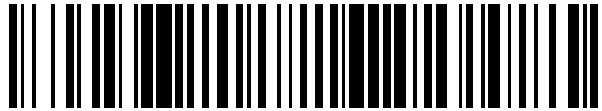


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 811 025**

51 Int. Cl.:

A61K 31/575 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 31/688 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.06.2017 PCT/EP2017/064653**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.12.2017 WO17216282**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2017 E 17731852 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 3471732**

54 Título: **Liposomas para el tratamiento de infecciones virales**

30 Prioridad:

16.06.2016 EP 16174700

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

10.03.2021

73 Titular/es:

**COMBIOXIN SA (100.0%)
8 rue de la Rotisserie
1204 Geneva, CH**

72 Inventor/es:

**AZEREDO DA SILVEIRA LAJAUNIAS, SAMAREH
y
LAJAUNIAS, FRÉDÉRIC**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 811 025 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

Liposomas para el tratamiento de infecciones virales

La presente invención se refiere a liposomas vacíos o mezclas de liposomas vacíos de composición lipídica definida para el uso en el tratamiento y prevención de infecciones virales. La presente invención se refiere además a composiciones para el uso en el tratamiento de tales infecciones virales que comprenden administrar los liposomas vacíos de la invención o mezclas de liposomas vacíos, en solitario o en combinación con el tratamiento viral estándar.

Técnica relacionada

Las infecciones virales son un problema importante de salud pública y preocupan en todo el mundo. Como consecuencia, un enfoque principal es comprender las composiciones y mecanismos subyacentes a la fusión y a la entrada de los virus en las células huésped.

Se ha demostrado que las balsas lipídicas de la membrana celular están implicadas en el proceso de fusión, entrada, ensamblaje y/o resurgimiento del virus en los ciclos de vida de la infección de varios virus, tales como los retrovirus (*Retroviridae*), virus de ARN (*Arenaviridae*, *Astroviridae*, *Bunyaviridae*, *Caliciviridae*, *Coronaviridae*, *Filoviridae*, *Flaviviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Picornaviridae*, *Reoviridae*, *Rhabdoviridae*, y *Togaviridae*) y virus de ADN (*Adenoviridae*, *Hepadnaviridae*, *Herpesviridae*, *Papovaviridae*, *Parvoviridae*, y *Poxviridae*). Estos estudios han demostrado la localización de proteínas estructurales virales en balsas lipídicas y los efectos de agentes disruptores de la balsa, que principalmente eliminan el colesterol de la membrana superficial o inhiben la síntesis de colesterol, en los procesos de infección y replicación de estos virus (Takahashi, T y Suzuki, T *Biochem Res Intern* 2011; Artículo ID 245090).

Las balsas lipídicas de la membrana celular que están altamente enriquecidas en colesterol y esfingomielina parecen actuar como una plataforma para la fusión y la entrada viral, en particular, de muchos virus envueltos en las células diana. Los estudios proponen que durante el proceso de fusión, los virus toman el control de las células huésped para la entrada celular al causar una concentración de receptores de virus, alteran la conformación de los receptores virales, permiten el tráfico al compartimento celular apropiado y median cambios conformacionales en la envoltura del virus (Manes, S et al. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 557-568; Rawat SS et al. *Mol Membr Biol* 2003; 20:243-254).

Los virus envueltos que se cree que muestran dicho modo de infección viral incluyen los de las siguientes familias, especialmente *Herpesviridae* (Virus del herpes simple, virus varicela-zoster, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr), *Hepadnaviridae* (Virus de la hepatitis B), *Togaviridae* (Virus de la rubéola, alfavirus), *Arenaviridae* (virus de la coriomeningitis linfocítica), *Flaviviridae* (Virus del dengue, virus de la hepatitis C, fiebre amarilla), *Orthomyxoviridae* (Influenzavirus A, influenza B, influenza C, isavirus, thogotovirus), *Paramyxoviridae* (Virus del sarampión, virus de las paperas, virus sincitial respiratorio, virus de la peste bovina, virus del moquillo canino), *Bunyaviridae* (Virus de la encefalitis de California, hantavirus), *Rhabdoviridae* (Virus de la rabia), *Filoviridae* (Virus del Ébola, virus de Marburgo), *Coronaviridae* (Coronavirus), *Bornaviridae* (Virus de la enfermedad de Borna), *Arteriviridae* (Arterivirus, virus de la arteritis equina) y *Retroviridae* (Virus de inmunodeficiencia humana).

En particular y de gran preocupación, el virus de la Hepatitis C (VHC), un virus envuelto que pertenece al género *Hepacivirus* de la familia *Flaviviridae*, ha infectado a unos 170 millones de personas en todo el mundo. En la mayoría de los pacientes infectados por el VHC, la progresión a enfermedad crónica se asocia con un mayor riesgo de enfermedades hepáticas y carcinoma hepatocelular. Los mecanismos precisos que regulan la fusión y la entrada del VHC en las células hepáticas aún se desconocen y los factores que cooperan para completar los procesos de fusión y entrada aún no están definidos de manera concertada. Se ha sugerido que el colesterol y los esfingolípidos asociados con las partículas del virus de la hepatitis C (VHC) son importantes para la maduración del virión y la infectividad y que el agotamiento del colesterol del virus o la hidrólisis de la esfingomielina asociada al virión elimina casi por completo la infectividad del VHC (Aizaki, H. et al., *Journal of Virology* 2008; 82:5715-5724). Se demostró que un reactivo que elimina el colesterol celular tiene un efecto inhibitorio sobre la entrada de VHC a través del receptor de virus CD81 dentro de las balsas lipídicas (Kapadia B et al. *J Virol* 2007; 81 (1):374-383). También se cree que la hidrólisis celular de esfingomielina muestra un fuerte efecto inhibitorio sobre la entrada del VHC. Se sugirió que esto se debía al hecho de que el enriquecimiento de ceramida de la membrana plasmática conduce a una disminución del nivel de CD81 en la membrana de la superficie celular al mejorar la internalización de CD81 (Voisset C et al. *Cellular Microbiology* 2008; 10(3): 606-617). Los liposomas se han utilizado en estudios destinados a comprender mejor los procesos de fusión e infección por el VHC. Por ejemplo, los estudios que utilizan liposomas compuestos de fosfatidilcolina o fosfatidilcolina:colesterol (relación molar 70:30) propusieron que, aunque la fusión no dependía estrictamente de la presencia de colesterol, se vio facilitada por la presencia de colesterol en la membrana diana (Lavillette D et al. *J Biol Chem* 2006; 281(7):3909-3917). Además, los estudios que utilizan fosfatidilcolina, fosfatidilcolina:colesterol (relación molar 70:30), fosfatidilcolina: esfingomielina (relación molar 90:10) o fosfatidilcolina: colesterol: esfingomielina (relación molar 65:30:5) mostraron que la fusión del VHC no sólo se facilita por colesterol, pero aumenta aún más cuando existe una combinación entre esfingomielina y colesterol en las membranas diana, y propone que el colesterol y la esfingomielina podrían actuar en sinergia para transmitir una

fusión óptima del VHC (Haid, s et al., J Biol Chem. 2009;284 (26):17657-17667).

Además, se ha informado de la importancia de las balsas lipídicas ricas en colesterol para la patogénesis del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Se ha demostrado que el brote del VIH ocurre en dichas balsas lipídicas ricas en colesterol y que el colesterol de la célula huésped es necesario para la infección por VIH. Por otra parte, se ha informado que la eliminación del colesterol de la membrana de las células infectadas por el VIH reduce drásticamente la liberación del virus y que los viriones liberados de las células sin colesterol son mínimamente infecciosos (Liao Z et al. Aids Res Hum Retroviruses 2003; 19(8):675-687 y referencias citadas allí). También se ha propuesto que el péptido de fusión del VIH se dirige preferentemente a los dominios de la balsa de membranas de células T y que estos dominios son necesarios y suficientes para una focalización y fusión de membrana eficiente (Yang et al. Nat Chem Biol 2015, DOI:10.1038).

También se ha informado de la importancia de las balsas lipídicas ricas en colesterol para las infecciones por el virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1) que causan problemas de salud significativos, que incluyen lesiones cutáneas y corneales y encefalitis. El VHS parece ingresar a las células por fusión directa y se han identificado balsas lipídicas como dominios con actividad altamente fusogénica, y el colesterol dentro de estas balsas como una pieza clave para la fusión de VHS-1 a las células (Rahn E et al. PlosOne 2011 6 (10): e25464; Bender FC et al. J Virol 2003; 77(17): 9542-9552; Vitiello G et al. Soft Matter. 2015; 11(15):3003-3016).

Los microdominios de las balsas lipídicas enriquecidos en esfingomielina y colesterol también funcionan como plataformas para la unión de células de la gripe y la fusión de membranas. Un estudio reciente que utiliza liposomas de diversas composiciones fosfolipídicas, que incluyen cantidades de colesterol de hasta 40% en relación molar, informa que el colesterol actúa de manera dependiente de la dosis para promover la eficiencia de fusión de la gripe (Domanska, MK et al. Biophys J 2013; 105:1383-1387). Por otra parte, se ha demostrado que los efectos sobre la fusión del virus de la gripe están relacionados con las características de empaquetamiento de los grupos principales de fosfolípidos en la membrana diana (Herrmann A et al. Membr Biochem 1993). Tanto el virus del Ébola (EboV) como el virus de Marburgo (MbgV) son virus de ARN monocatenario negativo envueltos que pertenecen a la familia *Filoviridae*. El virus del Ébola utiliza microdominios de balsa lipídica de membrana plasmática enriquecidos en colesterol y esfingomielina para la entrada, el ensamblaje y el resurgimiento. Los reactivos que eliminan el colesterol o los inhibidores de la síntesis de colesterol o el agotamiento de la esfingomielina dentro de las membranas celulares tienen efectos inhibitorios sobre la infectividad viral del Ébola. Por otra parte, se ha informado que la etapa inicial de la infección por el virus del Ébola depende del colesterol en las balsas lipídicas específicas y que las partículas del virus del Ébola se asocian con las regiones ricas en esfingomielina de la membrana celular (Miller et al. J Virol 2012; 86(14):7473-7483; Freitas MS et al. PLoS One. 2011;6(1): e15756; y referencias citadas allí).

Varios estudios sugieren que la integridad de las balsas lipídicas enriquecidas con colesterol y esfingolípidos de la membrana plasmática es importante para la entrada de herpesvirus. En particular, se sugirió que las balsas lipídicas eran esenciales para el virus de la Varicela-Zóster (VZV), uno de los ocho virus del herpes, también conocido como virus de la varicela o herpesvirus humano tipo 3 (HHV-3), que causa la varicela en niños, adolescentes y adultos jóvenes y herpes zóster en adultos (Hambleton et al. J Virol 2007; 81(14):7548-7558) y para la entrada del virus pseudorabies (Desplanques AS et al. Virology 2008; 376:339-345).

El virus del sarampión sigue siendo una enfermedad altamente contagiosa y una causa importante de morbilidad y mortalidad. Los microdominios de membrana enriquecidos en colesterol y glucoesfingolípidos juegan un papel importante en la capacidad del virus para suprimir las respuestas inmunes. El virus del sarampión interactúa directamente con las balsas lipídicas enriquecidas con colesterol en la superficie de las células T, reclutando y activando así componentes de señalización proximal de la membrana que conducen a una inhibición pronunciada de la proliferación de células T (Avota et al. J Virol 2004; 78(17): 9552-9559).

El herpesvirus humano 6 (HHV-6) es un patógeno humano de importancia clínica emergente. Las balsas lipídicas y el colesterol intacto en la membrana celular juegan un papel importante en el proceso de entrada viral de HH6. Más precisamente, se sugirió que el HHV-6 ingresa a sus células diana a través de una balsa de lípidos y un receptor celular de HHV-6 (CD46) para acumularse en las balsas lipídicas después de la unión del virus, siendo por tanto reclutados y distribuidos después en las balsas lipídicas para la entrada viral (Tang et al. Virology 2008;378: 265-271).

Recientemente se han descrito liposomas vacíos a medida compuestos de colesterol (CHOL) y esfingomielina (SM) y su uso para el tratamiento de infecciones bacterianas (Patente WO 2013/186286; Henry BD et al., Nat Biotechnol 2015; 33(1):81-88; Azeredo da Silveira, S y Pérez, A, Expert Rev. Anti Infect. Ther. 2015; 13(5):531-533). La Patente WO2007135523 describe la Vesícula Lipídica no fosfolípida (nPLV) que interactúa con un virus envuelto, y un agente que mejora el intercambio de lípidos entre nPLV y el virus envuelto, útil para tratar enfermedades asociadas con un virus envuelto.

55 Compendio de la invención

Sorprendentemente, hemos encontrado que los liposomas vacíos de composición lipídica definida y las mezclas de liposomas vacíos de composición lipídica definida de acuerdo con la presente invención muestran eficacia antiviral como se muestra en estudios *in vitro* que emplean partículas de VHC pseudo-tipificadas. Por lo tanto, los liposomas

5 vacíos y las mezclas de liposomas vacíos de composición lipídica definida son capaces de proteger contra infecciones virales, en particular, contra infecciones causadas por virus envueltos. Los liposomas vacíos y las mezclas de liposomas vacíos de acuerdo con la presente invención son capaces en particular de proteger contra las infecciones virales de una manera dependiente de la dosis en la etapa de entrada del virus, tal como el VHC, en la célula huésped. Especialmente, en presencia de los liposomas vacíos y las mezclas de liposomas vacíos de composición lipídica definida, la entrada de partículas de VHC pseudo-tipificadas en las células de hepatocitos humanos diana o se reduce significativamente según lo medido por la actividad luciferasa que refleja el grado de entrada de las pseudopartículas en las células.

10 Sin estar limitado a esta explicación, se cree que los liposomas vacíos y las mezclas de liposomas vacíos de acuerdo con la presente invención imitan microdominios de balsa reconocidos por varios virus y son capaces de actuar como competidores de las balsas lipídicas celulares en la unión de los virus. Por otra parte, se cree que los liposomas vacíos y las mezclas de liposomas vacíos de acuerdo con la presente invención actúan como un señuelo al cual se une, en particular, la envoltura viral. Debido a este modo de acción y la atracción compartida y la dependencia de balsas lipídicas celulares específicas, en particular microdominios compuestos por CHOL y SM, para las primeras etapas de la infección celular por los virus, los liposomas vacíos y las mezclas de liposomas vacíos de acuerdo con la presente invención son capaces de mostrar actividad anti-viral para una amplia variedad de virus. Además, los liposomas vacíos de acuerdo con la presente invención se consideran no tóxicos y permiten concentraciones relativas mucho más altas de lípidos particulares que las que probablemente ocurran *in vivo*.

20 Por lo tanto, en el primer aspecto, la presente invención proporciona una composición para el uso en un método para tratar o prevenir, preferiblemente tratar, una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano, en donde dicha composición comprende, preferiblemente consiste en, (i) un único liposoma vacío, en donde dicho único liposoma vacío se selecciona de (a) un liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso); o (b) un liposoma vacío que consiste en esfingomielina; o (ii) una mezcla de liposomas vacíos, en donde dicha mezcla de liposomas vacíos comprende (a) un primer liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso), y (b) un segundo liposoma vacío que consiste en esfingomielina.

25 En otro aspecto, la presente invención proporciona un liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso) para el uso en un método para tratar o prevenir, preferiblemente de tratar, una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano.

30 En otro aspecto, la presente invención proporciona un liposoma vacío que consiste en esfingomielina para el uso en un método para tratar o prevenir, preferiblemente para tratar, una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano.

35 En otro aspecto más, la presente invención proporciona una mezcla de liposomas vacíos que comprende (a) el primer liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso); y (b) un segundo liposoma vacío que consiste en esfingomielina; para el uso en un método para tratar o prevenir, preferiblemente para tratar, una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano.

40 En otro aspecto más, la presente invención proporciona composiciones para el uso en un tratamiento de una infección viral que comprende administrar a un mamífero que lo necesita, preferiblemente un ser humano, una cantidad eficaz terapéuticamente de la composición inventiva, los liposomas vacíos en solitarios inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos, y un método de prevención de una infección viral en un sujeto en riesgo. En otro aspecto más, la presente invención proporciona un tratamiento o prevención de una infección viral que comprende administrar a un mamífero que lo necesita, preferiblemente un ser humano, una cantidad eficaz terapéuticamente de la composición inventiva, los liposomas vacíos en solitario inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos sin co-administrar un tratamiento antiviral estándar. Además, la invención se refiere a un tratamiento de infecciones virales que comprende administrar a un mamífero que lo necesita, preferiblemente un ser humano, una cantidad eficaz terapéuticamente de la composición inventiva, los liposomas vacíos en solitario inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos, antes, después, juntos o en paralelo con un tratamiento antiviral estándar de la infección viral.

50 Otros aspectos y realizaciones de la presente invención serán evidentes a medida que esta descripción continúe.

Descripción de figuras

55 FIG. 1: Inhibición del virus del pseudotipo VHC-1b E1E2 mediante una mezcla inventiva de liposomas vacíos: la inhibición dependiente de la dosis de la etapa de entrada del VHC en células Huh7.5 mediante varias concentraciones de dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos (empleando 6 diluciones, de 0 a 2000 ug/ml). La escala izquierda y los rombos negros indican el porcentaje de inhibición de entrada del virus en relación con las infecciones de control que carecen de dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos (% VC). La escala derecha y los cuadrados blancos indican el porcentaje de citotoxicidad en relación con la muerte celular de células Huh7.5 no tratadas con dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos (% CC).

FIG. 2: Inhibición del virus del pseudotipo VHC-1b E1E2 por cianovirina (PG51) como control positivo. La inhibición dependiente de la dosis de la etapa de entrada de VHC en las células Huh7.5 por varias concentraciones de cianovirina (empleando 6 diluciones, de 0 a 1000 ug/ml). La escala izquierda y los rombos negros indican el porcentaje de inhibición de entrada del virus en relación con las infecciones de control que carecen de cianovirina (% VC). La escala derecha y los cuadrados blancos indican el porcentaje de citotoxicidad en relación con la muerte celular de las células Huh7.5 no tratadas con cianovirina (% CC).

FIG. 3: Inhibición del virus del pseudotipo VHC-1b E1E2 por anti-CD81 como control positivo. La inhibición dependiente de la dosis de la etapa de entrada de VHC en las células Huh7.5 por varias concentraciones de anti-CD81 (empleando 6 diluciones, de 0 a 1000 ug/ml). La escala izquierda y los rombos negros indican el porcentaje de inhibición de entrada del virus en relación con las infecciones de control que carecen de anti-CD81 (% VC). La escala derecha y los cuadrados blancos indican el porcentaje de citotoxicidad en relación con la muerte celular de las células Huh7.5 no tratadas con anti-CD81 (% CC).

Descripción detallada de la invención

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos empleados en la presente memoria tienen los mismos significados que los entendidos comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

El término "aproximadamente", como se emplea en la presente memoria, tendrá el significado de +/- 10%. Por ejemplo, aproximadamente el 50% significará del 45% al 55%. Preferiblemente, el término "aproximadamente", como se emplea en la presente memoria, tendrá el significado de +/- 5%. Por ejemplo, aproximadamente 50% significará 47,5% a 52,5%.

Cuando los términos "un" o "uno" se emplean en la presente memoria, significan "al menos uno" a menos que se indique lo contrario. En particular, el empleo de los términos "un" o "uno" en asociación con dicho liposoma vacío en solitario, dicho primer liposoma vacío y dicho segundo liposoma vacío para describir los liposomas vacíos y las mezclas de liposomas vacíos de acuerdo con la presente invención normalmente y preferiblemente se refieren a liposomas vacíos en solitario y mezclas de liposomas vacíos que comprenden dichos primeros liposomas vacíos y dichos segundos liposomas vacíos.

Por lo tanto, en un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición para el uso en un método para tratar o prevenir, preferiblemente para tratar, una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano, en donde dicha composición comprende, preferiblemente consiste en, (i) un liposoma vacío en solitario, en donde dicho liposoma vacío en solitario se selecciona de (a) un liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso); o (b) un liposoma vacío que consiste en esfingomielina; o (ii) una mezcla de liposomas vacíos, en donde dicha mezcla de liposomas vacíos comprende (a) un primer liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso), y (b) un segundo liposoma vacío que consiste en esfingomielina.

El término "liposoma vacío", como se emplea en la presente memoria, se refiere a liposomas, preferiblemente liposomas artificiales, que tienen un diámetro medio de 20 nm a 10 μ m, preferiblemente de 20 a 500 nm, y más preferiblemente que tienen un diámetro medio de 20 nm a 200 nm, y consisten en una o más bicapas de fosfolípidos, y son normalmente y preferiblemente vesículas unilamelares y vesículas multilamelares, más preferiblemente vesículas unilamelares pequeñas (SUVs, de sus siglas en inglés). En una realización preferida, el término "liposoma vacío" como se emplea en la presente memoria, normalmente y preferiblemente se refiere a liposomas que no incorporan ningún fármaco, normalmente y preferiblemente a liposomas que no incorporan ningún fármaco farmacéutico. "Incorporado/que incorpora como se emplea en la presente memoria y cuando se refiere a los liposomas vacíos de la invención, normalmente y preferiblemente, significa encapsulado/que se encapsula en la cavidad del liposoma, dentro de la doble capa potencial del liposoma, o como parte de la capa de membrana del liposoma. En otra realización preferida, el término "liposoma vacío" como se emplea en la presente memoria, normalmente y preferiblemente se refiere a liposomas que consisten en esfingomielina y colesterol o que consisten en esfingomielina de acuerdo con la presente invención y únicamente comprenden además compuestos inorgánicos solubles en agua y/o moléculas orgánicas solubles en agua, en donde normalmente y preferiblemente dichos compuestos inorgánicos solubles en agua y/o moléculas orgánicas solubles en agua derivan de la síntesis de dichos liposomas vacíos inventivos, y en donde normalmente y preferiblemente, dichos compuestos inorgánicos solubles en agua son sales inorgánicas seleccionadas preferiblemente de NaCl, KCl, MgCl₂, y en donde dichas moléculas orgánicas solubles en agua son agentes reguladores, en donde preferiblemente dichas moléculas orgánicas solubles en agua se seleccionan de glucosa y HEPES. Normalmente y preferiblemente, dichos compuestos inorgánicos solubles en agua y/o moléculas orgánicas solubles en agua se incorporan en los liposomas vacíos inventivos de la presente invención debido a su presencia durante la producción de los liposomas vacíos inventivos. En otra realización preferida, el término "liposoma vacío" como se emplea en la presente memoria, normalmente y preferiblemente se refiere a liposomas que consisten en esfingomielina y colesterol o que consisten en esfingomielina de acuerdo con la presente invención y en donde dichos liposomas vacíos no comprenden un antioxidante. En otra realización preferida, el término "liposoma vacío" como se emplea en la presente memoria, normalmente y preferiblemente se refiere a liposomas que consisten en esfingomielina y colesterol o que consisten

en esfingomielina de acuerdo con la presente invención y únicamente comprenden compuestos inorgánicos solubles en agua y/o moléculas orgánicas solubles en agua, en donde normalmente y preferiblemente dichos compuestos inorgánicos solubles en agua y/o moléculas orgánicas solubles en agua derivan de la síntesis de dichos liposomas vacíos inventivos, y en donde normalmente y preferiblemente, dichos compuestos inorgánicos solubles en agua son sales inorgánicas seleccionadas preferiblemente de NaCl, KCl, MgCl₂, y en donde dichas moléculas orgánicas solubles en agua son agentes reguladores, en donde preferiblemente dichas moléculas orgánicas solubles en agua se seleccionan de glucosa y HEPES, y en donde dichos liposomas vacíos que consisten en esfingomielina y colesterol o que consisten en esfingomielina de acuerdo con la presente invención no comprenden un antioxidante.

En una realización preferida, dicha composición para el uso en el método de acuerdo con la invención comprende, preferiblemente consiste en, un único liposoma vacío, en el que dicho único liposoma vacío se selecciona de (a) un liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso); o (b) un liposoma vacío que consiste en esfingomielina.

En otra realización preferida, dicha composición para el uso en dicho método de acuerdo con la invención comprende, preferiblemente consiste en, un único liposoma vacío, en el que dicho liposoma vacío único es un liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso). Preferiblemente, la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es de 20%-70% (peso por peso), más preferiblemente la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es 25%-60% (peso por peso). En otra realización preferida, la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es del 45% al 55% (peso por peso), y de nuevo, preferiblemente, dicha cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es aproximadamente el 50% (peso por peso). Por lo tanto, en una realización muy preferida de la presente invención, dicho liposoma vacío único comprende, preferiblemente consiste en 50% (peso por peso) de esfingomielina y 50% (peso por peso) de colesterol para el uso en un método para tratar una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano.

En otra realización preferida, dicha composición para el uso en dicho método de acuerdo con la invención comprende, preferiblemente consiste en, un único liposoma vacío, en donde dicho liposoma vacío único es un liposoma vacío que consiste en esfingomielina.

En otra realización preferida, dicha composición para el uso en dicho método de acuerdo con la invención comprende, preferiblemente consiste en una mezcla de liposomas vacíos, en donde dicha mezcla de liposomas vacíos comprende (a) un primer liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso); y (b) un segundo liposoma vacío que consiste en esfingomielina. Preferiblemente, la cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es del 20%-70% (peso por peso), más preferiblemente la cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es del 25%-60% (peso por peso). En otra realización preferida, la cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es del 45%-55% (peso por peso), y de nuevo, preferiblemente, dicha cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es aproximadamente del 50% (peso por peso). Por tanto, en una realización muy preferida de la presente invención, dicho primer liposoma vacío comprende, preferiblemente consiste en el 50% (peso por peso) de esfingomielina y 50% (peso por peso) de colesterol para emplear en un método para tratar una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano.

En otra realización preferida, dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 30% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 70% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío, y en donde preferiblemente dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 40% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 60% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío. En una realización preferida adicional, dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 45% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 55% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío, y en donde preferiblemente dicha mezcla de liposomas vacíos comprende aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío.

En otra realización preferida, dicha mezcla de liposomas vacíos consiste en dicho primer liposoma vacío y dicho segundo liposoma vacío.

En una realización preferida adicional, dicha mezcla de liposomas vacíos consiste en dicho primer liposoma vacío y dicho segundo liposoma vacío, y en donde dicha mezcla de liposomas vacíos consiste en al menos el 40% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 60% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío, y en donde preferiblemente dicha mezcla de liposomas vacíos consiste en aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío.

En una realización preferida adicional, dicha mezcla de liposomas vacíos consiste en dicho primer liposoma vacío y dicho segundo liposoma vacío, y en donde dicha mezcla de liposomas vacíos consiste en al menos el 40% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 60% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío, y en donde preferiblemente dicha mezcla de liposomas vacíos consiste en aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío, y en donde la cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es del 45%-55% (peso por peso), y en donde preferiblemente dicha cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es aproximadamente del 50% (peso por peso).

peso).

En una realización preferida adicional, los liposomas vacíos empleados o para emplear en la presente invención, son liposomas, preferiblemente liposomas artificiales, que tienen un diámetro medio de 20 nm a 10 µm, preferiblemente de 20 a 500 nm, y más preferiblemente tienen un diámetro medio de 20 nm a 200 nm. Los liposomas vacíos empleados o para emplear en la presente invención son liposomas que no encapsulan ningún fármaco. Los liposomas vacíos empleados o para emplear en la presente invención no comprenden ningún fármaco. Los liposomas vacíos empleados o para emplear en la presente invención no incorporan otros fármacos. "Incorporado" como se emplea en la presente memoria, normalmente y preferiblemente significa encapsulado en la cavidad del liposoma, dentro de la doble capa potencial del liposoma, o como parte de la capa de membrana del liposoma. Los liposomas empleados o para emplear en la presente invención consisten en una o más bicapas de fosfolípidos, normalmente y preferiblemente vesículas unilamelares y multilamelares. Las más preferidas son las vesículas unilamelares pequeñas (SUVs).

En otro aspecto, la presente invención proporciona un liposoma vacío que consiste en esfingomiélin y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso) para emplear en un método para tratar o prevenir, preferiblemente para tratar, una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano. En otra realización preferida, dicho liposoma vacío para emplear en dicho método de acuerdo con la invención comprende, preferiblemente consiste en, esfingomiélin y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es del 20% -70% (peso por peso), más preferiblemente la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es del 25%- 60% (peso por peso). En otra realización preferida, la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es del 45%-55% (peso por peso), y de nuevo más preferiblemente la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es aproximadamente del 50% (peso por peso). Por tanto, en una realización muy preferida de la presente invención, dicho liposoma vacío comprende, preferiblemente consiste en el 50% (peso por peso) de esfingomiélin y 50% (peso por peso) de colesterol para emplear en un método para tratar una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un liposoma vacío que consiste en esfingomiélin para emplear en un método para tratar o prevenir, preferiblemente para tratar, una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano.

En otro aspecto más, la presente invención proporciona una mezcla de liposomas vacíos que comprende (a) el primer liposoma vacío que consiste en esfingomiélin y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso); y (b) un segundo liposoma vacío que consiste en esfingomiélin; para emplear en un método para tratar o prevenir, preferiblemente tratar, una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano. Preferiblemente, la cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es del 20%-70% (peso por peso), más preferiblemente la cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es del 25% -60% (peso por peso). En otra realización preferida, la cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es del 45%-55% (peso por peso), y de nuevo, preferiblemente, dicha cantidad de colesterol de dicho primer liposoma vacío es aproximadamente del 50% (peso por peso). Por tanto, en una realización muy preferida de la presente invención, dicho primer liposoma vacío comprende, preferiblemente consiste en el 50% (peso por peso) de esfingomiélin y el 50% (peso por peso) de colesterol para emplear en un método para tratar una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano. En otra realización preferida, dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 30% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 70% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío, y en donde preferiblemente dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 40% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 60% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío. En otra realización preferida, dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 45% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 55% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío, y en donde preferiblemente dicha mezcla de liposomas vacíos comprende aproximadamente 50% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío.

Por tanto, en una realización muy preferida de la presente invención, dicha mezcla de liposomas vacíos comprende, preferiblemente consiste en, (i) un primer liposoma vacío que consiste en aproximadamente el 50% (peso por peso) de esfingomiélin y aproximadamente el 50% (peso por peso) de colesterol, y (ii) un segundo liposoma vacío que consiste en (100%) esfingomiélin; para emplear en un método para tratar o prevenir una infección viral.

Los liposomas se fabrican según los métodos de extrusión o sonicación o microfluidización (por ejemplo, homogeneización a alta presión) conocidos en la técnica. Por ejemplo, los lípidos se mezclan en un disolvente orgánico, tal como el cloroformo. El cloroformo se evapora y la película lipídica seca se hidrata en una disolución acuosa, tal como disolución salina normal (NaCl al 0,9%), disolución de Krebs o disolución de Tyrode y se somete a sonicación para producir liposomas. Si es necesario, el tamaño de los liposomas puede controlarse mediante su extrusión a través de filtros de membrana de diámetro de poro fijo. Los liposomas producidos individualmente de diferentes composiciones lipídicas se mezclan en las proporciones requeridas normalmente y preferiblemente justo antes de la aplicación.

La superficie lipídica (bicapa) de los liposomas se forma espontáneamente en disolventes de base acuosa y, por lo tanto, atrapa el agua y otras moléculas inorgánicas y orgánicas solubles en agua, que pueden estar presentes durante la producción de liposomas, dentro del liposoma. Los liposomas vacíos, empleados en el presente estudio,

son liposomas producidos en tampones que contienen agua y moléculas orgánicas o inorgánicas simples (por ejemplo, NaCl, KCl, MgCl₂, glucosa, HEPES y/o CaCl₂).

5 En otra realización preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto. En otra realización preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, y en donde dicho virus envuelto se selecciona del virus del herpes simple, virus de la varicela-zóster, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, virus de la hepatitis B, virus de la rubeola, alfavirus, virus de la coriomeningitis linfocítica, virus del dengue, virus de la hepatitis C, fiebre amarilla, virus de la gripe A, virus de la gripe B, virus de la gripe C, isavirus, thogotovirus, virus del sarampión, virus de las paperas, virus sincitial respiratorio, virus de la peste bovina, virus del moquillo canino, virus de la encefalitis de California, hantavirus, virus de la rabia, virus del Ébola, virus de Marburgo, coronavirus, virus de la enfermedad de Borna, arterivirus, virus de la arteritis equina y virus de la inmunodeficiencia humana. Más preferiblemente, dicho virus envuelto se selecciona de un virus de la hepatitis C (VHC), un virus de inmunodeficiencia (VIH), un virus linfotrófico T, un herpesvirus, un virus del sarampión, un virus de la varicela, un virus de la gripe, un virus del Ébola o un virus de Marburgo, de nuevo más preferiblemente dicho virus envuelto es un virus de la hepatitis C (VHC). En otra realización preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, y en donde dicho virus envuelto se selecciona de un virus de la hepatitis C (VHC), un virus de inmunodeficiencia (VIH), un virus linfotrófico T, un herpesvirus, un virus del sarampión, un virus de la varicela, un virus de la gripe, un virus del Ébola o un virus de Marburgo. En otra realización preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, y en donde dicho virus envuelto se selecciona de un virus de la hepatitis C (VHC), un virus de inmunodeficiencia (VIH), un virus linfotrófico T, un herpesvirus, un virus del sarampión, un virus de la varicela, un virus del Ébola o un virus de Marburgo.

25 En otra realización preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus seleccionado del virus herpes simple, virus de la varicela-zóster, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, virus de la hepatitis B, virus de la rubeola, alfavirus, virus de la coriomeningitis linfocítica, virus del dengue, virus de la hepatitis C, fiebre amarilla, virus de la gripe A, virus de la gripe B, virus de la gripe C, isavirus, thogotovirus, virus del sarampión, virus de las paperas, virus respiratorio sincitial, virus de la peste bovina, virus del moquillo canino, virus de la encefalitis de California, hantavirus, virus de la rabia, virus del Ébola, Virus de Marburgo, coronavirus, virus de la enfermedad de Borna, arterivirus, virus de la arteritis equina y virus de la inmunodeficiencia humana.

30 En otra realización preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus seleccionado de un virus de la hepatitis C (VHC), un virus de inmunodeficiencia (VIH), un virus linfotrófico T, un herpesvirus, un virus del sarampión, un virus de la varicela, un virus de la gripe, un virus del Ébola o un virus de Marburgo.

En otra realización preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus seleccionado de un virus de la hepatitis C (VHC), un virus de inmunodeficiencia (VIH), un virus linfotrófico T, un herpesvirus, un virus del sarampión, un virus de la varicela, un virus Ébola o un virus de Marburgo.

35 En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, en donde dicho virus envuelto es un virus de la hepatitis C.

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus de la hepatitis C.

40 En una realización muy preferida de la presente invención, la composición comprende, preferiblemente consiste en, una mezcla de liposomas vacíos que comprende (a) un primer liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es aproximadamente del 50% (peso por peso); y (b) un segundo liposoma vacío que consiste en esfingomielina; para emplear en un método para tratar una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano, en donde dicha infección viral es una infección por un virus de la hepatitis C. Preferiblemente, dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 40% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 60% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío. Más preferiblemente, dicha mezcla de liposomas vacíos comprende aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío.

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, en donde dicho virus envuelto es un herpesvirus.

50 En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un herpesvirus.

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, en el que dicho virus envuelto es un herpesvirus, en donde dicho herpesvirus es un herpesvirus simple tipo 1 (VHS-1).

55 En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un herpesvirus, en donde dicho herpesvirus es un virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1).

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus

envuelto, en donde dicho virus envuelto es un herpesvirus, en donde dicho herpesvirus es un herpesvirus humano 6 (HHV6).

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un herpesvirus, en donde dicho herpesvirus es un herpesvirus humano 6 (HHV6).

- 5 En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, en donde dicho virus envuelto es un virus de inmunodeficiencia.

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus de inmunodeficiencia.

- 10 En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, en donde dicho virus envuelto es un virus de inmunodeficiencia, en donde dicho virus de inmunodeficiencia es un virus de inmunodeficiencia tipo 1 (VIH-1).

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus de inmunodeficiencia, en donde dicho virus de inmunodeficiencia es un virus de inmunodeficiencia tipo 1 (VIH-1).

- 15 En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, en donde dicho virus envuelto es un virus de la gripe.

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus de la gripe.

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, en donde dicho virus envuelto es un virus del sarampión.

- 20 En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus del sarampión.

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, en donde dicho virus envuelto es un virus del Ébola.

- 25 En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus del Ébola.

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus envuelto, en donde dicho virus envuelto es un virus de Marburgo.

En otra realización muy preferida de la presente invención, dicha infección viral es una infección por un virus de Marburgo.

- 30 En otras realizaciones, el método para tratar o prevenir una infección viral de acuerdo con la presente invención comprende además la administración de una cantidad eficaz terapéuticamente de la composición inventiva, los liposomas vacíos únicos inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos a un mamífero que lo necesita, preferiblemente en un ser humano.

- 35 Para el tratamiento de infecciones virales, los liposomas vacíos únicos inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos se aplican en forma de inyecciones intravenosas, intramusculares, intraperitoneales o subcutáneas. Las disoluciones de inyección se preparan por métodos estándar conocidos en la técnica, por ejemplo, como suspensiones de los liposomas en disolución salina normal estéril. También se considera aplicar los liposomas vacíos únicos inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos como aerosol para el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio, o en una formulación útil para aplicación sublingual o bucal, para aplicación intraocular o intravítrea, así como para aplicación tópica (por ejemplo, gotas oculares, suspensiones líquidas tópicas para la piel, y similares). La preparación de tales formulaciones a partir de liposomas, tales como los liposomas vacíos de la invención, es conocida en la técnica. Las medidas profilácticas basadas en los liposomas vacíos únicos inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos serán útiles en la prevención de infecciones virales, por ejemplo, en la prevención de enfermedades del tracto respiratorio por la población en general durante las epidemias de gripe estacional y en otros entornos que favorezcan la propagación de enfermedades virales.
- 40
- 45

- En otras realizaciones, el método para tratar o prevenir una infección viral de acuerdo con la presente invención comprende además la administración de una cantidad eficaz terapéuticamente de la composición inventiva, los liposomas vacíos únicos inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos a un mamífero que lo necesita, preferiblemente en un ser humano, en donde la composición de la invención, los liposomas vacíos únicos de la invención o la mezcla inventiva de liposomas vacíos no se administran junto con ningún otro fármaco, y por tanto, normalmente en solitario, en donde adicionalmente y preferiblemente, la composición de la invención, los liposomas vacíos únicos inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos no se administran conjuntamente al mismo tiempo o en cualquier momento hasta 4 semanas antes y después, preferiblemente hasta 2 semanas antes y
- 50

después.

En su capacidad de inhibir un virus para unirse, fusionarse, e infiltrarse en una célula diana, los liposomas vacíos únicos inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos no son tóxicos y es poco probable que ejerzan presión antiviral selectiva, lo que favorecería la aparición de virus resistentes a los fármacos; son una alternativa atractiva a otros fármacos antivirales.

En otras realizaciones de la presente invención, el método comprende además la administración de una cantidad eficaz terapéuticamente de la composición inventiva, los liposomas vacíos en solitario inventivos o la mezcla inventiva de liposomas vacíos a un mamífero que lo necesite, preferiblemente en un ser humano, antes, después, juntos o en paralelo con un tratamiento antiviral estándar de la infección viral.

Se entiende que los liposomas vacíos como se definen anteriormente y las mezclas de liposomas vacíos como se definen anteriormente pueden, si se desea, emplearse juntos o en combinación con otros compuestos. Por ejemplo, es posible agregar componentes para preparar composiciones farmacéuticas estándar. También se considera agregar fármacos o compuestos similares a fármacos, o agregar liposomas nuevos o conocidos que incorporan fármacos o compuestos similares a fármacos en el interior de los liposomas. Los fármacos y los profármacos considerados son, en particular, los tratamientos virales estándar. Los compuestos considerados son, por ejemplo, interferones, interferones pegilados, inhibidores de nucleósidos, tales como Ribavirina, inhibidores de proteasa, inhibidores de polimerasa, inhibidores de transcriptasa inversa nucleósidos (ITIN), inhibidores de transcriptasa inversa no nucleósidos (ITINN), análogos de nucleósidos sintéticos, inhibidores de entrada, tales como antagonistas del co-receptor CCR5, inhibidores de la transferencia de la cadena de la integrasa del VIH, inhibidores de la fusión viral, inhibidores de la neuraminidasa, inhibidores de proteínas virales, tales como inhibidores del canal M2. Los compuestos considerados son vacunas antivirales y antibacterianas, así como tratamientos antibacterianos.

Otros fármacos considerados son, por ejemplo, los anti-inflamatorios, que incluyen los corticosteroides (glucocorticoides), tales como hidrocortisona (cortisol), cortisona, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, dexametasona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, acetato de fludrocortisona, acetato de desoxicorticosterona (DOCA), aldosterona, budesonida, desonida, y fluocinonida; fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, por ejemplo, salicilatos, tales como aspirina (ácido acetilsalicílico), diflunisal, y salsalato; derivados de ácido propiónico, tales como ibuprofeno, dexibuprofeno, naproxeno, fenoprofeno, ketoprofeno, dexketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozina y loxoprofeno; derivados de ácido acético, tales como indometacina, tolmetina, sulindaco, etodolaco, ketorolaco, diclofenaco, y nabumetona; derivados del ácido enólico (oxicam), tales como piroxicam, meloxicam, tenoxicam, droxicam, lornoxicam, e isoxicam; derivados de ácido fenámico (fenamatos), tales como ácido mefenámico, ácido meclofenámico, ácido flufenámico, y ácido tolfenámico; inhibidores selectivos de COX-2 (coxibs), tales como Celecoxib; y otros, como licofelona.

Otros fármacos considerados son, por ejemplo, vasopresores y vasoconstrictores, tales como vasopresina, oximetazolina, fenilefrina, propilhexedrina, pseudoefedrina, epinefrina, norepinefrina, dopamina, y antihistamínicos.

También se consideran otros tipos de fármacos, por ejemplo, paracetamol (analgésico), anfotericina B (contra infecciones fúngicas), bupivacaína (control del dolor post-quirúrgico), morfina (analgésico), verteporfina (enfermedades oftalmológicas), estradiol (trastornos menopáusicos), compuestos aganocide®.

En este tratamiento combinado, los liposomas vacíos y las mezclas de liposomas de la invención pueden considerarse como adyuvantes, y el método de tratamiento correspondiente como tratamiento adyuvante.

40 Ejemplos

Liposomas:

Se adquirió esfingomielina (SM; CAS N° 85187-10-6) de yema de huevo de Sigma (S0756), Avanti Polar Lipids (860061) o Lipoid GmbH.

Se adquirió colesterol (CHOL; CAS N° 57-88-5) de grasa de lana de ovino de Sigma (C-8667), Avanti Polar Lipids (70000) o Dishman Netherlands B.V.

De acuerdo con la presente invención, la esfingomielina (SM) y el colesterol (CHOL) comprendidos por los liposomas vacíos de la invención o de los que consisten o las mezclas de liposomas vacíos de la invención pueden obtenerse bien de fuentes naturales como se indica anteriormente o alternativamente a través de síntesis química.

Preparación de liposomas

Se prepararon liposomas de esfingomielina unilamelar: colesterol (relación molar 35:65) y sólo esfingomielina (100%) empleando sonicación o microfluidización (por ejemplo, homogeneización a alta presión o según un protocolo de proceso de hidratación, extrusión, y diafiltración).

Sonicación:

Los lípidos se disolvieron individualmente en cloroformo a concentraciones de 1 mg/ml y se almacenaron a -20°C. Para la preparación de liposomas, las disoluciones de cloroformo de los lípidos individuales se mezclaron en las proporciones, según se requiera, para producir rutinariamente 50-500 µl de la disolución final. El cloroformo se evaporó por completo durante 20-50 min a 60°C. A los tubos que contienen películas de lípidos secos se añadieron 50 µl o 100 µl de tampón de Tyrode (NaCl 140 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 1 mM, glucosa 10 mM, HEPES 10 mM; pH=7,4) que contiene CaCl₂ 2,5 mM y se agitó vigorosamente. Las suspensiones de lípidos se incubaron durante 20-30 minutos a 45°C en un termomezclador Eppendorf con agitación vigorosa. Para producir liposomas, las suspensiones lipídicas finales se sometieron a sonicación 3x5 segundos a 6°C en un sonicador Bandelin Sonopuls al 70% de potencia. Las preparaciones liposomales se dejaron durante al menos 1 hora a 6°C antes de emplearse en experimentos.

Protocolo de proceso de hidratación, extrusión, y diafiltración:

En un método alternativo, cada formulación liposomal se realizó mediante el método de hidratación y extrusión de etanol. Los lípidos se disolvieron individualmente en etanol y *t*-butanol mientras se mezcla a temperatura elevada (~55°C). La disolución lipídica se añadió después a una disolución tampón PBS (cloruro de sodio, fosfato monosódico, dihidrato y fosfato disódico, dihidrato disuelto en agua para inyección mientras se mezclaba, ajustado a un pH de 7,0-7,4 bien con ácido clorhídrico (HCl) o hidróxido de sodio (NaOH) según se requiera, y se filtró a través de un filtro de 0.2 µm) mientras se mezcla a temperatura elevada (~65°C) durante aproximadamente 30 minutos. El fluido del proceso resultante se extruyó después repetidamente a través de una serie de membranas grabadas en policarbonato a presión y temperatura elevadas (~65°C) hasta alcanzar el tamaño de partícula deseado, medido por dispersión dinámica de la luz (ejemplo de extrusora: extrusoras LIPEX®). El fluido del proceso resultante se concentró después aproximadamente al doble usando un cartucho de fibra hueca de corte de peso molecular de 100.000 y a continuación se sometió a diafiltración frente a aproximadamente 10 intercambios de volumen de la disolución tampón PBS para eliminar el etanol y el *t*-butanol. Al final de la diafiltración, el fluido del proceso se concentró en aproximadamente un 30% para permitir a la dilución posterior dirigirse a la concentración lipídica. Antes de la dilución, el fluido del proceso se filtró a través de un filtro de grado de esterilización de 0.2 µm para eliminar cualquier liposoma más grande que pudiera obstruir el filtro durante la filtración estéril. El fluido del proceso se diluyó después a un objetivo de 40 mg/mL de lípidos totales con la disolución tampón PBS. Las formulaciones finales se filtraron asépticamente a través de dos filtros de grado de esterilización de 0,2 µm en serie, y se cargaron asépticamente en viales de tubos de vidrio.

La concentración de lípidos individuales en los liposomas siempre se proporciona como la relación peso por peso. En liposomas que contienen esfingomiélna y colesterol, la relación 1:1 (peso por peso) corresponde al 50% (peso por peso) o a la relación molar 35:65. Las especificaciones se describen en la Tabla 1.

Tabla 1: Especificaciones de liposomas

Diámetro medio (nm)	Índice de polidispersión	Potencial Zeta (mV)	Osmolalidad (mmol/kg)	pH
40 a 400	<0,45	-25 a +2	250-400	6,5-8,0

Ejemplo 1

Ensayo de inhibidor de entrada de HCVpp

El ensayo de inhibidor de entrada de pseudopartículas de VHC (HCVpp, de sus siglas en inglés) empleó células Huh7.5 y virus VIH-1 que se pseudotiparon con el VHC (GT1a o GT1b) E1/E2. En resumen, las células se colocaron en placas un día antes del ensayo. El día del ensayo, se aspiró el medio y se añadió a cada pocillo 50µl de compuesto 2X y 50 µl de virus previamente titulado. Las placas de toxicidad recibieron sólo el compuesto de ensayo en medio de cultivo de tejidos. El día 5, se retiró el medio de todos los pocillos de las placas de eficacia, seguido de un lavado con medio y adición de 100 µl de reactivo de luciferasa de luciérnaga y posterior detección de luciferasa empleando un detector Microbeta (Wallac). Para las placas de toxicidad, se añadieron 10 µl de reactivo MTS a todos los pocillos y se incubaron hasta que los valores de densidad óptica de control celular se encontraban entre 1 y 2. Se ensayó la citotoxicidad del compuesto mediante reducción de colorante MTS (CellTiter®96 Reagent, Promega, Madison WI). Se determinó y se informó sobre el% de reducción en la entrada viral; se proporcionó el CI50 (concentración que inhibe la entrada del virus en un 50%), TC50 (concentración que da como resultado en el 50% de muerte celular) y un TI calculado (índice terapéutico TC50/CI50) junto con una representación gráfica de la actividad antiviral y la citotoxicidad del compuesto cuando se ensayaron los compuestos en dosis-respuesta. Cada ensayo incluyó 1 µMg/ml de cianovirina y/o 10 µg/ml de anticuerpo CD81 como control positivo.

Preparación celular

5 Se obtuvieron células Huh7.5 (línea celular de hepatocitos humanos) de APath LLC y se cultivaron en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) enriquecido con 5% de suero fetal bovino (FBS), L-glutamina 2,0 mM, 100 unidades/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina, y aminoácidos no esenciales 0,1 mM ("medio de crecimiento"). Las células se subcultivaron dos veces por semana en una proporción dividida de 1:15 empleando técnicas de cultivo celular estándar. Las determinaciones del número total de células y del porcentaje de viabilidad se realizaron empleando un hemocitómetro y exclusión de azul de tripano. La viabilidad celular debe ser superior al 95% para que las células se utilicen en el ensayo. Las células se sembraron en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos el día antes del ensayo a una concentración de 8-10 x 10³ células/pocillo.

10 Preparación del virus

15 El virus utilizado para este ensayo fue VIH-1, donde se genosuprimió la envoltura del VIH y después se pseudotipó con el VHC (GT1a o GT1b) E1/E2. Este virus también tenía un gen indicador de luciferasa. Para cada ensayo, se extrajo una parte alícuota de virus previamente titulada del congelador (-80°C) y se dejó descongelar lentamente a temperatura ambiente en una cabina de seguridad biológica. El virus se resuspendió y diluyó en medio de cultivo tisular de manera que la cantidad de virus añadido a cada pocillo fue de MOI (multiplicidad de infección) 1.

Formato de placa

20 Cada placa de eficacia contenía pocillos de control celular (sólo células), pocillos de control de virus (células más virus), y pocillos experimentales (fármaco más células más virus). Los pocillos de placa de toxicidad contenían pocillos de control celular (sólo células) y pocillos experimentales (células más fármaco en ausencia de virus). Las muestras se evaluaron para determinar la eficacia antiviral con mediciones por triplicado utilizando 6 concentraciones a medias diluciones (u otras) (también se podrían realizar 12 concentraciones) para determinar los valores de Ci50 y la citotoxicidad celular, si es detectable.

La Tabla 2 y la Tabla 3 representan los formatos de placa de eficacia y toxicidad estándar, respectivamente, para ensayar compuestos a 6 concentraciones empleando una concentración representativa de ensayo alto de 100 µM.

25 Tabla 2: Formato de placa de eficacia

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CONTROL DE CÉLULAS (SOLO CÉLULAS)											
B	Células + Virus Fármaco 1 100µM			Células + Virus Fármaco 2 100µM			Células + Virus Fármaco 3 100µM			Células + Virus Fármaco 4 100 µM		
C	Células + Virus Fármaco 1 32µM			Células + Virus Fármaco 2 32 µM			Células + Virus Fármaco 3 32 µM			Células + Virus Fármaco 4 32 µM		
D	Células + Virus Fármaco 1 10µM			Células + Virus Fármaco 2 10 µM			Células + Virus Fármaco 3 10 µM			Células + Virus Fármaco 4 10 µM		
E	Células + Virus Fármaco 1 3,2µM			Células + Virus Fármaco 2 3,2µM			Células + Virus Fármaco 3 3,2µM			Células + Virus Fármaco 4 3,2µM		
F	Células + Virus Fármaco 1 1µM			Células + Virus Fármaco 2 1µM			Células + Virus Fármaco 3 1µM			Células + Virus Fármaco 4 1µM		
G	Células + Virus Fármaco 1 0,32µM			Células + Virus Fármaco 2 0,32µM			Células + Virus Fármaco 3 0,32µM			Células + Virus Fármaco 4 0,32µM		
H	CONTROL DE VIRUS (CÉLULAS + VIRUS)											

Tabla 3: Formato de placa de toxicidad

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CONTROL DE CÉLULAS (SÓLO CÉLULAS)											
B	Células + Fármaco 1 100µM			Células + Fármaco 2 100 µM			Células + Fármaco 3 100 µM			Células + Fármaco 4 100 µM		
C	Células + Fármaco 1 32 µM			Células + Fármaco 2 32 µM			Células + Fármaco 3 32 µM			Células + Fármaco 4 32 µM		
D	Células + Fármaco 1 10 µM			Células + Fármaco 2 10 µM			Células + Fármaco 3 10 µM			Células + Fármaco 4 10 µM		
E	Células + Fármaco 1 3,2µM			Células + Fármaco 2 3,2µM			Células + Fármaco 3 3,2µM			Células + Fármaco 4 3,2µM		
F	Células + Fármaco 1 1µM			Células + Fármaco 2 1 µM			Células + Fármaco 3 1µM			Células + Fármaco 4 1 µM		
G	Células + Fármaco 1 0,32µM			Células + Fármaco 2 0,32 µM			Células + Fármaco 3 0,32µM			Células + Fármaco 4 0,32 µM		
H	CONTROL DE CÉLULAS (SÓLO CÉLULAS)											

Ejemplo 2

Inhibición de VHC-1b mediante la mezcla inventiva de liposomas vacíos

5 Una mezcla inventiva muy preferida de liposomas vacíos mostró eficacia antiviral. Dicha mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos consiste en una mezcla 1:1 (peso por peso) de dichos primeros liposomas vacíos y dichos segundos liposomas, en donde dichos primeros liposomas vacíos se componen de una relación en peso 1:1 (1:1 peso por peso; relación molar 35:65) de esfingomielina (SM) y colesterol (CHOL), y dichos segundos liposomas vacíos están compuestos exclusivamente por SM. Especialmente, dicha mezcla inventiva muy preferida de liposomas vacíos inhibe la infección por VHC de una manera dependiente de la dosis sin citotoxicidad aparente. Esta eficacia antiviral positiva empleando partículas de VHC pseudotipadas indica que la mezcla inventiva de liposomas vacíos inhibe la etapa de entrada en el ciclo de vida del VHC (Figura 1).

15 FIG. 1 muestra la inhibición dependiente de la dosis de la etapa de entrada en las células Huh7.5 por dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos. Las células Huh7.5 se infectaron con VHCpp en presencia de diversas concentraciones de la mezcla inventiva de liposomas vacíos. Se midió la actividad de luciferasa empleando un detector Microbeta, para determinar los valores de CI50 (concentración que inhibe la entrada del virus en un 50%). Los datos se presentan en la Figura 1 como porcentaje de inhibición con respecto a las infecciones de control que carecen de compuesto (células Huh7.5 positivas a luciferasa, no tratadas con una mezcla inventiva de liposomas vacíos) (Porcentaje de control de virus:% VC).

20 Los resultados se expresan como media ± desviación estándar de los experimentos por triplicado. La mezcla inventiva de liposomas vacíos no muestra citotoxicidad aparente. Se infectaron células Huh7.5 con HCVpp en presencia de dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos, empleando 6 diluciones. La citotoxicidad de dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos se evaluó mediante reducción de tinción MTS para determinar los valores de TC50 (concentración que da como resultado una muerte celular del 50%), y se comparó con la de las células Huh7.5 no tratadas con dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos (Porcentaje de Control celular:% CC). Por lo tanto, se calculó un índice terapéutico (TI = TC50/ CI50).

Se obtuvieron los siguientes valores: CI50: 49,7 ug / ml; CI90:>2000 ug/ml; TC50:> 2000 ug/ml y TI:> 40,24.

30 Cada ensayo incluyó cianovirina (PG51) 1 µMg/ml (Figura 2) y/o 10 µg/ml de anticuerpo CD81 (Figura 3) como control positivo para reducir la entrada de VHC a las células. Se obtuvieron los valores respectivos: CI50: 40,5 ng/ml (para cianovirina (P51G)) y 221,5 ug/ml (para anti-CD81); CI90: 208,9 ng/ml (para cianovirina (P51G)) y 1196,8 ng/ml (para anti-CD81); TC50: >1000 ng/ml (para cianovirina (P51G)) y >5000 ng / ml (para anti-CD81), y TI: >24,69 (para cianovirina (P51G)) y >22,57 (para anti-CD81).

Este estudio demuestra, por primera vez, que los agentes liposomales que imitan las balsas lipídicas, compuestos de fosfolípidos exclusivamente, son suficientes para prevenir eficazmente la entrada viral del VHC. La inhibición de la fusión y/o entrada viral tiene un alto potencial preventivo y terapéutico. Los enfoques terapéuticos que se dirigen a la fusión y/o entrada viral apuntan principalmente a modular la envoltura del virus con el fin de prevenir la unión de la célula huésped y, por tanto, actuar como bloqueadores de la fusión / entrada viral. Por el contrario, la mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos actúa como un señuelo al que la envoltura viral se une preferentemente en lugar de dirigirse a las células huésped. Por lo tanto, consiste en un compuesto anti-viral con un nuevo modo de acción.

Ejemplo 3

10 Ensayo de inhibidor de entrada de HCVcc

La mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos del Ejemplo 2 se evalúa empleando el sistema HCVcc. Más precisamente, las células de hepatoma Huh-7 se infectan con el virus quimérico del genotipo 2a de HCVcc (HCV2aCh) que tiene o no un gen informador de luciferasa Renilla, en presencia de varias concentraciones de la mezcla inventiva de liposomas vacíos. Los niveles de infección por HCVcc se evalúan midiendo la actividad de luciferasa o empleando la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa cuantitativa (qRT-PCR), para determinar los valores de CI50 (concentración que inhibe la entrada del virus en un 50%). Se determina un índice terapéutico basado en la dosis letal sobre la dosis eficaz.

Ejemplo 4

Ensayo antiviral combinado de replicón de VHC

20 La mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos del Ejemplo 2 se evalúa empleando una línea celular de hepatoma humano Huh7 que contiene un replicón subgenómico del genotipo 1b (cepa Con1) del VHC con un indicador estable de luciferasa y tres mutaciones adaptativas al cultivo celular, la línea celular ET. La actividad de la luciferasa se mide para evaluar el impacto en la replicación del VHC, en solitario o en combinación con otro fármaco para el tratamiento del VHC y los candidatos a fármacos del VHC. Se incluyen ensayos de Resistencia / selección de resistencia cruzada.

Ejemplo 5

Modelos animales *in vivo*

30 La mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos del Ejemplo 2 se ensaya en modelos animales de infecciones virales. Las administraciones únicas o múltiples de dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos, en diferentes momentos en el desarrollo de la enfermedad, se llevan a cabo por vía intravenosa o subcutánea o intranasal o intracolónica.

35 Para la evaluación de los efectos protectores de dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos contra el VHC, dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos se administra a un modelo de ratón quimérico de hígado humano, modelo de ratón transgénico inmunocompetente con factor de entrada o ratones humanizados infectados con VHC. Dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos se administra en solitario o en combinación con otro tratamiento antiviral, tal como inhibidores de nucleósido / nucleótido y no nucleósido polimerasa, inhibidores no estructurales de la proteína 5A (NS5A), inhibidores de la proteasa, agentes que se dirigen al microARN, un antagonista del receptor B1 eliminador, o interferón alfa. Se ensaya el potencial terapéutico evaluando la enfermedad hepática, la persistencia de la infección y la respuesta inmune.

40 Para la evaluación de los efectos protectores de dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos contra el VIH, los modelos de ratón humanizado se tratan con dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos.

Ejemplo 6

Ensayo *in vitro* de VIH CXCR4-Trópico

45 La mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos del Ejemplo 2 se incuba con HeLa CD4 LTR β -gal durante 1 hora a 37°C; después se agregan las células HL2/3. 48 horas después de la adición de células HL2/3, se determina la expresión de la enzima β -galactosidasa por quimioluminiscencia. La línea celular HL2/3, que tiene una alta producción de proteínas Env, Tat, Rev, y Nef de VIH-1, desencadena la fusión celular mediada por Env VIH-1 dependiente de CD4 que conduce a la mezcla citoplasmática de los contenidos de las dos líneas celulares y la posterior expresión de β -galactosidasa. El bloqueo de la fusión conduce a una disminución en los niveles de expresión de β -galactosidasa. Como se describe en el Ejemplo 1, la citotoxicidad de la mezcla inventiva de liposomas vacíos se ensaya en paralelo empleando la reducción de tinte MTS.

Ejemplo 7

Ensayo *in vitro* de VIH CCR5-Trópico

- 5 La mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos del Ejemplo 2 se incuba con células MAGI-R5 y HeLa R5-16 durante 40 a 48 h. La co-incubación de las células MAGI-R5 y HeLa R5-16 provoca la fusión celular que conduce a la mezcla citoplasmática de los contenidos de las dos líneas celulares y la posterior expresión de β -galactosidasa. La expresión de la enzima β -galactosidasa se determina por quimioluminiscencia. El bloqueo de la fusión conduce a una disminución en los niveles de expresión de β -galactosidasa.

Ejemplo 8

Ensayos in vitro frente a VHS-1

- 10 Se infectan monocapas confluentes de células Vero con diferentes diluciones de HVHS-1 y se exponen a la mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos del Ejemplo 2. Se observan efectos citopáticos y se visualizan las placas, por ejemplo, mediante tinción de células con cristal violeta, y se cuentan. El aciclovir se emplea como control positivo.

Ejemplo 9

- 15 *Ensayos in vitro* frente a la gripe

Se ensayan los efectos citopáticos inducidos por el virus en presencia o ausencia de la mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos del Ejemplo 2 empleando células alveolares humanas adenocarcinómicas (A549) y células de riñón canino Madin-Darby (MDCK) expuestas a la gripe. La ribavirina se emplea como control positivo.

Ejemplo 10

- 20 *Ensayos in vitro* frente al virus del sarampión

- 25 Se ensayan los efectos citopáticos inducidos por el virus en presencia o ausencia de la mezcla inventiva preferida de liposomas vacíos del Ejemplo 2 empleando células diploides humanas MRC-5 expuestas al virus del sarampión. Los efectos protectores de dicha mezcla inventiva de liposomas vacíos se ensayan en solitario o en combinación con los fármacos inhibidores actuales, tales como la neuraminidasa y el M2, con el fin de evaluar su potencial para ayudar a prevenir y controlar las pandemias de gripe.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende, preferiblemente que consiste en,

(i) un único liposoma vacío, en donde dicho liposoma vacío único se selecciona de

(a) un liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso); o

(b) un liposoma vacío que consiste en esfingomielina;

o

(ii) una mezcla de liposomas vacíos; en donde dicha mezcla de liposomas vacíos comprende

(a) un primer liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso); y

(b) un segundo liposoma vacío que consiste en esfingomielina;

para emplear en un método para tratar o prevenir una infección viral en un mamífero, preferiblemente en un ser humano.

2. La composición para el uso de la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende, preferiblemente consiste en, un solo liposoma vacío, en donde dicho liposoma vacío en solitario es un liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso).

3. La composición para el uso de la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende, preferiblemente consiste en, una mezcla de liposomas vacíos, en donde dicha mezcla de liposomas vacíos comprende (a) un primer liposoma vacío que consiste en esfingomielina y colesterol, en donde la cantidad de colesterol es al menos del 20% (peso por peso); y (b) un segundo liposoma vacío que consiste en esfingomielina.

4. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es del 20%-70% (peso por peso), y en donde preferiblemente la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es del 25%-60% (peso por peso).

5. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es del 45%-55% (peso por peso), y en donde preferiblemente la cantidad de colesterol de dicho liposoma vacío es aproximadamente del 50% (peso por peso).

6. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 30% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 70% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío, y en donde preferiblemente dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 40% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 60% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío.

7. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicha mezcla de liposomas vacíos comprende al menos el 45% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y como máximo el 55% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío, y en donde preferiblemente dicha mezcla de liposomas vacíos comprende aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho primer liposoma vacío y aproximadamente el 50% (peso por peso) de dicho segundo liposoma vacío.

8. La composición para el uso de la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende, preferiblemente consiste en, un único liposoma vacío, en donde dicho único liposoma vacío es un liposoma vacío que consiste en esfingomielina.

9. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha infección viral es una infección por un virus envuelto.

10. La composición para el uso de la reivindicación 9, en la que dicho virus envuelto se selecciona de un virus de hepatitis C (VHC), un virus de inmunodeficiencia (VIH), un virus linfotrófico T, un herpesvirus, un virus del sarampión, un virus de la varicela, un virus de la gripe, un virus del Ébola o un virus de Marburgo.

11. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha infección viral es una infección por el virus de la hepatitis C.

12. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha infección viral es una infección por el virus de inmunodeficiencia (VIH), y en donde preferiblemente dicha infección viral es una infección por el virus de inmunodeficiencia tipo 1 (VIH-1).

13. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha infección viral es una infección por herpesvirus, en donde preferiblemente dicha infección por herpesvirus es una infección por el virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1) o una infección por herpesvirus humano 6 (HHV6).

5 14. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha infección viral es una infección por el virus de la gripe o una infección por el virus del sarampión.

15. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha infección viral es una infección por el virus del Ébola o una infección por el virus de Marburgo.

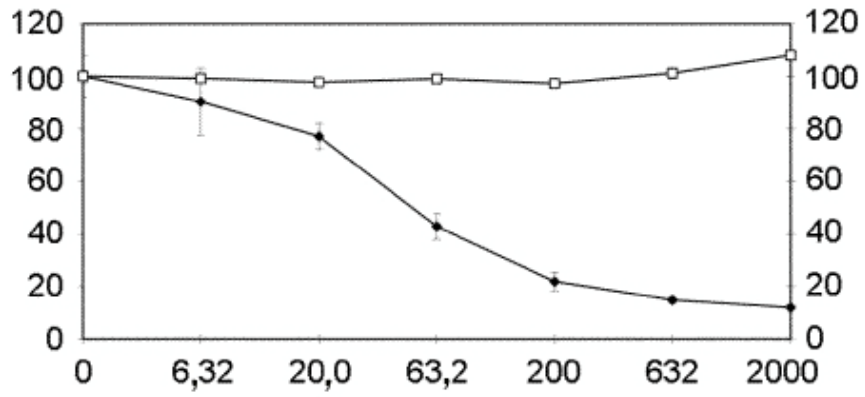


FIG. 1

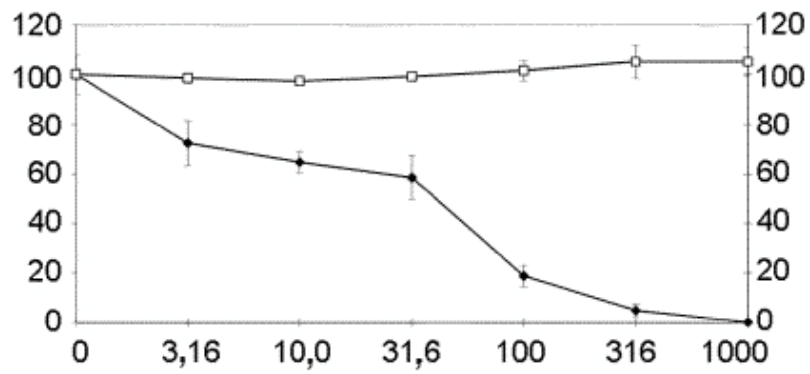


FIG. 2

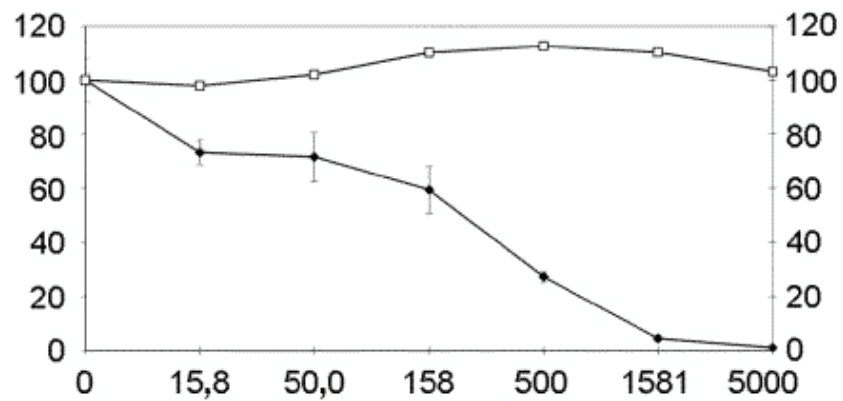


FIG. 3