agente de tonicidad	Caracterización termotrópica									
		Pico 1 (pretransición)					Pico 2 (transición de fase)				
		T_{on} (°C)	T_{off} (°C)	T_p (°C)	$T_{1/2}$ (°C)	ΔH (cal/mol)	T_{on} (°C)	T_{off} (°C)	T_m (°C)	$T_{1/2}$ (°C)	ΔH (cal/mol)
DMPC/DPPC	-	17,8	24,7	21,0	2,2	1030,5	30,44	35,19	33,6	3,5	9782,1
DMPC/DPPC	manitol	17,6	24,5	21,0	2,5	962,7	30,49	35,42	33,7	3,3	10707,7
C15	-	21,7	27,3	24,6	2,2	1316,9	33,03	35,16	34,3	1,3	6716,9
C15	manitol	20,5	27,0	24,5	2,5	1009,1	32,66	35,29	34,4	1,5	6081,3

Los resultados resumidos en la tabla 7 y las figuras 1 y 2 indican la falta de efecto del manitol sobre el comportamiento termotrópico de la razón en moles de MLV DMPC/DPPC 45/55 y del 100 % en moles de C15 MLV.

Ejemplo 3-Temperaturas de transición de fase de las combinaciones liposomales

El presente estudio se configuró para evaluar el comportamiento termotrópico y los parámetros termodinámicos de diversas composiciones liposomales y, en particular, encontrar combinaciones liposomales que tengan temperaturas de transición de fase en el intervalo de 20 °C a 39 °C. Dado que la adición de manitol no afecta al comportamiento termotrópico de los liposomas (tal como se mostró en el ejemplo 2), las temperaturas de transición de fase de las diversas composiciones liposomales sometidas a prueba en el presente estudio deberían ser similares a las de las composiciones isotónicas correspondientes.

Las composiciones liposomales sometidas a prueba se presentan en la tabla 8.

Tabla 8: Composiciones de liposomas

Sistema	Fosfolípidos (% en moles)					Tampón	T_m esperada
	DMPC	DPPC	DSPC	C15	D-eritro C16		
A1	0	100	-	-	-	HB	41 °C
B1	10	90	-	-	-	HB	<41 °C
C1	25	75	-	-	-	HB	<< 41 °C
D1	45	55	-	-	-	HB	~34 °C
F1	75	-	25	-	-	HB	<<55 °C
G1	45	-	-	55	-	HB	<< 35 °C
H1	25	-	-	75	-	HB	<35 °C

Sistema	Fosfolípidos (% en moles)					Tampón	T_m esperada
	DMPC	DPPC	DSPC	C15	D-eritro C16		
A2	-	-	-	-	100	HB	~41 °C
B2	10	-	-	-	90	HB	<41 °C
C2	25	-	-	-	75	HB	<41 °C
D2	75	-	-	-	25	HB	<< 41 °C
E2	90	-	-	-	10	HB	<< 41 °C
F2	100	-	-	-	-	HB	~24 °C
G2	-	-	-	100	-	HB	~34 °C

Los diferentes sistemas de MLV se caracterizaron para determinar la distribución de tamaño, la osmolalidad y las concentraciones totales de PC. Los resultados se resumen en las tablas 9-12.

Tabla 9: Propiedades fisicoquímicas de MLV de diferentes mezclas DPPC:DMPC

Razón de PC del sistema (% en moles)	PC totales (mM)	Osmolalidad de MLV (mOsm)	Distribución del tamaño por volumen		
			Prom. Media (μm)	Mediana (μm)	D.E.
A1 DPPC 100	93	31	3,12	2,4	2,38
B1 DMPC/DPPC 10/90	111	29	3,10	2,34	2,31
C1 DMPC /25/75	107	27	3,92	2,64	4,03
D1 DDMPC/DPPC 45/55	105	34	2,7	2,18	1,73
F2 DMPC 100	136,5	32	2,93	1,87	3,02

Basándose en los resultados de la osmolalidad descritos en esta tabla, el nivel de etanol es inferior al 0,1 % para todos los sistemas de MLV. Basándose en el coeficiente de reparto liposoma/agua, la mayoría de ellos está en la fase acuosa.

Tabla 10: Propiedades fisicoquímicas de MLV de mezcla DSPC:DMPC

Razón de PC del sistema (% en moles)	PC totales (mM)	Osmolalidad de MLV (mOsm)	Distribución del tamaño por volumen		
			Prom. Media (μm)	Mediana (μm)	D.E.
F1 DMPC/DSPC 75/25	69	50	3,72	3	2,77

Basándose en los resultados de la osmolalidad descritos en esta tabla, el nivel de etanol es inferior al 0,2 %. Basándose en el coeficiente de reparto liposoma/agua, la mayoría de ellos está en la fase acuosa. Esta MLV representa una pérdida de lípidos importante que se produjo durante la eliminación del etanol.

Tabla 11: Propiedades fisicoquímicas de MLV de diferentes mezclas C15:DMPC

Razón de PC del sistema (% en moles)	PC totales (mM)	Osmolalidad de MLV (mOsm)	Distribución del tamaño por volumen		
			Prom. Media (μm)	Mediana (μm)	D.E.
G2 PC(15:0) 100	102,7	28	3,97	2,59	3,96
G1 DMPC/PC15 45/55	103	40	4,57	3,44	3,84
H1 DMPC/PC15 25/75	97	34	3,06	2,16	2,38

Basándose en los resultados de la osmolalidad descritos en esta tabla, el nivel de etanol es inferior al 0,1 % para todos los sistemas de MLV. Basándose en el coeficiente de reparto liposoma/agua, la mayoría de ellos está en la fase acuosa.

Tabla 12: Propiedades fisicoquímicas de MLV de diferentes mezclas de DMPC/*D-eritro* C16

5	Razón de PC del sistema (% en moles)	PC totales (mM)	Osmolalidad de MLV (mOsm)	Distribución del tamaño por volumen		
				Prom. Media (μm)	Mediana (μm)	D.E.
10	A2 <i>D-eritro</i> C16 100	53,9	20	4,04	2,66	4,38
15	B2 DMPC / <i>D-eritro</i> C16 10/90	76,6	20	3,31	2,27	3,25
20	C2 DMPC / <i>D-eritro</i> C16 25/75	85,7	21	3,37	2,31	3,18
25	D2 DMPC/C16 <i>D-eritro</i> C-16 75/25	90,4	24	2,67	2,05	1,83
30	E2 DMPC / <i>D-eritro</i> C16 10/90	56,6	22	3,7	3,03	2,5
35	F2 DMPC 100	136,5	32	2,93	1,87	3,02

Basándose en los resultados de la osmolalidad descritos en esta tabla, el nivel de etanol es inferior al 0,1 % para todos los sistemas de MLV. Basándose en el coeficiente de reparto liposoma/agua, la mayoría de ellos está en la fase acuosa.

Se evaluó el comportamiento termotrópico y los parámetros termodinámicos de las combinaciones liposomales tal como se describe en el ejemplo 2 y en *Materiales y métodos*. La tabla 13 resume los resultados de la caracterización termotrópica de las combinaciones liposomales sometidas a prueba y la figura 3 muestra el intervalo de temperatura de transición de la fase SO-LD de MLV de diferentes mezclas de fosfolípidos evaluadas a partir de los barridos de DSC.

Tabla 13: Caracterización termotrópica de MLV de las diferentes mezclas evaluadas a partir de los barridos de DSC

30	Razón de PC (% en moles)	Caracterización termotrópica									
		Pico 1 (pretransición)					Pico 2 (transición de fase)				
		T _{on} (°C)	T _{off} (°C)	T _p (°C)	T _{1/2} (°C)	ΔH (cal/mol)	T _{on} (°C)	T _{off} (°C)	T _m (°C)	T _{1/2} (°C)	ΔH (cal/mol)
Mezclas DPPC:DMPC											
35	DPPC (100)	32,3	37,3	34,9	2,2	1983,5	40,44	42,45	41,8	1,3	7993,7
40	DMPC/DPPC (10/90)	28,3	33,8	30,8	2,9	1666,2	37,77	40,91	40,0	1,9	9982,4
45	DMPC/DPPC (25/75)	22,6	29,8	25,8	3,2	1429,3	34,24	38,23	37,4	2,8	10363,0
50	DMPC/DPPC (45/55)	17,8	24,7	21,0	2,2	1030,5	30,44	35,19	33,6	3,5	9782,1
55	DMPC (100)	11,4	16,4	14,0	1,0	683,7	23,24	25,24	24,4	1,1	5394,7
Mezcla DSPC:DMPC											
60	DMPC/DSPC (75/25)	11,4	17,4	14,2	4,0	369,5	24,67	34,6	27,1	2,7	10199,9
Mezclas C15:DMPC											
65	C15 (100)	21,7	27,3	24,6	2,2	1316,9	33,03	35,16	34,3	1,3	6716,9
65	DMPC/C15 (45/55)	15,9	21,0	18,1	1,7	1059,7	28,03	30,28	29,4	1,3	7767,7
65	DMPC/C15 (25/75)	17,9	22,9	20,4	1,2	851,1	30,35	32,12	31,3	1,2	7107,5
Mezclas de <i>D-eritro</i> C16/DMPC											
65	SPM (100)	30,2	38,8	33,9	0,8	941,5	41,14	43,24	41,8	1,0	7967,0
65	<i>D-eritro</i> C16/DMPC (90/10)	32,5	36,0	33,8	0,7	200,2	38,36	41,91	39,7	2,2	7503,7
65	<i>D-eritro</i> C16/DMPC (75/25)	22,3	25,8	23,8	0,5	97,5	34,7	39,77	36,5	3,1	6758,1
65	<i>D-eritro</i> C16/DMPC (25/75)	13,9	19,1	16,6	2,9	126,9	30,91	36,19	32,1	3,2	7304,5
65	<i>D-eritro</i> C16/DMPC (10/90)	11,4	14,8	13,0	1,3	233,9	26,68	29,72	27,5	1,7	7592,0
65	DMPC (100)	11,4	16,4	14,0	1,0	683,7	23,24	25,24	24,4	1,1	5394,7

Puede observarse que diversas combinaciones liposomales, que incluyen, por ejemplo, DMPC/DPPC (25/75), DMPC/DPPC (45/55), DMPC/DSPC (75/25), DMPC/C15 (45/55), DMPC/C15 (25/75), *D-eritro* C16/DMPC (75/25), *D-*

eritro C16//DMPC (25/75), y D-*eritro* C16/DMPC (10/90) tienen una temperatura de transición de fase de las membranas de liposomas en el intervalo de temperatura deseado de 20 °C a 39 °C.

5 Ejemplo 4-Evaluación de la composición liposomal mediante una prueba de abrasión de cartílago de aguja de fijación en disco

Las afecciones tribológicas en la rodilla se simularon *in vitro* mediante una prueba de aguja de fijación en disco usando agujas de fijación de cartílago porcino deslizando contra discos de CoCrMo. Las pruebas de aguja de fijación en disco se llevaron a cabo en una máquina OrthoPOD de AdvancedMechanicalTechnology Inc. (AMTI), Watertown,

10 MA 02472-4800, EE. UU. La máquina se calentó por un termostato para asegurar una temperatura de 37±3 °C dentro del líquido. Los recipientes cilíndricos se llenaron con 20 ml de líquido de prueba. Las fuerzas aplicadas por cada brazo de sujeción individual se comprobaron con la aguja de fijación centrada encima del disco en 3, 10, 30, 50 y 100 N usando un medidor de fuerza de Mecmesin.

15 15 Las agujas de fijación de cartílago se recuperaron de hombros de cerdo. La cápsula articular se abrió usando un escalpelo para exponer la superficie del cartílago. Se recogieron al menos diez agujas de fijación cilíndricas usando un punzón hueco con 5,0 mm de diámetro interno. Se eligieron seis agujas de fijación del mismo animal, con una longitud apropiada y la menor inclinación superficial para cada prueba de abrasión de aguja de fijación en disco.

20 20 La capacidad de lubricación de la composición farmacéutica de la invención se evaluó midiendo la pérdida de masa ósea subcondral y la pérdida de altura después de 12 horas de prueba de desgaste. Se usaron seis agujas de fijación de cartílago para cada prueba, mientras que tres agujas de fijación se retiraron después de 6 horas y las otras tres agujas de fijación se sometieron a prueba durante 6 horas adicionales. Además de determinar el peso y la pérdida de masa de las agujas de fijación, las superficies del cartílago se analizaron mediante un perfilador óptico antes y después de la prueba. El dispositivo usado fue la interferometría de S neox y el microscopio confocal (Sensofar, España). Para determinar los parámetros de rugosidad, se extrajeron más de 12 perfiles de línea de las topografías después de la retirada de la forma. Para la ilustración de la oblicuidad superficial, los perfiles se extrajeron de las mediciones confocales de 5 x en la dirección norte-sur como posicionamiento de las agujas de fijación con el nivel más alto orientado hacia sur. Para mayor claridad, estos perfiles se suavizaron y se cambiaron 30 usando Kaleidagraph 4.0.

35 La composición a base de liposomas que comprende manitol (formulación n.º 3 de la tabla 2) se sometió a prueba en la prueba de desgaste. Esta composición se comparó con un líquido que contenía proteínas, que contenía 30 g/l de proteínas séricas de ternero, EDTA y NaN₃, tal como se usa para la prueba de simulador de cadera (norma ISO 14242-1).

35 Resultados

Prueba de desgaste

40 40 Las pruebas de agujas de fijación en disco dentro de líquido que contiene proteínas revelaron el desgaste de los cartílagos. La pérdida de masa promedio de las agujas de fijación aumentó desde 22 mg después de 6 horas hasta 26 mg después de 12 horas de ensayo. El aumento de la pérdida de altura promedio de las agujas de fijación fue más pronunciado con 0,6 mm después de 6 horas y 1,1 mm después de 12 horas de desgaste. Los perfiles extraídos (figura 4) muestran que después de 6 horas de desgaste, las superficies de cartílago se habían aplano-

45 45 Parte del material de cartílago se desplazó a un lado y formó una protuberancia externa que sólo se unió sin apretar a la aguja de fijación inicial. Por tanto, la pérdida de masa real se subestimó a medida que se determinaron los pesos, incluyendo la protuberancia unida. Después de 12 horas de desgaste, las tres agujas de fijación restantes mostraron áreas donde el cartílago se había desgastado y donde apareció hueso subcondral (figura 4 y figuras 5A, 5B).

50 50 Las agujas de fijación de cartílago en la composición liposomal (formulación n.º 3) mostraron signos de abrasión después de la retirada. La pérdida de masa promedio de las agujas de fijación fue de 14 mg después de 6 horas de desgaste y permaneció a ese nivel durante 6 horas adicionales de desgaste. La pérdida de altura fue de aproximadamente 0,3 a 0,4 mm para los dos puntos de tiempo. Después de 6 horas de desgaste, las superficies de cartílago se habían aplano (figura 6 y figuras 7A, 7B) y el material de cartílago formaba una protuberancia alrededor del centro. Después de 12 horas de desgaste, las superficies de cartílago de las agujas de fijación restantes todavía estaban intactas y no mostraron áreas con hueso subcondral que aparece (figuras 8A, 8B).

60 60 Las agujas de fijación de cartílago en líquido con proteínas mostraron el aspecto del hueso subcondral después de 12 horas de prueba de desgaste a diferencia de las agujas de fijación en la composición liposomal donde el cartílago permaneció intacto durante toda la prueba. El desgaste parecía lento en la composición liposomal ya que no se observó pérdida de masa o pérdida de altura adicional entre 6 y 12 horas

65 65 Los resultados de desgaste se ilustran adicionalmente en las figuras 9A (pérdida de masa) y 9B (pérdida de altura). La comparación de los dos líquidos mostró que la composición liposomal condujo a una menor pérdida de masa y altura de las agujas de fijación de cartílago.

Mediciones de rugosidad

5 Los parámetros de rugosidad se determinaron a partir de una serie de perfiles extraídos basándose en las mediciones de interferometría con el objetivo DI 10 x. Las mediciones se tomaron en la parte central de la aguja de fijación, bien dentro de la superficie de contacto. Las figuras 10A y 10B muestran perfiles a modo de ejemplo después de la retirada del plano subyacente.

10 Los parámetros de rugosidad seleccionados Ra, Rk, Rpk y Rvk se muestran en la figura 11. Para las pruebas de desgaste en el líquido a base de proteínas, pudo observarse un aumento altamente significativo de estos parámetros debido al desgaste 2 ($p<0,01$). Por ejemplo, la rugosidad promedio Ra aumentó desde $0,5 \pm 0,2 \mu\text{m}$ en $t = 0$ hasta $1,6 \pm 0,4 \mu\text{m}$ para las agujas de fijación desgastadas y la rugosidad del núcleo Rk desde $1,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$ hasta $4,5 \pm 1,1 \mu\text{m}$. Para la prueba de desgaste en la composición liposomal, se observó un aumento menor pero significativo de los parámetros de rugosidad con la excepción de Rpk ($p>0,2$). La rugosidad promedio Ra aumentó desde $0,4 \pm 0,2 \mu\text{m}$ hasta $0,8 \pm 0,3 \mu\text{m}$ y la rugosidad del núcleo Rk desde $0,9 \pm 0,4 \mu\text{m}$ hasta $2,4 \pm 0,8 \mu\text{m}$.

15 Los expertos en la técnica apreciarán que la presente invención no está limitada por lo que se ha mostrado y descrito en particular anteriormente en el presente documento. Por tanto, la invención no debe considerarse como restringida a las realizaciones particularmente descritas, y el alcance y el concepto de la invención se entenderán más fácilmente con referencia a las reivindicaciones, que siguen.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende:
 - 5 un agente de tonicidad no iónico, que comprende un poliol que es manitol; y liposomas que comprenden al menos una membrana que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de un glicerofosfolípido (GPL), teniendo dicho GPL dos cadenas hidrocarbonadas C₁₂-C₁₈, que son iguales o diferentes, y la esfingomielina (SM) que tiene una cadena hidrocarbonada C₁₂-C₁₈, en donde la al menos una membrana tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de 20 °C a 39 °C;
 - 10 en donde la composición farmacéutica está esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional.
2. La composición según la reivindicación 1:
 - 15 i.) que comprende además un medio fluido en donde se suspenden los liposomas, opcionalmente en donde dicho medio fluido se selecciona de tampón y agua, opcionalmente en donde dicho tampón se selecciona de un tampón de histidina y solución salina tamponada con fosfato;
 - 20 ii.) en donde el manitol está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre el 0,1 % (p/p) y el 7 % (p/p);
 - iii.) que tiene una osmolalidad en el intervalo de desde 200 hasta 600 mOsm opcionalmente que tiene una osmolalidad de 300 mOsm, y/o;
 - iv.) que tiene un pH de 5-8
- 25 3. La composición según la reivindicación 1, en donde la razón en peso entre los liposomas y el manitol oscila entre 6:1 y 2:1.
4. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde:
 - 30 i.) dichos liposomas son vesículas multilaminares (MLV);
 - ii.) dicho GPL comprende dos cadenas de acilo C₁₄, C₁₅, C₁₆ o C₁₈, y/o;
 - iii.) al menos una de dichas cadenas hidrocarbonadas es una cadena hidrocarbonada saturada opcionalmente en donde las dos cadenas hidrocarbonadas están saturadas.
- 35 5. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho PL es una fosfatidilcolina (PC).
6. La composición según la reivindicación 5, en donde dicha al menos una membrana comprende 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC).
- 40 7. La composición según la reivindicación 6, en donde dicha al menos una membrana comprende además una PC seleccionada del grupo que consiste en 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-dipentadecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (C15), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), y una SM que tiene una cadena hidrocarbonada C₁₆ (*D-eritro* C16).
- 45 8. La composición según la reivindicación 7, en donde:
 - i.) el porcentaje molar de DMPC en la al menos una membrana oscila entre el 10 % y el 75 %;
 - 50 ii.) dicha al menos una membrana comprende DMPC y DPPC, opcionalmente en donde la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DPPC está en el intervalo de 25:75 a 70:30, opcionalmente en donde la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DPPC es de 45:55;
 - iii.) dicha al menos una membrana comprende DMPC y C15, opcionalmente en donde la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a C15 está en el intervalo de 25:75 a 45:55;
 - 55 iv.) dicha al menos una membrana comprende DMPC y DSPC, opcionalmente en donde la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a DSPC es de 75:25; y/o
 - v.) dicha al menos una membrana comprende DMPC y *D-eritro* C16, opcionalmente en donde la razón en porcentaje en moles de DMPC con respecto a *D-eritro* C16 está en el intervalo de 10:90 a 25:75.
- 60 9. La composición según la reivindicación 5, en donde dicha al menos una membrana comprende C15.
10. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde:
 - 65 i.) la concentración total de PL oscila entre 50 y 300 mM;

- ii.) los fosfolípidos están presentes en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre el 0,5 % (p/p) y el 30 % (p/p) del peso total de la composición farmacéutica;
- iii.) los liposomas tienen un diámetro medio de entre 0,5 µm y 10 µm;
- iv.) la al menos una membrana tiene la temperatura de transición de fase de 30 °C a 35 °C;
- v.) la temperatura de articulación está en el intervalo de 1-15 °C por encima de dicha temperatura de transición de fase; y/o
- vi.) está esencialmente libre de ácido hialurónico.
- 5 11. La composición según la reivindicación 1, que comprende liposomas de MLV cuyas membranas consisten en DMPC y DPPC; manitol; y tampón de histidina, en donde la DMPC está presente en la composición farmacéutica en un porcentaje en peso que oscila entre el 1 % (p/p) y el 10 % (p/p), la DPPC está presente en un porcentaje en peso que oscila entre el 2 % (p/p) y el 12 % (p/p), y el manitol está presente en un porcentaje en peso que oscila entre el 1 % (p/p) y el 7 % (p/p), del peso total de la composición farmacéutica.
- 10 12. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde:
- 15 i.) una unidad de dosificación de la composición farmacéutica comprende desde 20 mg hasta 350 mg de manitol y desde 50 mg hasta 1000 mg de fosfolípidos;
- 20 ii.) estando en forma de una composición farmacéutica parenteral que comprende una suspensión de liposomas; y/o
- 25 iii.) la composición está en una forma adecuada para la administración seleccionada del grupo que consiste en inyección intraarticular, administración artroscópica y administración quirúrgica.
- 30 13. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, para su uso en el tratamiento, manejo o prevención de un trastorno o afección articular o síntomas que surgen de los mismos, o para prevenir el desgaste articular, opcionalmente en donde dicho trastorno o afección articular se selecciona del grupo que consiste en artritis, artrosis, artrosis en pacientes con artritis reumatoide, lesión articular traumática, articulación bloqueada, lesión deportiva, lesión traumática hacia artrosis (OA), articulación después de artrocentesis, cirugía artroscópica, cirugía abierta de articulación, atroplastia y artritis psoriásica.
- 35 14. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para su uso en la reducción del dolor de la articulación de la rodilla en pacientes con artrosis.
- 40 15. Una composición farmacéutica que comprende:
- 45 un agente de tonicidad no iónico, que comprende un poliol que es manitol; y liposomas que comprenden al menos una membrana que comprende al menos un fosfolípido (PL) seleccionado de un glicerofosfolípido (GPL), teniendo dicho GPL dos cadenas hidrocarbonadas C12-C18, que son iguales o diferentes, y la esfingomielina (SM) que tiene una cadena hidrocarbonada C12-C18, en donde la al menos una membrana tiene una temperatura de transición de fase en el intervalo de 20 °C a 39 °C; estando la composición farmacéutica esencialmente libre de un agente farmacéuticamente activo adicional, para su uso en el tratamiento del dolor o la irritación en una articulación de un sujeto que tiene un trastorno articular, en donde la articulación tiene una temperatura de articulación que está por encima de la temperatura de transición de fase.

ES 2 948 715 T3

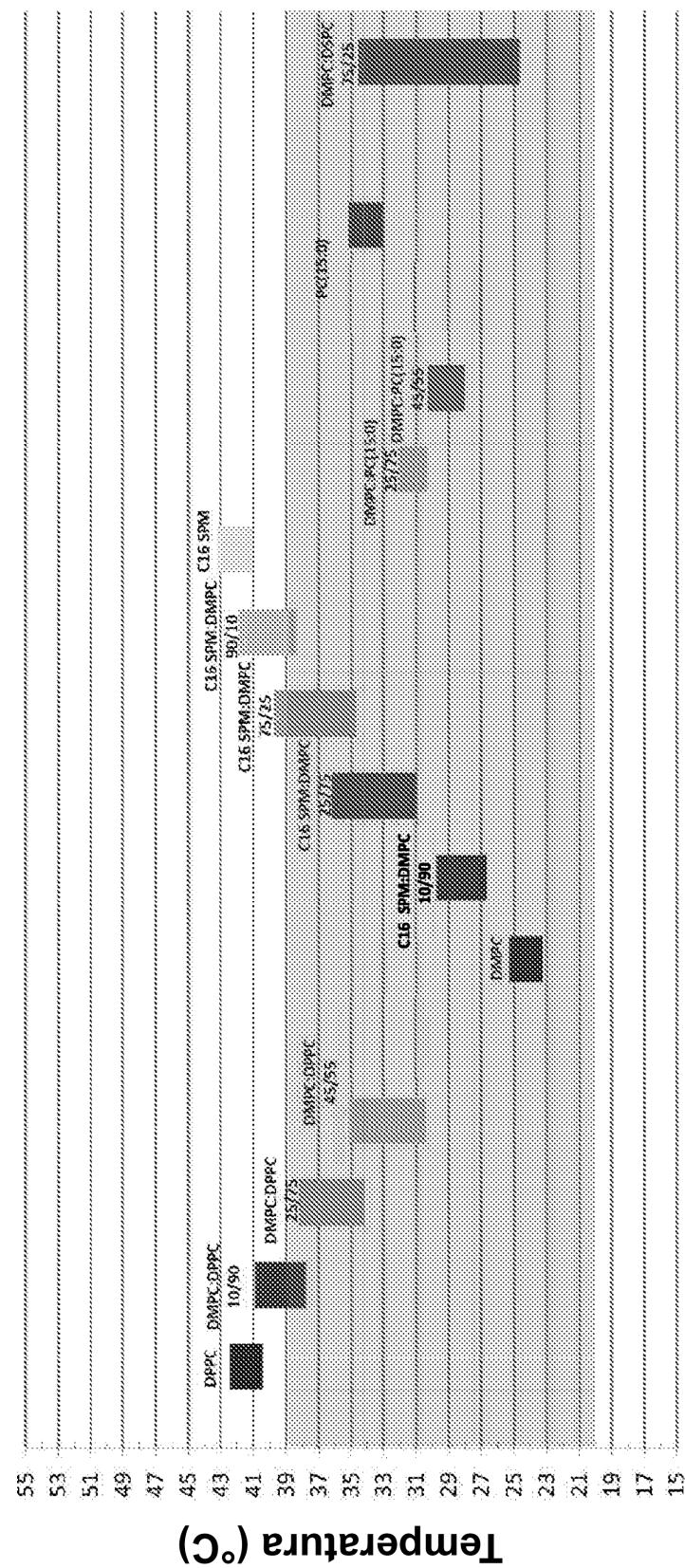


Figura 3

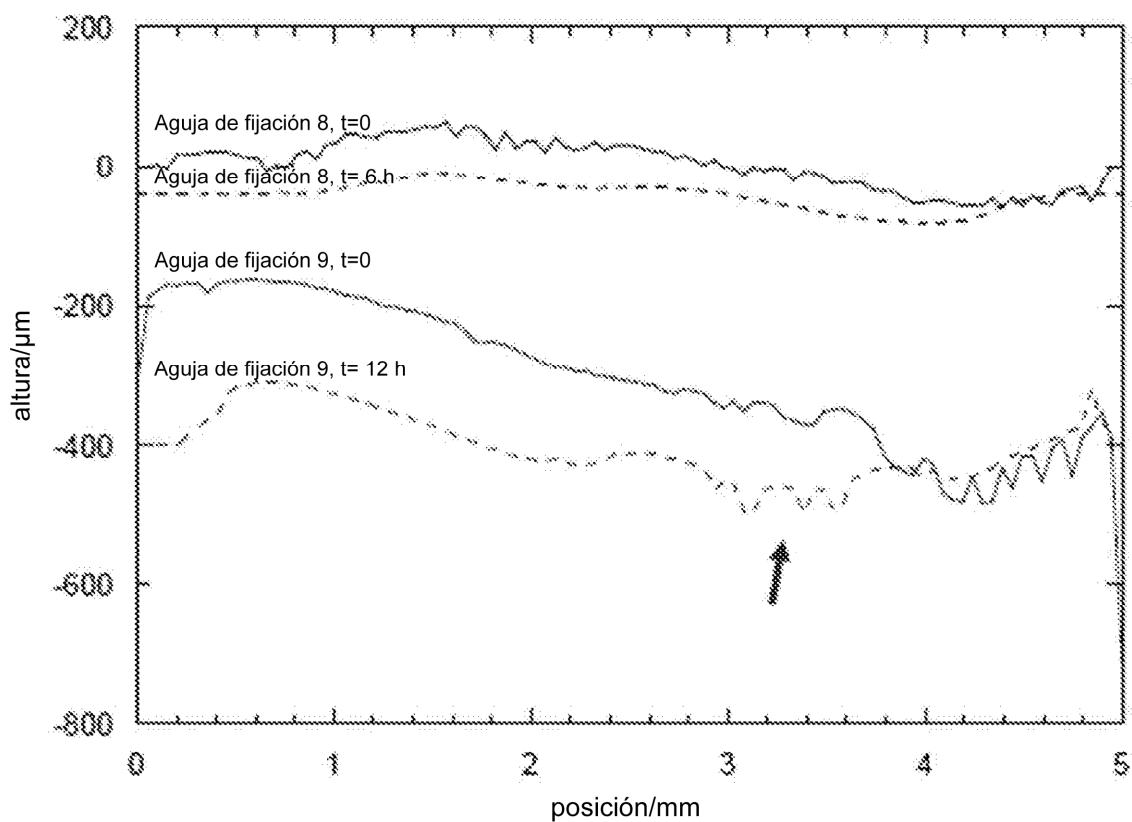


Figura 4

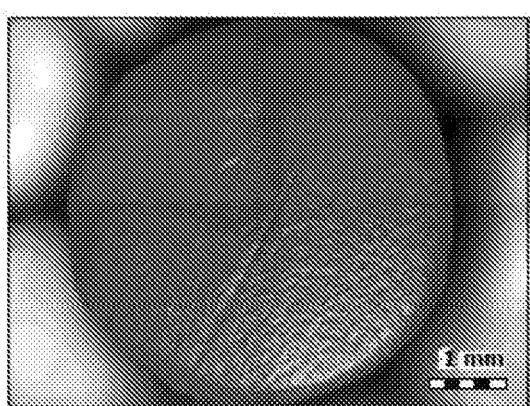


Figura 5A

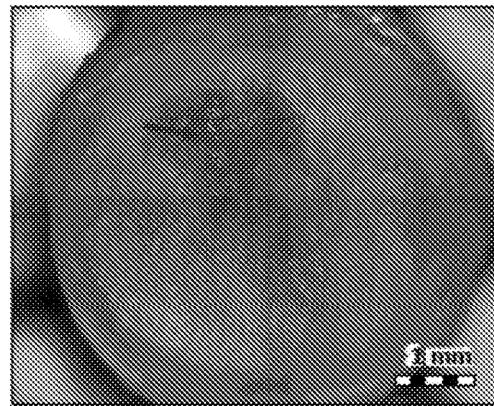


Figura 5B

ES 2 948 715 T3

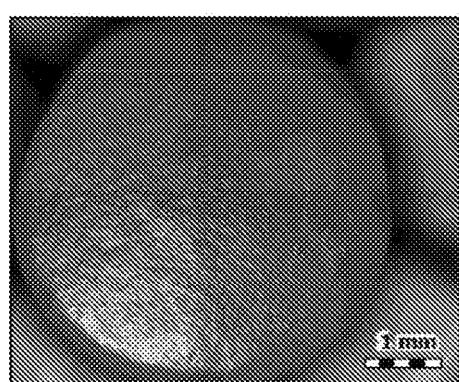
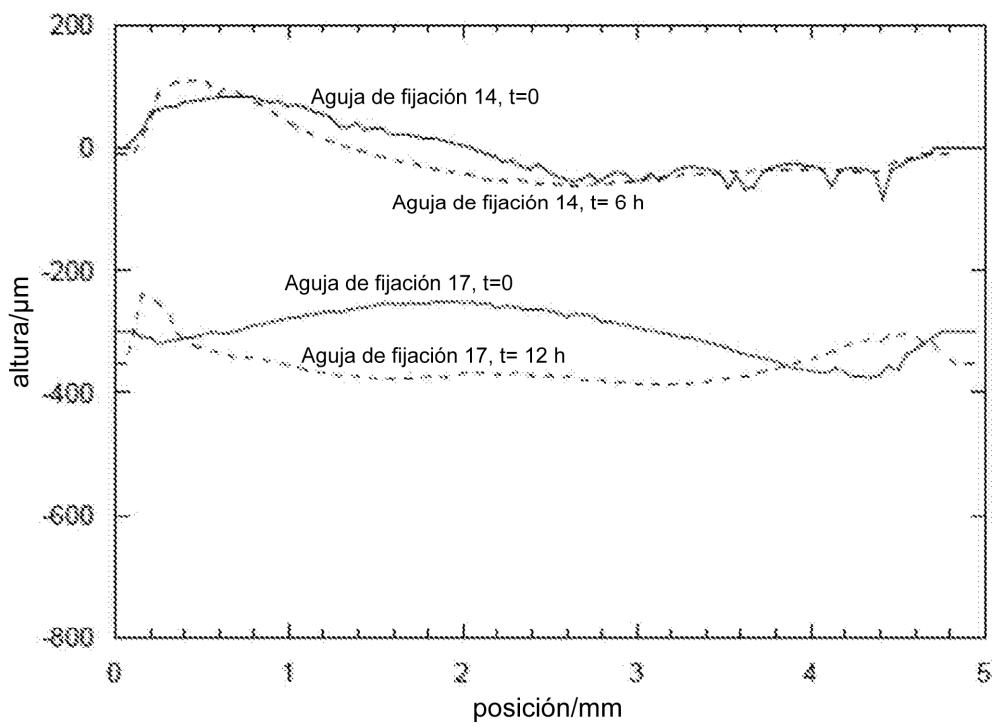


Figura 7A

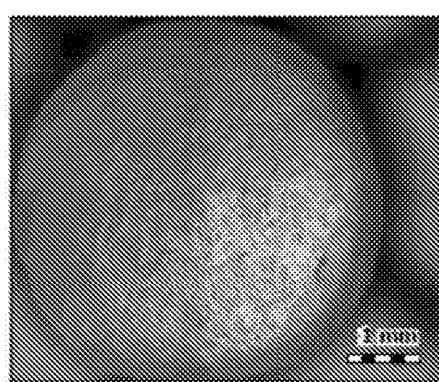


Figura 8A

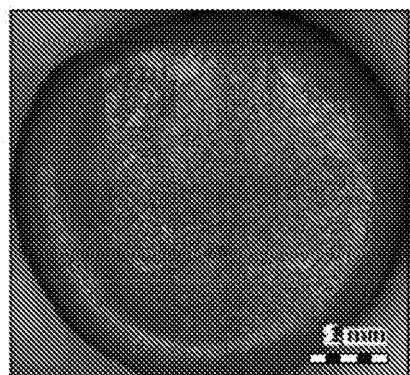


Figura 7B

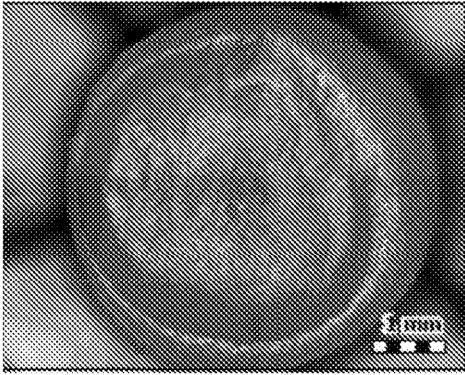


Figura 8B

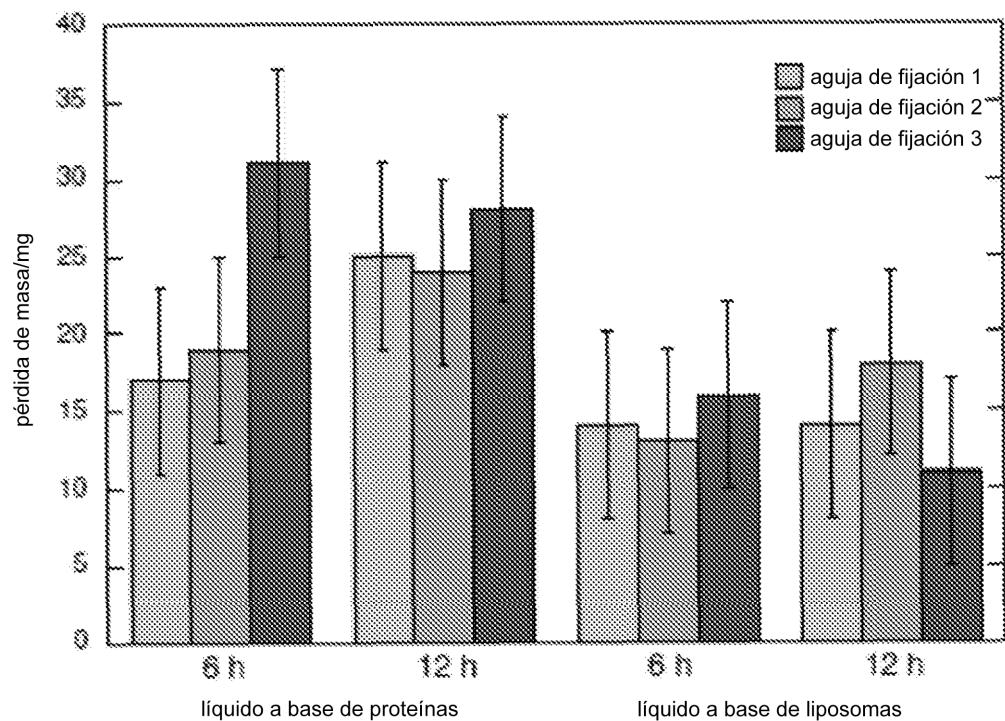


Figura 9A

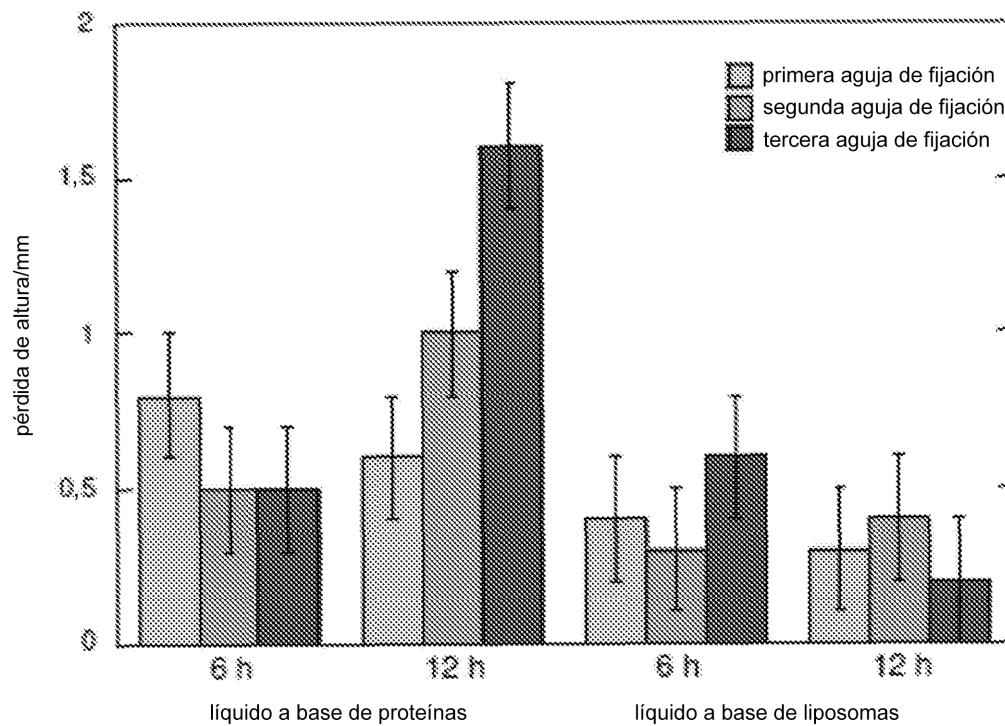


Figura 9B

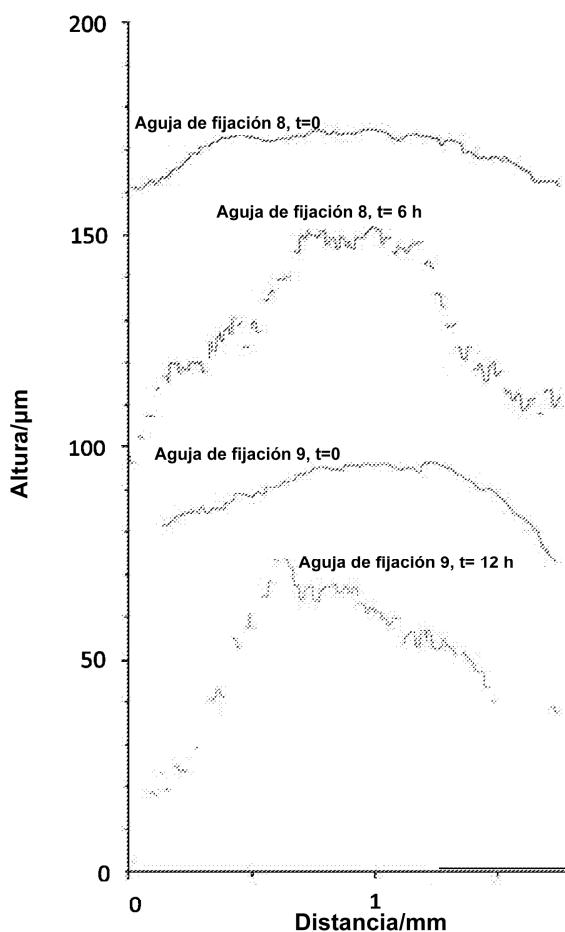


Figura 10A

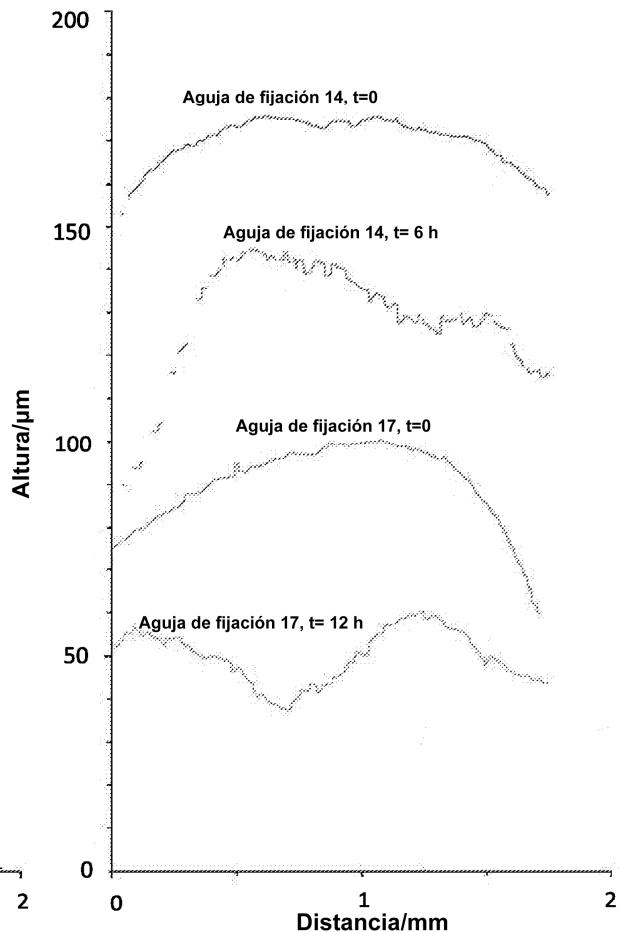


Figura 10B

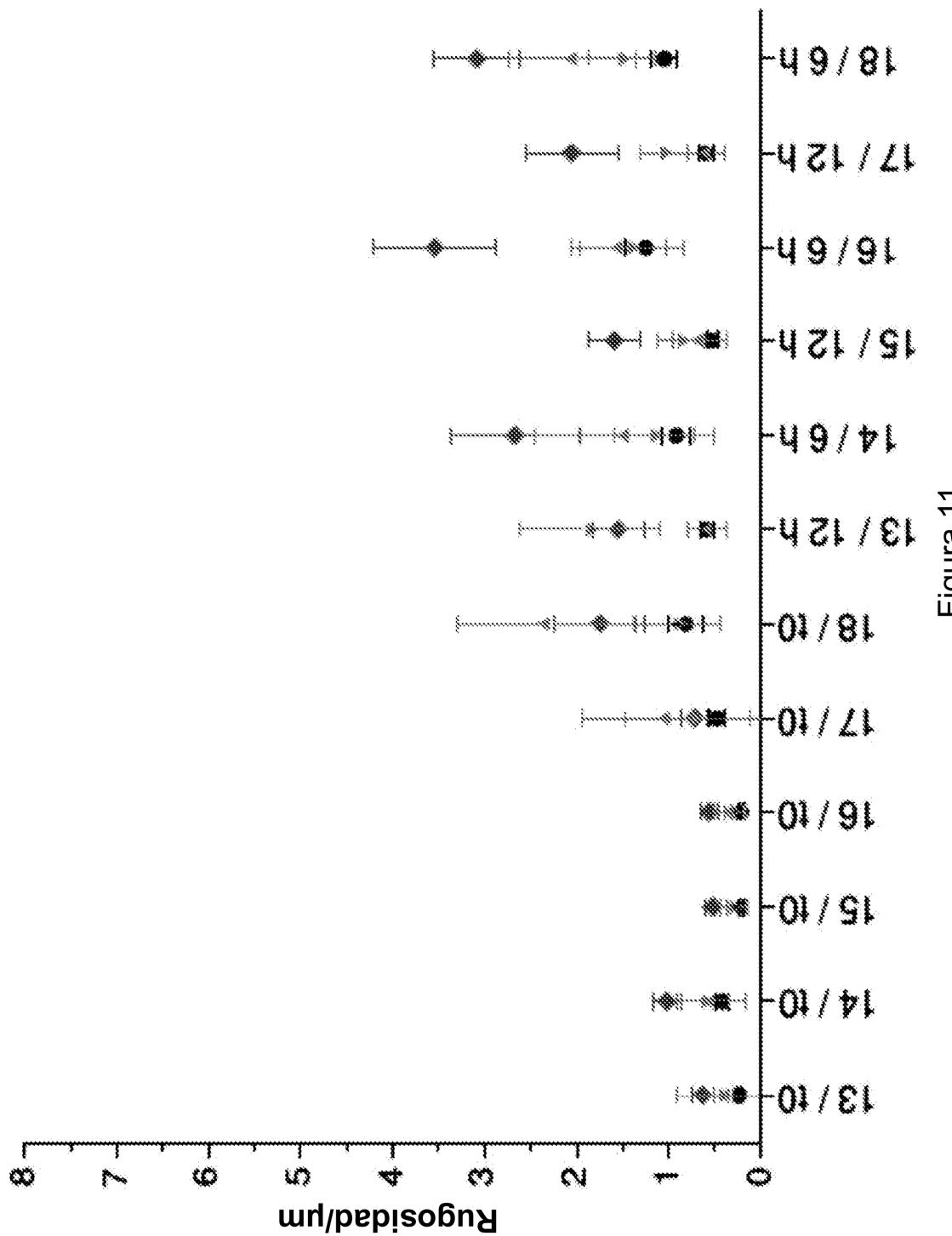


Figura 11