(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 574 231**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/127 (2006.01)
A61K 31/335 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2004** **E 10180750 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016** **EP 2286794**

(54) Título: **Uso de liposomas catiónicos que comprenden paclitaxel**

(30) Prioridad:

15.10.2003 EP 03023539
09.01.2004 EP 04000361

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.06.2016

(73) Titular/es:

SYNCORE BIOTECHNOLOGY CO., LTD (100.0%)
84 Chung Shan Road
Tung Shan Shine, I-Lan, TW

(72) Inventor/es:

TEIFEL, MICHAEL;
MICHAELIS, UWE;
SAUER, BIRGITTA;
BARTELHEIM, KERSTIN y
BRUNNER, CHRISTOPH

(74) Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 574 231 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

Uso de liposomas catiónicos que comprenden paclitaxel

La presente invención se refiere al uso de preparaciones farmacéuticas que comprenden paclitaxel para la administración a un paciente humano que lo necesita.

Se conocen bien en la técnica el uso de fármacos antimitóticos, tales como taxanos, como agentes terapéuticos para pacientes humanos que sufren enfermedades que se asocian con una mitosis aumentada.

El paclitaxel tiene un mecanismo único de acción y un amplio espectro de actividad antiproliferativa debido a que el paclitaxel se une a los microtúbulos y promueve la polimerización de la tubulina y estabiliza los microtúbulos ensamblados. Como resultado, el paclitaxel bloquea el ciclo celular en profase dando como resultado una acumulación de células en la fase G2/M.

Desafortunadamente, el paclitaxel tiene muy baja solubilidad en agua, que hace difícil proporcionar una forma farmacéutica adecuada. Actualmente, el paclitaxel se formula y administra en un vehículo que contiene Cremophor EL (un aceite de ricino polietoxilado) y etanol en una proporción 50:50 (vol/vol). Esta solución se diluye 1:10 en solución salina antes de administrarse a seres humanos. Sin embargo, diversas reacciones secundarias graves, tales como reacciones de hipersensibilidad e hipertensivas, nefrotoxicidad y neurotoxicidad, por ejemplo, se han informado en pacientes debido a la formulación de Cremophor EL.

Adicionalmente, a pesar de que el paclitaxel (entre otros fármacos antitumorales) es un fármaco antitumoral convencional potente, sólidamente establecido ({Rowinsky, 1995 nº 1}, {Awada, 2002 nº 2}, {Seidman, 2003 nº 3}, {Romanini, 2003 nº 4}), se observan frecuentemente tumores no respondedores a los fármacos y metástasis en pacientes con cáncer ({Blom, 1996 nº 5}, {Modi, 2002 nº 6}, {Ozols, 2003 nº 7}). Las células tumorales genéticamente inestables, que se dividen rápidamente adquieren la capacidad de superar el efecto inhibitorio del crecimiento de un fármaco anti-cancerígeno seleccionado ({Vogelstein, 1988 nº 8}, {Kerbel, 1991 nº 9}). Esta capacidad normalmente no se limita a un único fármaco (primera línea) sino que se extiende a otros fármacos que se usan tras el desarrollo de la primera resistencia. Por lo tanto, este fenómeno se denomina multirresistencia a fármacos (MRF). Como el número de fármacos antineoplásicos disponibles y aprobados es muy limitado para muchos tipos de cáncer, muchos pacientes sucumben debido a que sus tejidos cancerígenos expresan MRF. El problema obvio, por lo tanto, es encontrar métodos y medios para poner fin a los tumores resistentes a fármacos, especialmente células resistentes a fármacos, que ya son resistentes frente al respectivo fármaco.

Se han adoptado varios enfoques para hacer frente a los problemas mencionados anteriormente. La estrategia convencional es aumentar las dosis hasta la dosis máxima tolerada (DMT) e intentar erradicar todas las células tumorales tan rápida y completamente como sea posible ({Schünemann, 1999 nº 10}, {Heidemann, 1997 nº 11}). Es obvio que esta estrategia provoca efectos secundarios graves y no puede prolongarse a periodos más largos. Por lo tanto, esta pauta de tratamiento consiste en ciclos de un periodo de tratamiento corto (normalmente 1 día – 1 semana) a la DMT y un intervalo libre de tratamiento de varias semanas (normalmente 3-4 semanas), para permitir al paciente recuperarse de los obligatorios efectos secundarios ({Schünemann, 1999 nº 10}, {Heidemann, 1997 nº 11}, {Romanini, 2003 nº 4}). En muchos casos, el crecimiento tumoral también puede reanudarse durante estos periodos libres de fármaco. Lo más importante, este enfoque falla en muchos pacientes donde las células tumorales desarrollan un alto nivel de resistencia que les permite adaptarse con las concentraciones del fármaco a la DMT. Los pacientes se vuelven refractarios a la terapia.

La solución más común es comenzar el tratamiento con un segundo fármaco ({Blom, 1996 nº 5}, {Awada, 2002 nº 2}, {Seidman, 2003 nº 3}, {Heinemann, 2003 nº 12}, {Thigpen, 2003 nº 13}). En el mejor de los casos, la segunda línea de tratamiento es exitosa y el paciente se cura. Sin embargo una experiencia común es que los tumores solo responden durante un cierto tiempo conduciendo a una regresión temporal del tumor. Después de esto, los tumores también se vuelven resistentes al segundo fármaco. Seguir con esta estrategia conduce al desarrollo de tumores multirresistentes a los fármacos que finalmente son refractarios a todos los fármacos anti-cancerígenos disponibles ({Blom, 1996 nº 5}, {Seidman, 2003 nº 3}, {Thigpen, 2003 nº 13}).

Otra posibilidad es tratar a los pacientes inmediatamente con una combinación de 2 o más fármacos ({Heinemann, 2003 nº 12}, {Kuenen, 2002 nº 14}, {Sledge, 2003 nº 15}, {Ozols, 2003 nº 7}, {Reck, 2003 nº 17}, {Romanini, 2003 nº 4}). Esta estrategia puede ser más exitosa ya que disminuye la probabilidad para el desarrollo de una resistencia doble a los fármacos. Sin embargo, esta estrategia necesita estudiar intensivamente tiempo y coste de las combinaciones de fármacos adecuadas. Una segunda desventaja es que los efectos secundarios también pueden aumentar ({Kuenen, 2002 nº 14}, {Ozols, 2003 nº 7}). La ventana terapéutica se hace pequeña de manera concomitante y los efectos tóxicos pueden superponer el beneficio terapéutico concebido. También en este caso, puede desarrollarse multirresistencia a los fármacos y la terapia volverse ineficaz ({Zimpfer-Rechner, 2003 nº 18}, {Sledge, 2003 nº 15}, {Sledge, 2003 nº 16}, {Ozols, 2003 nº 7}).

La consecuencia de las experiencias negativas con dichas estrategias de tratamiento tradicionales es desarrollar cada vez más fármacos nuevos para ampliar las opciones de tratamiento descritas anteriormente. Obviamente, es una prueba muy intensiva en tiempo y coste para fármacos más potentes que finalmente conducirá en muchos casos a tumores refractarios a la terapia. En los últimos años, este reconocimiento ha conducido a un nuevo enfoque para evitar la resistencia tumoral. Se basa en la asunción de que la MRF está provocada por la sobreexpresión de enzimas que permiten a las células expulsar los fármacos quimioterapéuticos. El miembro más famoso de esta categoría de enzimas se llama glicoproteína-p (p-gp). Se localiza en la membrana citoplasmática y exporta de manera dirigida por ATP ({Nobmann, 2001 nº 19}, {Thomas, 2003 nº 20}) compuestos como paclitaxel o doxorrubicina ({Harker, 1985 nº 21}, {Fellner, 2002 nº 22}, {Kiesewetter, 2003 nº 23}). Este concepto conduce al desarrollo de inhibidores de p-gp que están destinados a revertir la resistencia a los fármacos mediada por p-gp. Por lo tanto el término quimiosensibilizadores se ha acuñado para esta clase de moléculas. Uno de los primeros ejemplos ensayados ha sido el verapamilo. Estudios clínicos, sin embargo, han revelado resultados insatisfactorios, posiblemente debido a la baja actividad específica ({Thomas, 2003 nº 20}, {Kohler, 2003 nº 24}). La investigación adicional conduce a una segunda generación de compuestos que de nuevo se ha encontrado que no son aplicables clínicamente ({Leonard, 2002 nº 25}, {Thomas, 2003 nº 20}). Hoy unas pocas sustancias de la tercera generación, una conocida como tariquidar, están en ensayos clínicos ({Agrawal, 2003 nº 26}, {Callies, 2003 nº 27}). La utilidad y la amplia aplicabilidad de estos compuestos, sin embargo, es aún poco clara ({Leonard, 2002 nº 25}, {Thomas, 2003 nº 20}). A pesar de haber mejorado mucho en comparación con los quimiosensibilizadores de primera generación, los compuestos de tercera generación también provocan efectos secundarios y pueden tener consecuencias imprevistas por todo el cuerpo. Se necesitan ensayos clínicos amplios y hasta ahora es incierto si tales enfoques pueden convertirse en una práctica general en el futuro ({Leonard, 2002 nº 25}, {Thomas, 2003 nº 20}).

Se han usado diferentes sistemas de liberación para mejorar el efecto del paclitaxel y/o reducir la toxicidad. Los liposomas son uno de los muchos vehículos que se han desarrollado para aumentar la solubilidad acuosa y por lo tanto la eficacia, combinado con menos toxicidad.

La Patente de Estados Unidos n.º 5.648.090, la Patente de Estados Unidos n.º 5.424.073 y la Patente de Estados Unidos n.º 6.146.659 (Rahman et al.) proporcionan un encapsulado liposomal de paclitaxel para un método para el tratamiento de cáncer en mamíferos. Estas patentes divulgan un método de administración al huésped de una composición farmacéutica de una cantidad terapéuticamente efectiva de liposomas que incluye un material que forma liposomas, cardiolipina, y un agente tal como paclitaxel, o un derivado antineoplásico de paclitaxel, o una mezcla de los mismos, con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En la Patente de Estados Unidos n.º 6.146.659, se proporciona un método de administración de un taxano a un paciente mediante la administración de taxano durante un periodo de menos de una hora en una cantidad de aproximadamente 75 a 300 mg/m^2, donde el taxano está encapsulado en liposomas. Los liposomas divulgados en el mismo están cargados negativamente.

La Patente de Estados Unidos n.º 6.090.955 también se refiere a un taxol encapsulado en liposomas. Los liposomas divulgados en los ejemplos consisten únicamente en el lípido neutro de fosfatidilcolina de huevo. Los liposomas se usan para experimentos con animales. En un cáncer de mama humano (MaTu) se muestra que la preparación del liposoma, ya después de una única administración de 50 mg/kg, expone una mejor eficacia terapéutica y una menor hemotoxicidad que el taxol libre (tratamiento de 4 días, 12,5 kg/mg por día) (Tabla 1 y Fig. 1).

Desde la divulgación de McDonald et al., Patente de Estados Unidos n.º 5.837.283, documentos WO 98/40052 y WO 01/17508 se sabe que los liposomas cargados positivamente se dirige específicamente a las células endoteliales angiogénicas. A este respecto, Campbell et al. 2001, J. Pharm. Sci., Am Pharm. Ass. Washington, pp. 1091-1105, han evaluado la influencia de lípidos catiónicos en la estabilidad y las propiedades de membrana de liposomas que contienen paclitaxel. No se presentan datos clínicos en pacientes humanos.

El documento WO 2004/002455 se refiere a un método de estabilización de un compuesto de bajo peso molecular en un liposoma catiónico, donde dicho compuesto tiene una baja solubilidad en una membrana lipídica y/o una baja permeabilidad a través de una membrana lipídica. No se divulgan los agentes activos lipófilos tales como paclitaxel. No se divulga una administración del fármaco mensual definida.

El documento 2004/002468 se refiere a un método de producción de una preparación liposomal catiónica que comprende un compuesto lipófilo. No se divulga un régimen de dosis para un paciente humano.

Emerson, 2000, Pharm. Sci. and Techn. Today, Elsevier Trends J. Cambridge, pp. 205-209, divulga la liberación liposomal de camptotecinas. Los liposomas están compuestos de colesterol, una fosfatidilcolina y un excipiente.

Por lo tanto, el problema subyacente de la presente invención ha sido proporcionar un método de administración de paclitaxel a un sujeto que lo necesita en una cantidad terapéuticamente efectiva sin efectos secundarios graves. Particularmente, debería evitarse la aparición de efectos secundarios causados por la necesidad de usar altas dosis de tratamiento iniciales de paclitaxel en la solicitud de preparaciones de la técnica anterior tales como preparaciones de Cremophor.

En la presente solicitud, se presentan datos clínicos en pacientes humanos de la administración de preparaciones liposomales catiónicas que contienen paclitaxel.

Asombrosamente, se ha encontrado que la administración de una preparación liposomal catiónica que tiene un alto contenido de paclitaxel como ingrediente activo afecta selectivamente a las células endoteliales angiogénicas en un paciente humano que lo necesita. Por lo tanto, en un primer aspecto, la invención comprende la administración a un paciente de una preparación liposomal catiónica que comprende de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 98 % en moles de lípido catiónico, paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y lípidos neutros y/o aniónicos de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles en el tratamiento de una afección asociada con angiogénesis seleccionada de la cicatrización de heridas, cáncer, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad inflamatoria crónica seleccionada de artritis reumatoide, dermatitis, psoriasis o endometriosis en una cantidad de aproximadamente 0,01 a 2,5 mg de paclitaxel/kg de peso corporal de dicho paciente por dosis unitaria única en una dosis mensual de aproximadamente 0,25 mg hasta aproximadamente 60 mg de paclitaxel/kg de peso corporal de dicho paciente.

El término “aproximadamente” como se usa en la presente memoria descriptiva describe una desviación del valor dado de más o menos el 5 %.

Las formulaciones anteriores son particularmente adecuadas para la prevención y/o tratamiento de tumores y/o metástasis tumorales resistentes a múltiples fármacos, opcionalmente en combinación con otros protocolos de tratamiento.

Las ventajas de la presente invención son las siguientes:

- altas cantidades del ingrediente activo
- identificación selectiva
- eficacia mejorada
- evitar la multirresistencia a fármacos (diana diferente)
- afectar la resistencia a fármacos eliminando directamente las células resistentes
- afectar la metástasis
- menores efectos secundarios comparado con la quimioterapia tradicional o con liposomas neutros o aniónicos
- reducción del dolor relacionado con la enfermedad
- mejora de la calidad de vida
- estabilización del peso corporal durante el tratamiento
- efectos sinérgicos con regímenes de terapia tradicional

La presente composición farmacéutica puede administrarse a una dosis mensual de 0,25 mg hasta 60 mg de paclitaxel liposomal / kg de peso corporal (pc) de un paciente, preferentemente de aproximadamente 0,5 mg hasta aproximadamente 30 mg de paclitaxel liposomal / kg de pc y más preferentemente de aproximadamente 1,0 mg hasta aproximadamente 15 mg de paclitaxel liposomal / kg de pc. En promedio, un paciente humano tiene aproximadamente 70 kg de peso corporal y es aproximadamente 172 cm de alto.

El plan de dosis puede variar desde una multitud de veces diarias a una multitud de veces durante un periodo de un mes, cada una de dichas veces se separa por un intervalo de entre un día y 3 semanas. El periodo total del tratamiento es preferentemente de al menos un mes.

La composición farmacéutica también es adecuada para la administración a largo plazo durante al menos 3 meses, durante al menos 4 meses, durante al menos 6 meses o durante al menos 12 meses y hasta 6 meses, hasta 12 meses, hasta 18 meses, hasta 24 meses o incluso más tiempo.

Incluso en tratamientos a largo plazo, normalmente no se dan las resistencias a los fármacos o los efectos secundarios perjudiciales como alopecia, nefropatía u otros. Adicionalmente, normalmente no se requiere premedicación como corticosteroides o antihistamínicos.

La presente composición farmacéutica puede administrarse en un plan de dosis unitaria única de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 2,5 mg, preferentemente de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 2,5 mg de paclitaxel liposomal por kg de peso corporal. Preferentemente, se administra de 0,1 a 2,5 mg de paclitaxel liposomal por kg de peso corporal por dosis unitaria única.

En una realización adicional preferida, se administra de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg de paclitaxel liposomal / kg de pc por dosis mensual. En una realización aún más preferida se administra de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 mg de paclitaxel liposomal / kg de pc por dosis mensual. En una realización aún más preferida se administra de aproximadamente 1 a aproximadamente 7,5 mg de paclitaxel liposomal / kg de pc por dosis mensual.

La dosis adecuada de paclitaxel liposomal para la aplicación a un paciente humano está en una cantidad de aproximadamente 0,01 a 2,5, preferentemente de 0,02 a 1,7, y más preferentemente de 0,05 a 0,5 mg / kg de pc al menos una vez al día, por ejemplo dos veces, tres veces o más cada día; aproximadamente de 0,01 a 5,0, preferentemente de 0,02 a 2,5 y más preferentemente de 0,05 a 1,7 mg / kg de pc cada dos días; aproximadamente de 0,01 a 2,5, preferentemente de 0,02 a 2,5 y más preferentemente de 0,05 a 2,5 mg / kg de pc una vez a la semana.

La dosis mensual preferentemente se administra en una multitud de unidades de dosis únicas. La administración de una multitud de dosis bajas puede ser al menos tan eficaz como la administración de una única dosis alta. Durante el intervalo de tratamiento las unidades de dosis y los intervalos de dosis pueden permanecer constantes. Por otro lado, las unidades de dosis pueden aumentarse durante el intervalo de tratamiento, por ejemplo comenzando con una dosis inicial y aumentando en una o varias etapas a una dosis de consolidación, que puede ser 3 o 4 o más veces mayor que la dosis inicial. Adicional o alternativamente, el intervalo de tratamiento entre las dosis únicas puede alterarse, por ejemplo disminuyéndose o aumentándose durante el periodo de tratamiento.

La dosis preferida para una administración única es de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 1,75 mg / kg de pc.

Un protocolo de tratamiento adicional preferido que comprende la administración de dicha preparación liposomal catiónica es

(i) al menos 3 veces, especialmente 3-5 veces en la primera semana, seguido de un intervalo de 1-3 semanas sin administración, y opcionalmente una o varias repeticiones de este protocolo, donde la dosis mensual es preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg/kg de pc, especialmente de aproximadamente 5 a aproximadamente 7,5 mg/kg de pc,
(ii) una vez en la primera semana seguido de un intervalo de al menos una semana, especialmente 1-3 semanas, sin administración, y opcionalmente una o varias repeticiones de este protocolo, donde la dosis mensual es preferentemente de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 mg/kg de pc.
(iii) una vez a la semana durante una semana o varias semanas sucesivas, preferentemente durante al menos 4 semanas, donde la dosis mensual es preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 7,5 mg/kg de pc, especialmente de aproximadamente 3 a aproximadamente 6 mg/kg de pc, o
(iv) una combinación de (i), (ii) y/o (iii).

Para las aplicaciones en medicina humana, la presente composición farmacéutica puede administrarse en una dosis mensual preferentemente de aproximadamente 9 mg hasta aproximadamente 3700 mg, especialmente hasta aproximadamente 2237 mg/m^2 de superficie corporal (sc) humana, de aproximadamente 18 hasta aproximadamente 1168 mg/m^2 de sc y de aproximadamente 37 mg hasta aproximadamente 584 mg/m^2 de sc. En promedio un paciente humano tiene una superficie corporal de aproximadamente 1,84 m^2. Por lo tanto, para una persona media de 70 kg de peso corporal y 172 cm de altura, los valores preferidos para dosis mensuales, dosis única, etc., que se han indicado anteriormente en mg/kg de peso corporal (pc) pueden convertirse para aplicaciones humanas a los valores correspondientes en mg/m^2 de superficie corporal (sc) humana mediante la multiplicación con un factor específico de especie de acuerdo con métodos conocidos.

En un aspecto adicional más, la preparación liposomal catiónica de la presente invención comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, preferentemente a aproximadamente 98 % en moles de lípido catiónico, paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles, preferentemente de al menos aproximadamente 2 % en moles; y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para la fabricación de una composición farmacéutica para una terapia de combinación simultánea, separada, o secuencial con una dosis eficaz en conjunto de al menos un agente activo adicional, que se selecciona de agentes antineoplásicos, especialmente agentes antimitóticos seleccionados de paclitaxel, agentes alquilantes, especialmente platino que contienen compuestos seleccionados de cisplatino, carboplatino, agentes inhibidores de las topoisomerasas de ADN seleccionados de camptotecina o doxorrubicina, antimetabolitos de ARN/ADN, especialmente 5-fluorouracilo o gemcitabina y otros compuestos que tienen actividad antitumoral, o un compuesto que reduce o elimina las reacciones de hipersensibilidad que comprende esteroides, antihistamínicos, antagonistas de los receptores H2 y combinaciones de los mismos en una cantidad suficiente para prevenir reacciones anafilácticas letales, o un compuesto que comprende ranitidina, dexametasona, difenhidramina, famotidina, hidrocortisona, clemastina, cimetidina, prednisolona, clorfeniramina, clorfenamina, maleato de dimetindeno y prometazina, o un quimiosensibilizador que comprende moduladores del ciclo celular, sustancias que revierten una resistencia a los fármacos seleccionadas de verapamilo, sustancias vasoactivas seleccionadas de fármacos antihipertensivos, sustancias que modifican las interacciones de liposomas catiónicos con componentes de la sangre seleccionados de protamina, y/o calor y/o radiación y/o crioterapia, donde la dosis unitaria única de paclitaxel liposomal está en una cantidad de aproximadamente 0,01 a 2,5 mg de paclitaxel/kg de peso corporal de dicho paciente.

En una realización preferida, la preparación liposomal comprende paclitaxel en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en moles, particularmente de aproximadamente 2 % en moles, a aproximadamente 8 % en moles,

preferentemente en una cantidad de aproximadamente 0,5 % en moles, particularmente de aproximadamente 2 % en moles, a aproximadamente 5 % en moles, más preferentemente en una cantidad de aproximadamente 1 % en moles a aproximadamente 4 % en moles y más preferentemente en una cantidad de aproximadamente 2,5 % en moles a aproximadamente 3,5 % en moles. La preparación liposomal catiónica de la presente invención no comprende esencialmente cristales de paclitaxel.

La preparación liposomal de la presente invención es una preparación liposomal catiónica que comprende lípidos catiónicos en una cantidad de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, particularmente a aproximadamente 70 % en moles, preferentemente de aproximadamente 40 % en moles a aproximadamente 60 % en moles y más preferentemente de aproximadamente 45 % en moles, a aproximadamente 55 % en moles. La preparación y los lípidos catiónicos se caracterizan por tener un potencial zeta positivo en solución de KCl aproximadamente 0,05 M a pH de aproximadamente 7,5 a temperatura ambiente.

Los lípidos catiónicos preferidos de la preparación liposomal son sales de N-[1-(2,3-dioleoiloxi)propil]-N,N,N-trimetil amonio, por ejemplo el metilsulfato (DOTAP). Otros lípidos útiles para la presente invención pueden incluir:

DDAB, bromuro de dimetildioctadecil amonio; 1,2-diaciloxi-3-trimetilamonio propanos, (incluyendo pero sin limitación a: dioleoilo, dimiristoilo, dilauroilo, dipalmitoilo y diestearoilo; también pueden unirse dos cadenas acilo diferentes al esqueleto de glicerol); N-[1-(2,3-dioloiloxi)propil]-N,N-dimetil amino (DODAP); 1,2-diaciloxi-3-dimetilamonio propanos, (incluyendo pero sin limitación a: dioleoilo, dimiristoilo, dilauroilo, dipalmitoilo y diestearoilo; también pueden unirse dos cadenas acilo diferentes al esqueleto de glicerol); cloruro de N-[1-(2,3-dioleiloxi)propil]-N,N,N-trimetilamonio (DOTMA); 1,2-dialquiloxi-3-dimetilamonio propanos, (incluyendo pero sin limitación a: dioleilo, dimiristilo, dilaurilo, dipalmitilo y diestearilo; también pueden unirse dos cadenas acilo diferentes al esqueleto de glicerol); dioctadecilamidoglicilespermina (DOGS); 3β-[N-(N',N'-dimetilamino-etano)carbamoil]colesterol (DC-Col); trifluoroacetato de 2,3-dioleoiloxi-N-(2-(esperminacarboxamido)-etil)-N,N-dimetil-1-propanaminio (DOSPA); β-alanil colesterol; bromuro de cetil trimetil amonio (CTAB); diC14-amidina; N-*terc*-butil-N'-tetradecil-3-tetradecilaminopropionamidina; 14Dea2; cloruro de N-(alfa-trimetilamonioacetil)didodecil-D-glutamato (TMAG); cloruro de O,O'-ditetradecanoil-N-(trimetilamonio-acetil)dietanolamina; 1,3-dioleoiloxi-2-(6-carboxi-espermil)-propilamida (DOSPER); yoduro de N,N,N',N'-tetrametil-N,N'-bis(2-hidroxiletil)-2,3-dioleoiloxi-1,4-butanodiamonio; derivados de cloruro de 1-[2-(aciloxi)etil]2-alquil(alquenil)-3-(2-hidroxietil)-imidazolinio como se ha descrito por Solodin et al. (1995) Biochem. 43:13537-13544, tales como cloruro de 1-[2-(9(Z)-octadecenoiloxi)etil]-2-(8(Z)-heptadecenil-3-(2-hidroxietil)imidazolinii (DOTIM), cloruro de 1-[2-(hexadecanoiloxi)etil]-2-pentadecil-3-(2-hidroxietil)imidazolinio (DPTIM), derivados de compuestos de amonio cuaternario del 2,3-dialquiloxipropilo, que contienen un residuo hidroxialquilo en la amina cuaternaria, como se ha descrito por ejemplo por Felgner et al. [Felgner et al. J. Biol. Chem. 1994, 269, 2550-2561] tales como: bromuro de 1,2-dioleoil-3-dimetil-hidroxietil amonio (DORI), bromuro de 1,2-dioleiloxipropil-3-dimetil-hidroxietil amonio (DORIE), bromuro de 1,2-dioleiloxipropil-3-dimetil-hidroxipropil amonio (DORIE-HP), bromuro de 1,2-dioleiloxipropil-3-dimetil-hidroxibutil amonio (DORIE-HB), bromuro de 1,2-dioleiloxipropil-3-dimetil-hidroxipentil amonio (DORIE-Hpe), bromuro de 1,2-dimiristiloxipropil-3-dimetil-hidroxiletil amonio (DMRIE), bromuro de 1,2-dipalmitiloxipropil-3-dimetil-hidroxietil amonio (DPRIE), bromuro de 1,2-diesteriloxipropil-3-dimetil-hidroxietil amonio (DSRIE); ésteres catiónicos de acilcarnitinas como se ha informado por Santaniello et al. [US5498633]; triésteres catiónicos de fosfatidilcolina, es decir 1,2-diacil-sn-glicerol-3-etilfosfocolinas, donde las cadenas hidrocarbonadas pueden ser saturadas o insaturadas y ramificadas o no ramificadas con una longitud de cadena de C_{12} a C_{24}, no siendo las dos cadenas acilo necesariamente idénticas.

En una realización preferida, la preparación liposomal opcionalmente comprende al menos un lípido neutro y/o aniónico. Los lípidos neutros son lípidos que tienen una carga neta neutra. Los lípidos aniónicos o anfífilos son moléculas que tienen una carga neta negativa. Estos pueden seleccionarse de esteroles o lípidos tales como colesterol, fosfolípidos, lisolípidos, lisofosfolípidos, esfingolípidos o lípidos pegilados con una carga neta neutra o negativa. Los lípidos neutros y aniónicos útiles incluyen de este modo: fosfatidilserina, fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol (sin limitación a un azúcar específico), ácidos grasos, esteroles, que contienen un grupo ácido carboxílico por ejemplo, colesterol, 1,2-diacil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, incluyendo, pero sin limitación a, DOPE, 1,2-diacil-glicero-3-fosfocolinas y esfingomielina. Los ácidos grasos unidos al esqueleto de glicerol no se limitan a una longitud o número de dobles enlaces específicos. Los fosfolípidos también pueden tener dos ácidos grasos diferentes. Preferentemente los lípidos adicionales están en el estado de líquido cristalino a temperatura ambiente y son miscibles (es decir puede formarse una fase uniforme y no se produce la separación de fases o la formación de dominios) con el lípido catiónico usado, en la proporción en la que se aplican. En una realización preferida el lípido neutro es DOPC.

En una realización adicional preferida, la preparación liposomal comprende opcionalmente lípidos neutros y/o aniónicos, preferentemente DOPC en una cantidad de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 70 % en moles, preferentemente de aproximadamente 40 % en moles a aproximadamente 60 % en moles y más preferentemente de aproximadamente 45 % en moles a aproximadamente 55 % en moles.

La preparación de liposomas catiónicos que se usa en el presente documento puede estar deshidratada, almacenada durante periodos de tiempo prolongados mientras está deshidratada, y después rehidratarse cuando y

donde se vaya a usar, sin perder una parte importante de su contenido durante los proceso de deshidratación, almacenamiento y rehidratación. Para lograr esto último, pueden estar presentes uno o más agentes protectores, tales como crioprotectores. Por lo tanto, la invención de la preparación de liposomas catiónicos preferentemente comprende un crioprotector, donde el crioprotector se selecciona de un azúcar o un alcohol o una combinación de los mismos. Preferentemente, el crioprotector se selecciona de trehalosa, maltosa, sacarosa, glucosa, lactosa, dextrano, manitol o sorbitol.

En una realización adicional preferida, la preparación liposomal comprende trehalosa en el intervalo de aproximadamente 5 % (m/v) a aproximadamente 15 % (m/v) con respecto al volumen total de la preparación.

La formulación de los liposomas catiónicos de la presente invención puede variar. En una realización preferida la relación molar es 50:47:3 % en moles de DOTAP, DOPC y paclitaxel. Esta formulación también se designa como MBT-0206 o EndoTAG-1.

Los liposomas de diversos tamaños son útiles en la presente invención. En una realización preferida de la presente invención los liposomas catiónicos tienen un diámetro medio de partícula de aproximadamente 25 nm a aproximadamente 500 nm, preferentemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 500 nm, más preferentemente de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 300 nm.

Las presentes composiciones de liposomas pueden administrarse sistemáticamente, preferentemente vía intravenosa.

Los liposomas catiónicos de la presente invención pueden usarse para tratar cualquier forma de afección asociada con angiogénesis aumentada, tal como cáncer. La composición farmacéutica de la presente invención es particularmente ventajosa en el tratamiento de tumores en pacientes humanos tales como cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, leucemia, cáncer de pulmón, linfoma, melanoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de ovario, cáncer de próstata y para cánceres infantiles tales como glioma del tronco encefálico, astrocitoma cerebeloso, astrocitoma cerebral, ependimoma, tumores de la familia/sarcoma de Ewing, tumor de células germinales, extracraneal, enfermedad de Hodgkin, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, cáncer de hígado, meduloblastoma, neuroblastoma, linfoma no Hodgkin, osteosarcoma / histiocitoma fibroso maligno óseo, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, sarcoma de tejidos blandos, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales y pineales, cánceres infantiles inusuales, glioma de las vías ópticas e hipotalámico, tumor de Willms y otros tumores renales infantiles y para cánceres menos comunes, incluyendo leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda del adulto, linfoma no Hodgkin del adulto, tumor cerebral, cáncer cervical, cánceres infantiles, sarcoma infantil, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, cáncer de esófago, leucemia de células peludas, cáncer de riñón, cáncer de hígado, mieloma múltiple, neuroblastoma, cáncer oral, cáncer pancreático, linfoma primario del sistema nervioso central, cáncer de piel, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de la vesícula biliar y del conducto biliar, cáncer de estómago, cáncer gastrointestinal, sarcoma de Kaposi, carcinoma de células uroteliales, carcinoma de la glándula tiroides, carcinoma testicular, cáncer vaginal, angiosarcoma, sarcoma del tejido blando y mesotelioma. Particularmente, el cáncer puede ser un cáncer mestastásico y/o un cáncer resistente a la (quimio)terapia convencional. La administración de la composición de la invención puede enlentecer o detener la progresión de la enfermedad, o puede conducir a una remisión parcial o completa. Las condiciones adicionales pueden ser una enfermedad de cicatrización de heridas o inflamatoria o una enfermedad inflamatoria crónica tal como artritis reumatoide, dermatitis, endometrosis o psoriasis.

Las preparaciones liposomales catiónicas de la invención son particularmente adecuadas para el tratamiento de cáncer como se ha indicado anteriormente, especialmente cáncer pancreático, cáncer pancreático inoperable, cáncer gastrointestinal, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal o gástrico, cáncer de mama, cáncer de próstata y melanoma, o bien como una monoterapia o una terapia de combinación con terapias de tratamiento adicionales, por ejemplo agentes activos adicionales como se ha indicado en detalle anteriormente, especialmente con agentes quimioterapéuticos, por ejemplo antimetabolitos de ADN/ARN tales como gemcitabina.

Asombrosamente, se ha encontrado que los agentes activos cargados en los liposomas catiónicos actúan directamente contra las células endoteliales o no endoteliales resistentes a los fármacos, particularmente células tumorales endoteliales o no endoteliales resistentes a los fármacos. Por lo tanto, los hallazgos recientes definen las células no endoteliales resistentes a los fármacos como una diana adicional y por lo tanto mejoran las aplicaciones antitumorales de los liposomas catiónicos. Este es un aspecto adicional de la presente invención.

Por lo tanto es un aspecto adicional de la presente invención usar una preparación liposomal catiónica que comprende un agente activo para la fabricación de un medicamento contra las células endoteliales o no endoteliales resistentes a los fármacos. La presente invención también proporciona un método de administración de una preparación liposomal catiónica que comprende un agente activo para las células resistentes a los fármacos de un sujeto que lo necesita en una cantidad terapéuticamente efectiva para afectar a una enfermedad tal como cáncer.

Una realización adicional de este aspecto se refiere al uso de una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, un agente activo en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para la fabricación de una composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento de trastornos asociados con y/o acompañados de la aparición de células resistentes a los fármacos, por ejemplo para la prevención o tratamiento de tumores resistentes a los fármacos lo que significa especialmente el uso como un tratamiento de segunda o tercera línea para el cáncer, especialmente el cáncer pancreático, cáncer pancreático inoperable, cáncer gastrointestinal, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal o gástrico, cáncer de mama, cáncer de próstata y melanoma.

Una causa importante del fracaso del tratamiento primario es la aparición de clones de células resistentes a los fármacos. Se administra un tratamiento de segunda línea después de que la administración inicial ha fallado. Una quimioterapia de segunda línea puede ser una monoterapia usando un quimioterapéutico diferente con un modo de acción diferente o una combinación de diversos fármacos o tratamientos adicionales. Sin embargo, el tratamiento de segunda línea puede fallar también debido al desarrollo de clones de células resistentes a múltiples fármacos. Por lo tanto, podría haber un tratamiento de tercera línea para dicha recurrencia tumoral. Las preparaciones liposomales catiónicas son particularmente adecuadas como tratamiento de segunda o tercera línea como se ha indicado anteriormente.

La preparación liposomal catiónica de este aspecto de la presente invención comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, particularmente a aproximadamente 98 % en moles, un agente activo en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles, particularmente de al menos aproximadamente 2 % en moles, y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para la fabricación de una composición farmacéutica para afectar las células resistentes a los fármacos de manera que una enfermedad asociada con, o acompañada de, la aparición de células resistentes a fármacos, se mitigue (provocando regresión) o finalmente se cure.

Es un sorprendente hallazgo adicional en la presente invención que los liposomas catiónicos que comprenden un agente activo actúen solos o en combinación con al menos otra terapia de tratamiento frente a la formación de metástasis.

Por lo tanto, es un objeto adicional de la presente invención usar una preparación liposomal catiónica que comprende un agente activo para la preparación de un medicamento frente a la metástasis. La presente invención también proporciona un método de administración de una preparación liposomal catiónica que comprende un agente activo a un sujeto que lo necesita en una cantidad terapéuticamente efectiva para afectar el comienzo y/o progresión de la formación de metástasis tal como retrasando y/o evitando una enfermedad metastásica. El término “afectar” como se usa en el presente documento generalmente significa que se obtiene un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado, tal como retrasar y/o evitar el comienzo y/o progresión de una enfermedad. En una realización preferida, la presente invención se usa para retrasar y/o evitar la formación de metástasis hepática.

La preparación liposomal catiónica de la presente invención comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, particularmente a aproximadamente 98 % en moles, un primer agente activo, por ejemplo paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles, particularmente de al menos aproximadamente 2 % en moles, y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles y es útil para la fabricación de una composición farmacéutica para una terapia de combinación simultánea, separada, o secuencial con una dosis eficaz en conjunto de al menos un agente activo adicional, por ejemplo un segundo agente activo no liposomal y/o calor y/o radiación y/o crioterapia para retrasar y/o evitar la formación de metástasis.

El agente activo cargado en la preparación liposomal catiónica, por ejemplo un agente activo para una monoterapia o un primer agente activo para una terapia de combinación, puede seleccionarse de una sustancia citotóxica o citoestática tal como una sustancia activa antitumoral o anti-células endoteliales, un agente quimioterapéutico o una sustancia activa inmunológica. El agente activo también puede seleccionarse de un taxano, una camptotecina, una estatina, un depsipéptido, talidomida, otros agentes que interaccionan con microtúbulos tales como discodermolida, laulimalida, isolaulimalida, eleuterobina, Sarcodictina A y B y en una realización más preferida, se selecciona de paclitaxel, docetaxel, captotecina o cualquier derivado de los mismos.

Por lo tanto, en una realización preferida de la presente invención dicha preparación liposomal comprende un taxano, preferentemente paclitaxel o docetaxel o un derivado de los mismos en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 % en moles, preferentemente en una cantidad de aproximadamente 0,5 % en moles a aproximadamente 10 % en moles, más preferentemente en una cantidad de aproximadamente 1 % en moles a aproximadamente 5 % en moles y más preferentemente en una cantidad de aproximadamente 2 % en moles a aproximadamente 4 % en moles.

El al menos un agente activo adicional puede ser una sustancia citotóxica o citoestática como se ha descrito anteriormente, tal como una sustancia activa antitumoral o anti-células endoteliales, un agente quimioterapéutico,

una sustancia activa inmunológica, un compuesto que reduce o elimina las reacciones de hipersensibilidad o un quimiosensibilizador. Preferentemente, el al menos un agente activo adicional está presente en una formulación no liposomal. Adicionalmente, se prefiere que el agente activo y los agentes activos adicionales sean diferentes.

Los agentes activos adicionales se seleccionan de agentes antineoplásicos, especialmente agentes antimitóticos como paclitaxel, agentes alquilantes, especialmente platino que contiene compuestos como cisplatino, carboplatino, agentes inhibidores de las topoisomerasas de ADN como camptotecina o doxorubicina, antimetabolitos de ARN/ADN, especialmente 5-fluorouracilo o gemcitabina y/u otros compuestos que tienen actividad antitumoral. Especialmente se prefieren las terapias de combinación con cisplatino o carboplatino o con 5-fluorouracilo o con gemcitabina.

El compuesto que reduce o elimina las reacciones de hipersensibilidad se selecciona del grupo que comprende (pero sin limitación) esteroides, antihistamínicos, antagonistas de los receptores H2 y las combinaciones de los mismos en una cantidad suficiente para prevenir las reacciones anafilácticas letales. El compuesto se selecciona del grupo que comprende ranitidina, dexametasona, difenhidramina, famotidina, hidrocortisona, clemastina, cimetidina, prednisolona, prednisona, clorfeniramina, clorfenamina, maleato de dimetindeno, indometacina y prometazina o cualquier derivado de los mismos.

El quimiosensibilizador se selecciona del grupo que comprende (pero sin limitación) moduladores del ciclo celular, sustancias que revierten una resistencia a los fármacos como verapamilo, sustancias vasoactivas como fármacos antihipertensivos, sustancias que modifican la interacción relacionada con la carga de liposomas catiónicos con componentes de la sangre como protamina.

Debe considerarse que la presente divulgación de la invención también se relaciona con todos los otros aspectos. Esto se refiere particularmente a la cantidad y tipo de lípido catiónico, la cantidad y tipo de lípido neutro y/o aniónico, la cantidad y tipo de agente activo, la cantidad y tipo de agente activo adicional para una terapia de combinación, y el tipo de trastorno a tratarse.

Leyenda de las figuras

Figura 1: Volumen tumoral tras el final del tratamiento
Tamaño tumoral de los tumores pancreáticos de L3.6pl 19 días después del inicio del tratamiento. El tratamiento con trehalosa al 10 %, paclitaxel, MBT-0206, Gemzar (gemcitabina) y la combinación de tanto MBT-0206 como Gemzar comenzó 8 días después de la inoculación de las células tumorales. Se aplicó Gemzar i.p. a una dosis de 100 mg/kg de pc dos veces a la semana (lunes, jueves). Se aplicaron paclitaxel y MBT-0206 i.v. en una pauta de lunes, miércoles, viernes a una dosis de paclitaxel de 5 mg/kg de pc. El grupo de combinación recibió tanto MBT-0206 como Gemzar con la pauta respectiva.
Los tumores se midieron mediante palpación con un calibrador en el día 23 y 27. Media ± EEM; n = 9 por grupo.

Figura 2: Metástasis tras la terapia.
Metástasis en el día 19 tras el inicio del tratamiento. El tratamiento con trehalosa al 10 %, paclitaxel, MBT-0206, Gemzar (gemcitabina) y la combinación de tanto MBT-0206 como Gemzar comenzó el día 8 tras la inoculación de las células tumorales. Se aplicó Gemzar i.p. a una dosis de 100 mg/kg de pc dos veces a la semana (lunes, jueves). Se aplicaron paclitaxel y MBT-0206 i.v. en una pauta de lunes, miércoles, viernes a una dosis de paclitaxel de 5 mg/kg de pc. El grupo de combinación recibió tanto MBT-0206 como Gemzar con la pauta respectiva, n = 9 por grupo.

Figura 3 – 5: El ensayo inhibitorio del crecimiento se llevó a cabo en placas de 24 pocillos con cada concentración de fármaco ensayada por duplicado (n = 2 pocillos). Se sembraron 4 x 10^4 células por pocillo en una placa de 24 pocillos y se incubaron durante la noche. Al día siguiente, se añadieron 10-11 concentraciones de la respectiva formulación del fármaco durante 72 h para cubrir el intervalo representado en los respectivos gráficos. Por último, se determinó la viabilidad celular mediante un ensayo de MTT convencional midiendo la actividad de las deshidrogenasas mitocondriales.
Figura 3: Potencial inhibitorio del MBT-0206 y paclitaxel frente a la línea Mes-SA/Dx-5_{MBT} de sarcoma de útero altamente resistente a los fármacos.
Figura 4: Potencial inhibitorio del MBT-0206 y paclitaxel frente a la línea Mes-SA/Dx-5 de sarcoma de útero moderadamente resistente a los fármacos.
Figura 5: Potencial inhibitorio del MBT-0206 y paclitaxel frente a la línea Mes-SA de sarcoma de útero humano sensible a los fármacos.

Figura 6 – 7: El ensayo inhibitorio del crecimiento se llevó a cabo en placas de 24 pocillos con cada concentración del fármaco ensayada por duplicado (n = 2 pocillos). Se sembraron 4 x 10^4 células por pocillo en una placa de 24 pocillos y se incubaron durante la noche. Al día siguiente, se añadieron 10-11 concentraciones de la respectiva formulación del fármaco durante 72 h para cubrir el intervalo representado en los respectivos gráficos. Por último, se determinó la viabilidad celular mediante un ensayo de MTT convencional midiendo la actividad de las deshidrogenasas mitocondriales.

Figura 6: Potencial inhibitorio del MBT-0206 y paclitaxel frente a la línea Colon-26_{MBT} de carcinoma de colón murino altamente resistente a los fármacos.
Figura 7: Potencial inhibitorio del MBT-0206 y paclitaxel frente a la línea Colon-26 de carcinoma de colón murino sensible a los fármacos.

Figura 8: Potencial inhibitorio del MBT-0206 y paclitaxel frente a la línea EA.hy926 de endotelio humano sensible a los fármacos. El ensayo inhibitorio del crecimiento se llevó a cabo en placas de 24 pocillos con cada concentración del fármaco ensayada por duplicado (n = 2 pocillos). Se sembraron 4 x 10^4 células por pocillo en una placa de 24 pocillos y se incubaron durante la noche. Al día siguiente, se añadieron 11 concentraciones de la respectiva formulación del fármaco durante 72 h para cubrir el intervalo representado en el respectivo gráfico. Por último, se determinó la viabilidad celular mediante un ensayo de MTT convencional midiendo la actividad de las deshidrogenasas mitocondriales.

Figura 9: Potencial inhibitorio in vitro del paclitaxel frente a la línea parental sensible Mes-SA y la derivada resistente Ms-SA/Dx-5_{MBT}. El ensayo inhibitorio del crecimiento se llevó a cabo en placas de 24 pocillos con cada concentración del fármaco ensayada por duplicado (n = 2 pocillos). Se sembraron 4 x 10^4 células por pocillo en una placa de 24 pocillos y se incubaron durante la noche. Al día siguiente, se añadieron 10-11 concentraciones de la respectiva formulación del fármaco durante 72 h para cubrir el intervalo representado en el respectivo gráfico. Por último, se determinó la viabilidad celular mediante un ensayo de MTT convencional midiendo la actividad de las deshidrogenasas mitocondriales.

Figura 10: Potencial inhibitorio del paclitaxel frente a la línea Sk-Mel28 de melanoma dérmico humano resistente a los fármacos. El ensayo inhibitorio del crecimiento se llevó a cabo en placas de 24 pocillos con cada concentración del fármaco ensayada por duplicado (n = 2 pocillos). Se sembraron 4 x 10^4 células por pocillo en una placa de 24 pocillos y se incubaron durante la noche. Al día siguiente, se añadieron 11 concentraciones de la respectiva formulación del fármaco durante 72 h para cubrir el intervalo representado en el respectivo gráfico. Por último, se determinó la viabilidad celular mediante un ensayo de MTT convencional midiendo la actividad de las deshidrogenasas mitocondriales.

El objeto de la invención se define en las reivindicaciones.

Ejemplos

1. Protocolo de tratamiento de la terapia en seres humanos

Este ejemplo se refiere a los protocolos de tratamiento en seres humanos usando las formulaciones divulgadas. El tratamiento será útil para la prevención y/o tratamiento de diversas enfermedades y trastornos en seres humanos asociados con una actividad angiogénica aumentada. Se considera que es particularmente útil en terapia antitumoral, por ejemplo, en el tratamiento de pacientes con tumores sólidos y enfermedades hematológicas malignas o en la terapia frente a una variedad de enfermedades inflamatorias crónicas tales como artritis reumatoide o psoriasis.

Una característica de la invención es que pueden tratarse varias clases de enfermedades y/o anomalías dirigiéndose directamente a las células epiteliales angiogénicas sin dirigirse directamente a el tejido o las células involucradas en la anomalía por ejemplo, inhibiendo la angiogénesis se interrumpe el suministro de sangre al tumor y se mata al tumor sin dirigirse directamente a las células tumorales de ningún modo. Otras clases de enfermedades y/o anomalías pueden tratarse dirigiéndose directamente a las células endoteliales angiogénicas y dirigiéndose directamente al tejido o células involucradas en la anomalía.

En otra solicitud, pueden afectarse directamente las células resistentes a los fármacos tales como células cancerígenas o sinoviocitos altamente proliferativos resistentes a los fármacos en la artritis reumatoide.

Los diversos elementos para llevar a cabo un ensayo clínico, incluyendo el tratamiento y la monitorización del paciente, se conocerán por los expertos en la materia a la luz de la presente divulgación.

Para fines de aprobación de la normativa, se contempla que los pacientes elegidos para un estudio habrían fallado en la respuesta a al menos un curso de la terapia convencional y tendrían una enfermedad objetivamente medible como se determina mediante un reconocimiento físico, técnicas de laboratorio, o procedimientos radiográficos. Dichos pacientes además no tendrían historia de enfermedad cardíaca o renal y cualquier quimioterapia debería detenerse al menos 2 semanas antes de entrar en el estudio.

Antes de la aplicación, la formulación puede reconstituirse en una solución acuosa en el caso de que la formulación estuviese liofilizada. Como se ha descrito anteriormente, el volumen de aplicación requerido se calcula a partir del peso corporal del paciente y de la pauta de dosis.

Las formulaciones divulgadas pueden administrarse durante un corto tiempo de infusión. La infusión dada a cualquier nivel de dosis debe ser dependiente de la toxicidad alcanzada después de cada una. Por consiguiente, si la toxicidad de grado II se alcanzó tras una única infusión, o en un periodo de tiempo particular para una velocidad constante de infusión, las dosis adicionales deben retirarse o detenerse la velocidad de infusión constante a menos que se mejore la toxicidad. Deben administrarse dosis crecientes a los grupos de pacientes hasta que aproximadamente el 60 % de los pacientes muestren una toxicidad de grado III o IV inaceptable en cualquier categoría. Las dosis que son 2/3 de este valor se definirían como la dosis segura.

El examen físico, las mediciones tumorales y los ensayos de laboratorio deben, por supuesto, llevarse a cabo antes del tratamiento y a intervalos de aproximadamente 3-4 semanas después. Los ensayos de laboratorio deben incluir el recuento completo de células sanguíneas, creatinina sérica, creatinquinasa, electrolitos, urea, nitrógeno, SGOT, bilirrubina, albúmina y proteínas totales séricas.

Las respuestas clínicas pueden definirse mediante valores de medición aceptables o cambios en los valores de laboratorio por ejemplo marcadores tumorales. Por ejemplo, una respuesta completa puede definirse por la desaparición de toda enfermedad medible durante al menos un mes, mientras que una respuesta parcial puede definirse mediante una reducción del 50 % o mayor.

Todas las composiciones y métodos divulgados y reivindicados en el presente documento pueden fabricarse y realizarse sin una excesiva experimentación a la luz de la presente divulgación. Aunque las composiciones y métodos de esta invención se han descrito en términos de realizaciones preferidas, será aparente para los expertos en la materia que pueden aplicarse variaciones a la composición, métodos y en las etapas o en la secuencia de etapas del método descrito en el presente documento sin desviarse del concepto, espíritu y alcance de la invención. Más específicamente, será aparente que algunos agentes que están relacionados tanto química como fisiológicamente pueden sustituirse por los agentes descritos en el presente documento mientras que se conseguirían los mismos o similares resultados. Todos estos sustitutos y modificaciones similares aparentes para los expertos en la materia se consideran que están dentro del espíritu, alcance y concepto de la invención tal y como se define mediante las reivindicaciones adjuntadas.

Se presentarán necesariamente algunas variaciones en la administración del fármaco dependiendo de la afección del sujeto que vaya a tratarse. La persona responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la dosis apropiada para el sujeto individual. Además, para la administración en seres humanos, las preparaciones deben cumplir la esterilidad, pirogenicidad, seguridad y pureza general convencionales tal y como se requiere en la Office of Biologics standards de la FDA.

La presente invención incluye un método de liberación de una cantidad farmacéuticamente efectiva de la formulación de la invención de un agente activo a un sitio diana tal como un sitio diana vascular angiogénico de un sujeto que lo necesita. Un “sujeto que lo necesita” se refiere a un mamífero, por ejemplo un ser humano.

La vía de administración preferentemente comprende la administración peritoneal o parenteral.

Para su uso con la presente invención la “cantidad farmacológicamente efectiva” de un compuesto administrado a un sujeto que lo necesita variará dependiendo de un amplio intervalo de factores. La cantidad del compuesto dependerá de la talla, edad, sexo, peso y afección del paciente, así como de la fuerza de la sustancia que se administra. Habiéndose indicado que hay una considerable variabilidad en términos de dosificación, se cree que los expertos en la materia pueden, usando la presente divulgación, determinar fácilmente la dosificación apropiada primero administrando cantidades extremadamente pequeñas e incrementando progresivamente la dosis hasta que se obtengan los resultados deseados. Aunque la cantidad de la dosis variará enormemente en base a factores como los que se han descrito anteriormente, en general, la presente invención hace posible administrar cantidades considerablemente menores de cualquier sustancia comparado con los sistemas de liberación que solo se dirigen al tejido patológico por ejemplo, se dirigen a las propias células tumorales.

2. Protocolos de monoterapia

Nº de estudio	**Indicación**
CTLP01	Cáncer de próstata
CTLP05	Cáncer gastrointestinal
CTLP07	Melanoma
CTLP09	Cáncer de mama
CTLP10	Cáncer colorrectal
CTLP15	Cáncer de mama
CTLP16	Cáncer pancreático

Dosificación

Nº de estudio	Administraciones del fármaco
CTLP01	0,0688 mg/kg, 0,275 mg/kg, 1,10 mg/kg, 1,65 mg/kg (mg de paclitaxel liposomal / kg)
CTLP05	0,275 mg/kg, 0,55 mg/kg, 1,10 mg/kg, 1,65 mg/kg (mg de paclitaxel liposomal / kg)
CTLP07	0,275 mg/kg, 0,55 mg/kg, 1,10 mg/kg (mg de paclitaxel liposomal / kg)
CTLP09	0,55 mg/kg, 1,10 mg/kg (mg de paclitaxel liposomal / kg)
CTLP10	0,55 mg/kg (mg de paclitaxel liposomal / kg)
CTLP15	25 mg/kg (mg de paclitaxel liposomal / kg)
CTLP16	0,55 – 1,1 mg/kg (mg de paclitaxel liposomal / kg)

Formulación convencional de paclitaxel liposomal

50 % en moles de DOTAP: 47% en moles de DOPC: 3 % en moles de paclitaxel (MBT-0206 = EndoTag 1)

Pauta de tratamiento en estudios en desarrollo completados

Nº de estudio	Pauta	Nº de aplicaciones
CTLP01	3 veces a la semana	N=3
CTLP05	3 veces a la semana con un intervalo de 3 semanas cada una	N=6
CTLP09	3 veces a la semana con un intervalo de 2 semanas cada una	N=9
CTLP10	3 veces a la semana con un intervalo de 2 semanas cada una	N=9

Pauta de tratamiento en estudios en desarrollo

Nº de estudio	Pauta	Nº de aplicaciones
CTLP03	3 veces a la semana	N=3
CTLP04	semanalmente	N=14
CTLP06	4-5 veces a la semana con un intervalo de 1 semana cada una	N=14
CTLP07	3 veces a la semana con un intervalo de 2-3 semanas cada una	N=6-9
CTLP15	3 veces a la semana con un intervalo de 2 semanas cada una	N=24
CTLP16	3 veces a la semana con un intervalo de 3 semanas cada una	N=9

Eficacia

La respuesta se evaluará de acuerdo con los criterios de la OMS o RECIST.

3. Protocolos de terapia de combinación

Nº de estudio	Indicación
CTLP04	Cáncer de pulmón
CTLP06	Cáncer colorrectal o gástrico

Dosificación

Nº de estudio	Administraciones del fármaco
CTLP04	paclitaxel liposomal, 1,5 mg/kg y carboplatino (2 mg/ml/min i.v. durante 15 min una vez a la semana)
CTLP06	paclitaxel liposomal, 0,5 o 1,0 mg/kg solo, 0,5 o 1,0 mg/kg de paclitaxel liposomal y 5-fluorouracilo (2000 mg/m^2)

Formulación convencional de paclitaxel liposomal

50 % en moles de DOTAP: 47 % en moles de DOPC: 3 % en moles de paclitaxel

Pauta de tratamiento para paclitaxel liposomal en estudios en desarrollo

Nº de estudio	Pauta	Nº de aplicaciones
CTLP04	una vez semanalmente	N=14
CTLP06	diariamente con un intervalo de una semana cada una	N=14

Un estudio planificado adicional comprende la administración de paclitaxel liposomal, por ejemplo 0,5 o 1,0 o 1,5 mg/kg y gemcitabina, por ejemplo 1000 mg/m^2 una vez semanalmente durante tres semanas seguido de una semana sin tratamiento, preferentemente durante un intervalo de al menos un año.

La pauta de tratamiento para el paclitaxel liposomal será como se ha descrito anteriormente en los estudios en desarrollo.

Eficacia

La respuesta se evaluará de acuerdo con los criterios de la OMS o RECIST.

4. Informe del caso nº 1

Paciente:

- Paciente de 49 años de edad con alta recidiva de resistencia a la terapia de un carcinoma mucoepidermoide de la laringe
- metástasis cervical, supraclavicular, axilar, mediastinal y pulmonar
- 5 años después de la primera resección del tumor, disección del tumor del cuello y radioterapia adyuvante
- después de la terapia repetida de recidiva con múltiples resecciones, cirugía plástica, radio y quimioterapia.

Pauta de dosificación:

- MBT-0206: 50/47/3 (DOTAP/DOPC/paclitaxel)
- Aplicación de 0,06, 0,25, 0,5 y 1,0 mg de paclitaxel liposomal/kg de pc, i.v.
- Un ciclo de 3 veces a la semana (en día 1, 3 y 5)

Resultados:

- Buena tolerancia durante la monitorización del parámetro cardiovascular, pulmonar y serológico durante y tras la infusión
- Sin signos de toxicidad aguda o crónica
- Reducción de la circulación sanguínea del tumor
- Progresión considerablemente reducida del crecimiento del tumor durante 3 meses

5. Informe del caso nº 2

Un paciente con carcinoma hepatocelular, que tenía una progresión de la enfermedad tras múltiples quimioterapias, se había tratado con MBT-0206.

El MBT-0206 liofilizado se había reconstituido con agua para la inyección y se había administrado un volumen de infusión total de 300-400 ml de MBT-0206 (equivalente a una dosis de 1,0 mg de paclitaxel liposomal/kg de peso corporal) por infusión intravenosa central o periférica durante un periodo de 2-4 h. La velocidad de infusión se había aumentado lentamente hasta una velocidad máxima de 2,5 ml/min. La premedicación dependiente del sexo, de la edad y de la afección del paciente. En el caso específico del paciente anteriormente mencionado se ha dado dexametasona y un antihistamínico.

El MBT-0206 se ha administrado una vez semanalmente con una pauta de incremento de la dosis, comenzando con 0,25 mg de paclitaxel liposomal/kg de pc 2 veces, 0,5 mg de paclitaxel liposomal/kg de pc 1 vez y después una dosis de consolidación de 1,0 mg de paclitaxel liposomal/kg de pc 19 veces. Este tratamiento tras 22 administraciones semanales está aún en desarrollo y hasta ahora no se ha informado de ninguna reacción adversa del fármaco. Además el perfil de seguridad favorable de la última evaluación del tamaño tumoral, que se ha llevado a cabo mediante un escáner de TC del hígado, ha mostrado una enfermedad estable.

6. Informe del caso nº 3

En otro caso un paciente con cáncer de próstata que se hizo refractario a la terapia hormonal, se ha tratado con 1,0 mg de paclitaxel liposomal/kg de pc, 3 veces semanalmente cada tercer día en las mismas condiciones de preparación y administración que se han descrito anteriormente. La premedicación contenía dexametasona y antihistamínicos. La dosis acumulada de paclitaxel liposomal para este paciente en 7 días era de 3,0 mg de paclitaxel liposomal/kg de pc.

7. Pauta de dosificación baja con paclitaxel liposomal

Las células endoteliales inmortalizadas (EA.hy926) se sembraron en placas de 24 pocillos (4×10^4 células por pocillo) y se hicieron crecer durante la noche. Al día siguiente, 9 pocillos se trataron durante 1 h con la dosis baja de 51,2 ng/ml de paclitaxel liposomal (60 nM) formulada como MBT-0206. Además, 3 pocillos por formulación se trataron con la dosis alta de 153,7 ng/ml (180 nM) de paclitaxel liposomal formulado como MBT-0206 durante 1h y los 3 pocillos restantes permanecieron sin tratarse. Aproximadamente 24 h después, 6 de los 9 pocillos tratados con la dosis baja se trataron de nuevo con las mismas dosis bajas de MBT-0206 durante 1 h (es decir 2 x grupos de

tratamiento). De nuevo 24 h después, 3 de estos 6 pocillos tratados dos veces se trataron durante la tercera vez con 51,2 ng/ml de paclitaxel formulado como MBT-0206 durante 1 h (3 x grupos de tratamiento). Aproximadamente 96 h después de este tercer tratamiento, se cuantificó la viabilidad celular de todos los pocillos. Para este fin, se aplicó un ensayo que mide la actividad de las deshidrogenasas mitocondriales usando la sal tetrazólica bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT) de acuerdo con los protocolos convencionales (por ejemplo {Lindl, 1994 n º 28} con ligeras modificaciones).

Los resultados demostraron que la viabilidad de las células tratadas durante 3 veces con una dosis baja de MBT-0206 es al menos tan considerablemente reducida como la viabilidad de las células tratadas solo una vez con una dosis alta. Las células tratadas una vez o dos veces con la dosis baja de MBT-0206 exhiben una viabilidad aumentada en cierto modo que, sin embargo, se reduce en comparación con las células sin tratar.

Conclusión

Los tratamientos con dosis altas de MBT-0206 pueden reemplazarse usando dosis bajas a una mayor frecuencia. Existe una correlación entre la densidad del tratamiento (nº de tratamientos por semana) y la eficacia del tratamiento. Tres tratamientos semanales con dosis bajas eran superiores a 1 o 2 tratamientos semanales. Este régimen de dosificación optimizada reduce potencialmente los efectos secundarios tóxicos causados por los tratamientos con una dosis alta.

8. Eficacia antitumoral del MBT-0206 en combinación con gemcitabina (50 mg/kg) en tumores pancreáticos de L3.6pl

Modelo animal

Especies: ratones Balb/c nu/nu machos
Modelo tumoral: tumor pancreático de L3.6pl ortotópico sólido (altamente metastásico; Bruns CJ, Harbison MT, Kuniyasu H, Euel, Fidler IJ. In vivo selection and characterization of metastatic variants from human pancreatic adenocarcinoma by using orthotopic implantation in nude mice. Neoplasia 1999; (1):50-62).
Suministrador: Charles River France

Tratamiento

Comienzo del tratamiento: día 7 tras la inoculación del tumor

Último tratamiento: día 26 tras la inoculación del tumor

Dosis: MBT-0206 con 5 mg de paclitaxel/kg de pc por aplicación, paclitaxel a 5 mg de paclitaxel/kg de pc por aplicación, gemcitabina (Gemzar) a 50 mg/kg por aplicación

Pauta:

MBT-0206, paclitaxel, trehalosa: d 7, 10, 12, 14, 17, 19, 21, 24, 26
Gemcitabina: d 7, 11, 14, 18, 21, 25
Combinación: monotratamientos combinados

Ruta de aplicación:

MBT-0206, paclitaxel, trehalosa: i.v. en bolo en la vena de la cola
Gemcitabina: i.p. en bolo

Grupos (n = 9; n = 2-5 en día 26, 28)	**Tratamiento**
Trehalosa, paclitaxel, MBT-0206	d 7, 10, 12, 14, 17, 19, 21, 24, 26
Gemcitabina [50 mg/kg]	d 7, 11, 14, 18, 21, 25
MBT-0206 [5 mg/kg de pc] + Gemcitabina [50 mg/kg]	d 7, 10, 12, 14, 17, 19, 21, 24, 26 d 7, 11, 14, 18, 21, 25

La mortalidad era baja antes del día 21: solo murieron 1 animal control y 1 MBT-0206. En el día 24 la mortalidad aumentó por razones desconocidas: 3 animales MBT-0206, 1 Gemzar y 4 controles se murieron en el día 24.

El peso corporal no se afectó por ambos tratamientos, solo el peso de los tumores de los controles disminuyó un 18 % durante la última semana.

Parámetros monitorizados

- Volumen tumoral palpado en el día 10, 12, 14, 17, 19, 21, 24 tras la inoculación y en el día 26, 28 tras la extracción.
- Necropsia tras la extracción en el día 26 y 28

Resultados

No pudieron observarse efectos de ningún tratamiento mediante palpación tres días después del comienzo del tratamiento. Se observó un fuerte efecto antitumoral tras una semana y en el día 24 mediante palpación, con la siguiente clasificación en eficacia: Gemzar-50 ≈ paclitaxel < MBT-0206 < MBT-0206 + Gemzar. Sin embargo, tras la extracción en el día 26, los volúmenes tumorales medidos de todos los grupos eran claramente menores comparados con el día 24. Esta diferencia en tamaño es más probable debido a la palpación imprecisa antes de la extracción. En el día 24 el tamaño tumoral se reduce al ~ 30 % por los monotratamientos comparado con el grupo control (n=2). La combinación de MBT-0206 + Gemzar dio como resultado la reducción más fuerte del tamaño tumoral al 13 %, que era significativamente ($p < 0,05$) más eficaz comparado con paclitaxel, Gemzar y MBT-0206 solos. En el día 28 el grupo control (n=2) no se muestra debido a que uno de los dos tumores era extremadamente pequeño comparado con todos los demás tumores (día 24, 26, 28) y por consiguiente se consideró como no representativo. Los tumores tras los monotratamientos mostraron un débil incremento en el tamaño tumoral comparado con el día 26 (paclitaxel: 536 mm^3; MBT-0206: 392 mm^3; Gemzar: 398 mm^3), mientras que la terapia de combinación condujo a una regresión ligera del tumor entre el día 26 y 28 a 88 mm^3.

Estos datos muestran una fuerte eficacia antitumoral del paclitaxel, Gemzar y MBT-0206 en este modelo. La acción antitumoral del MBT-0206 es ligeramente más fuerte que la del paclitaxel pero similar a la del Gemzar. La combinación de MBT-0206 y Gemzar muestra una sorprendente eficacia antitumoral.

9. Eficacia antitumoral del MBT-0206 en combinación con gemcitabina (100 mg/kg) en tumores pancreáticos de L3.6pl

Modelo animal

Especie: ratones Balb/c nu/nu machos
Modelo tumoral: tumor pancreático de L3.6pl ortotópico sólido (altamente metastásico). Suministrador: Charles River France

Tratamiento

Comienzo del tratamiento: día 8 tras la inoculación del tumor (01.05.03)
Último tratamiento: día 26 tras la inoculación del tumor (19.05.03)
Pauta:

MBT-0206, paclitaxel, trehalosa: d 9, 12, 14, 16, 19, 21, 23, 26
Gemcitabina: d 8, 12, 15, 19, 22, 26
Combinación: monotratamientos combinados

Grupos (n = 9)	Tratamiento
Trehalosa, paclitaxel, MBT-0206	d 9, 12, 14, 16, 19, 21, 23, 26
Gemcitabina [100 mg/kg]	d 8, 12, 15, 19, 22, 26
MBT-0206 [5 mg/kg de pc] + Gemcitabina [100 mg/kg]	d 9, 12, 14, 16, 19, 21, 23, 26 d 8, 12, 15, 19, 22, 26

Parámetros monitorizados

- Volumen tumoral palpado en el día 23, 26 tras la inoculación y tras la extracción
- Peso corporal del día 1, 7, 12, 16, 19, 21, 23, 27
- Necropsia tras la extracción en el día 27

Resultados (véanse figuras 1 y 2)

Se observó un claro efecto antitumoral de todos los tratamientos terapéuticos en el día 23 tras la inoculación del tumor, con una eficacia notoria de la terapia de combinación (fig. 1). Clasificación de la inhibición tumoral: paclitaxel < MBT-0206 = Gemzar-50 < MBT-0206 + Gemzar. Comparados con el grupo control, los volúmenes tumorales finales se redujeron significativamente mediante MBT-0206 al 46 % ($p < 0,05$), mediante Gemzar al 47 % ($p < 0,01$) y mediante la terapia de combinación al 22 % ($p < 0,01$) en el día 27. El tratamiento con paclitaxel redujo el volumen tumoral final al 68 %, que no era significativo. De manera interesante, la eficacia de MBT-0206 y la terapia de

combinación eran más pronunciadas en el día 23. El responsable de esto podría ser el intervalo terapéutico prolongado durante el fin de semana entre el día 23 y el 27. Estos datos revelan una clara eficacia antitumoral del paclitaxel, Gemzar y MBT-0206 en este modelo. La acción antitumoral del MBT-0206 es ligeramente más fuerte que la del paclitaxel pero similar a la del Gemzar. Tanto el MBT-0206 como la combinación con Gemzar inhibieron la formación de metástasis (fig. 2). La metástasis hepática estaba ausente solo en estos dos grupos. Además, solo en el grupo de combinación las metástasis en los ganglios linfáticos eran raras. Los datos revelaron que la combinación de MBT-0206 y Gemzar aumenta la eficacia antitumoral de ambas monoterapias.

La mortalidad se incrementó ligeramente en los grupos de tratamiento, en especial durante el tratamiento combinatorio (4 ratones murieron). Ningún animal control murió antes de la extracción.

El peso corporal de los ratones control disminuyo un 18 % durante los últimos 11 días. Durante este periodo también se observó una disminución transitoria para los ratones tratados conduciendo a una pérdida de peso del 2 % para paclitaxel, 12 % para MBT-0206, 19 % para la combinación y 22 % para Gemzar.

10. Eliminación de células resistentes a paclitaxel (por ejemplo líneas celulares tumorales)

Para demostrar el potencial del MBT-0206 para eliminar directamente tumores que expresan (multi)resistencia a los fármacos, dos líneas celulares tumorales de mamíferos altamente resistentes a paclitaxel se investigaron in vitro. Estas líneas celulares se seleccionaron aumentando escalonadamente la concentración de paclitaxel en el medio de cultivo. Ambas líneas celulares han desarrollado un alto nivel de resistencia que se refleja mediante las concentraciones para la inhibición del crecimiento del 50 % (valor IC50) para el paclitaxel de alrededor de 1 o 5 μM (867 o 5000 ng/ml). En ambos casos, el MBT-0206 es claramente superior al paclitaxel en la eliminación de células tumorales resistentes a los fármacos. Por el contrario, en las líneas celulares sensibles o de baja resistencia a los fármacos, el MBT-0206 tiene un potencial de eliminación más o menos idéntico al paclitaxel.

MBT-0206 y el sarcoma de útero humano derivado de la línea celular Mes-SA y sus líneas derivadas

La línea celular derivada Mes-SAD/Dx-5_{MBT} altamente resistente a paclitaxel se seleccionó con concentraciones crecientes de paclitaxel de la línea Mes-SA/Dx-5 disponible en el mercado (ATCC, {Harker, 1986 nº 29}). Como se muestra en la Fig. 3, es altamente resistente al paclitaxel indicado mediante el valor IC50 de 867 ng/ml. Asombrosamente, se encuentra que el MBT-0206 está eliminando esta línea celular mucho más eficazmente, reflejado por el valor IC50 aproximadamente 20 veces menor. La línea Mes-SA/Dx-5 disponible en el mercado que se seleccionó de la línea Mes-SA parental con doxorubicina ({Harker, 1986 nº 29}) expresa un nivel bajo de resistencia cruzada para paclitaxel (compárense Figs. 3 – 5). El valor IC50 para el paclitaxel es aproximadamente 7 veces menor que en Mes-SA/Dx-5_{MBT}. Al mismo tiempo, solo existe una ligera tendencia del potencial de eliminación mayor del MBT-0206 comparado con paclitaxel en esta línea celular (Fig. 4). La línea Mes-SA parental es altamente sensible para el paclitaxel indicado mediante el bajo valor IC50 de 5,5 ng/ml (Fig. 5). Frente a esta línea sensible a los fármacos, el MBT-0206 tiene el mismo potencial de eliminación que el paclitaxel. Esto también es cierto para otras líneas sensibles a paclitaxel investigadas hasta ahora. Como ejemplo para esta idea los resultados de los tratamientos con MBT-0206 y paclitaxel de la línea EA.hy926 endotelial inmortalizada se muestran en la Fig. 8.

MBT-0206 y el carcinoma de colón murino derivado de la línea celular Colon-26

De manera similar a Mes-SA/Dx-5_{MBT}, una línea altamente resistente a paclitaxel derivada de la línea Colon-26 de carcinoma de colón murino (Cell lines Service, Heidleberg) se estableció y llamó Colon-26_{MBT}. El valor IC50 para el paclitaxel es aproximadamente 5 μg/ml (Fig. 6). Al igual que en Mes-SAD/Dx-5_{MBT}, el MBT-0206 tenía un potencial claramente mayor para inhibir el crecimiento de esta línea celular. En esta línea celular, los valores IC50 difieren en un factor de 3. En línea con el resultado mostrado para las células Mes-SA y EA.hy926, la línea Colon-26 parental sensible a los fármacos es igualmente sensible para MBT-0206 y paclitaxel (Fig. 7).

Conclusión

En las líneas celulares altamente resistentes a paclitaxel, el MBT-0206 tiene potencial de eliminación significativamente mayor que el paclitaxel. En las líneas sensibles a paclitaxel, ambas formulaciones de paclitaxel tienen una eficacia comparable. Por lo tanto el MBT-0206 también puede ser capaz de eliminar tumores (multi)resistentes a los fármacos directamente in vitro e in vivo. Puede, por lo tanto, ser un nuevo enfoque para tratar tumores en seres humanos (u otras enfermedades) que se vuelven no respondedoras para el paclitaxel.

11. Terapia del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello recurrente

Se llevó a cabo una evaluación de la seguridad de liposomas catiónicos cargados de paclitaxel (MBT-0206) en pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello recurrente, refractario a la terapia.

Diseño del estudio

- Pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello recurrente, refractario a la terapia
- Enfermedad medible, definida como al menos una lesión que puede medirse con precisión en al menos una dimensión con exploración por TC espiral / IRM

- Índice de rendimiento de Karnofsky > 60 %
- Esperanza de vida > 4 meses

Administración del fármaco

- se administró paclitaxel encapsulado en liposomas catiónicos en 2 dosis: 0,55 mg de paclitaxel/kg y 1,10 mg de paclitaxel/kg
- Tras un periodo de examen, el fármaco se inyecto vía intravenosa en el día 1, 3 y 5

Conclusiones

Durante y tras la inyección no se observaron signos de toxicidad aguda o crónica: los parámetros de seguridad vital y de laboratorio permanecieron casi constantes.

Los resultados indican que la dosis y la pauta sugerida de los estudios toxicológicos preclínicos se toleraron bien por los pacientes.

Los liposomas catiónicos se dirigieron selectivamente al endotelio del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. La flujometría láser Doppler confirmó el mecanismo antivascular de acción de la terapia.

12. El MBT-0206 (EndoTag 1) es eficaz frente a tumores in vivo resistentes a paclitaxel

Dos líneas celulares tumorales que muestran altas tasas de supervivencia tras tratamientos de 72 h con paclitaxel in vitro se usaron para modelos tumorales de ratón para investigar el potencial del MBT-0206 in vivo. En estos modelos tumorales, puede demostrarse que el MBT-0206 es un inhibidor del crecimiento tumoral significativamente más eficaz que el paclitaxel.

1. Un derivado altamente resistente a paclitaxel (Mes-SA/Dx-5_{MBT}, IC50 de 0,87 μg/ml) se seleccionó del derivado celular Mes-SA/Dx-5 de sarcoma de útero humano disponible en el mercado (ECACC). Esta línea moderadamente resistente se origina de la línea Mes-SA parenteral altamente sensible. Como se muestra en la Fig. 9, la línea Mes-SA/Dx-5_{MBT} exhibe una tolerancia al paclitaxel ~ 150 veces aumentada comparado con la línea Mes-SA parental tal y como se evalúa por sus respectivos valores IC50. Para experimentos in vivo, las células Mes-SA/Dx-5_{MBT} se inyectaron vía subcutánea (s.c) en ratones NMRI desnudos. Los tratamientos con MBT-0206 o paclitaxel se comenzaron en el día 12 y se extendieron hasta el día 21 con 3 dosis semanales (5 mg/kg de pc de paclitaxel). El tamaño tumoral medio de los animales tratados con MBT-0206 se comparó con el tamaño tumoral medio de los animales tratados con paclitaxel 2 días después del último tratamiento (día 23 tras el comienzo de los tratamientos). La reducción inducida por MBT-0206 comparada con paclitaxel se da en % (véase la tabla a continuación). Como se muestra en la tabla a continuación y en la Figura 9, el MBT-0206 era claramente más eficaz que el paclitaxel en este modelo tumoral en la reducción del crecimiento tumoral en ~ 1/3.

2. En lo referente a la línea Sk-Mel28 de melanoma dérmico humano, la línea disponible en el mercado ya exhibe alta resistencia a paclitaxel (IC50 de 5,8 μg/ml, Fig. 10) y no está disponible ninguna línea derivada sensible para la comparación. In vivo, estas células se inyectaron en ratones SCID portadores de trasplante de piel humana entre el trasplante de piel humana y la piel del ratón aceptor. Los tratamientos se comenzaron en el día 17 tras la inyección de las células tumorales y se extendieron al día 28 con dosis (12,5 mg/kg de pc) cada dos días. El potencial terapéutico del MBT-0206 y paclitaxel se compararon en el día 7 tras el comienzo de los tratamientos (véase la tabla a continuación). En este modelo tumoral, el MBT-0206 bloqueó casi completamente el desarrollo tumoral mientras que el paclitaxel era completamente ineficaz. Tras el tratamiento con MBT-0206, los tumores solo crecieron marginalmente hasta aproximadamente 1/10 del tamaño de los tumores tratados con paclitaxel.

Tabla

Nombre del tumor	**Reducción tumoral inducida por MBT-0206 frente a paclitaxel (%)**	**Nº de animales en el grupo de MBT-0206 o paclitaxel**
Mes-SA/Dx-5_{MBT}	35,5	4/4
Sk-Mel28	90,0	6/5

Modelo tumoral Mes-SA/Dx-5_{MBT}: volúmenes tumorales en el día 23 tras el comienzo del tratamiento (9 tratamientos, es decir 3 por semana, del día 12 al día 31 tras la inyección de las células tumorales)

Modelo tumoral Sk-Mel: volúmenes tumorales en el día 7 tras el comienzo del tratamiento (6 tratamientos cada dos días, es decir del día 17 al día 28 tras la inyección de células tumorales).

Los siguientes puntos son parte de la descripción:

1. Uso de una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para la fabricación de una composición farmacéutica para la administración a un paciente humano que lo necesita en una dosis mensual de aproximadamente 0,25 mg hasta aproximadamente 60 mg de paclitaxel / kg de peso corporal de dicho paciente.

2. El uso de la reivindicación 1, donde dicha dosis mensual es de aproximadamente 0,5 mg hasta aproximadamente 30 mg de paclitaxel / kg de peso corporal.

3. El uso de la reivindicación 1 o 2, donde dicha dosis mensual es de aproximadamente 1,0 mg hasta aproximadamente 15 mg de paclitaxel / kg de peso corporal.

4. El uso de la reivindicación 1 o 2, donde dicha dosis mensual es de aproximadamente 1 a aproximadamente 7,5 mg de paclitaxel / kg de peso corporal.

5. El uso de la reivindicación 1 o 2, donde dicha dosis mensual es de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 mg de paclitaxel / kg de peso corporal.

6. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde la administración de dicha preparación liposomal catiónica es al menos una vez diaria.

7. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde la administración de dicha preparación liposomal catiónica es una multitud de veces durante un periodo de un mes, estando separada cada una de dichas veces por un intervalo de entre un día y 3 semanas.

8. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde la administración de dicha preparación liposomal catiónica es

(i) al menos 3 veces, especialmente 3-5 veces en la primera semana, seguido de un intervalo de 1-3 semanas sin administración, y opcionalmente una o varias repeticiones de este protocolo,
(ii) una vez en la primera semana seguido de un intervalo de al menos una semana, especialmente 1-3 semanas, sin administración, y opcionalmente una o varias repeticiones de este protocolo,
(iii) una vez a la semana durante una semana o varias semanas sucesivas, o
(iv) una combinación de (i), (ii) y/o (iii).

9. Uso de una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para la fabricación de una composición farmacéutica para una terapia de combinación simultánea, separada, o secuencial con una dosis eficaz en conjunto de al menos un agente activo adicional y/o calor y/o radiación y/o crioterapia.

10. El uso de la reivindicación 9, donde la composición es para una terapia de combinación simultánea con una dosis eficaz en conjunto de al menos un agente activo adicional.

11. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde dicha preparación liposomal catiónica comprende paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 2 % en moles a aproximadamente 8 % en moles.

12. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde dicha preparación liposomal catiónica comprende paclitaxel en una cantidad de aproximadamente 2,5 % en moles a aproximadamente 3,5 % en moles.

13. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, donde dicha preparación liposomal catiónica comprende 50:47:3 % en moles de DOTAP, DOPC y paclitaxel.

14. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde dicha preparación liposomal catiónica no comprende esencialmente cristales de paclitaxel.

15. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 para el tratamiento de una afección asociada a angiogénesis.

16. El uso de la reivindicación 15 para el tratamiento de cicatrización de heridas, cáncer, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad inflamatoria crónica tal como artritis reumatoide, dermatitis, psoriasis o endometriosis.

17. Uso de una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, un agente activo en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para la fabricación de una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de trastornos asociados con y/o acompañados de la aparición de células resistentes a los fármacos, por ejemplo para la prevención o tratamiento de tumores resistentes a los fármacos.

18. El uso de la reivindicación 17 como tratamiento de segunda o tercera línea, particularmente para cáncer.

19. El uso de la reivindicación 17 o 18, donde dicha preparación liposomal catiónica comprende 50:47:3 % en moles de DOTAP, DOPC y paclitaxel.

20. Uso de una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, un agente activo en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para la fabricación de una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de la formación de metástasis, por ejemplo el comienzo y/o progresión, particularmente asociada con y/o acompañada de un trastorno tumoral.

21. El uso de la reivindicación 20 para la fabricación de una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de la formación de metástasis hepática.

22. Uso de una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, un agente activo en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para la fabricación de una composición farmacéutica para una terapia de combinación simultánea, separada, o secuencial con una dosis eficaz en conjunto de al menos un agente activo adicional y/o calor y/o radiación y/o crioterapia frente al comienzo y/o progresión de metástasis, por ejemplo asociada con y/o acompañada de los tumores.

23. El uso de la reivindicación 22, donde la composición es para una terapia de combinación simultánea con una dosis eficaz en conjunto de al menos un agente activo adicional.

24. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 23, donde dicho agente activo se selecciona de una sustancia citotóxica o citoestática tal como una sustancia activa antitumoral o una anti-células endoteliales, un agente quimioterapéutico o una sustancia activa inmunológica.

25. El uso de una cualquiera de la reivindicación 20-24, donde dicha preparación liposomal catiónica comprende 50:47:3 % en moles de DOTAP, DOPC y paclitaxel.

26. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 20-25, donde dicho agente activo se selecciona de un taxano, una camptotecina, una estatina, un depsipéptido, talidomida, otros agentes que interactúan con microtúbulos tales como discodermolida, laulimalida, isolaulimalida, eleuterobina, Sarcodictina A y B, y en una realización más preferida se selecciona de paclitaxel, docetaxel, captotecina o cualquier derivado de los mismos.

27. El uso de la reivindicación 9 o 22, donde dicho agente activo adicional es una sustancia activa anti-células endoteliales, una sustancia activa antitumoral, o un agente quimioterapéutico, una sustancia activa inmunológica, un compuesto que reduce o elimina las reacciones de hipersensibilidad o un quimiosensibilizador.

28. El uso de las reivindicaciones 9, 22 o 27, donde dicho agente activo adicional se selecciona de agentes antioneoplásicos especialmente agentes antimitóticos como paclitaxel, agentes alquilantes especialmente platino que contienen compuestos como cisplatino, carboplatino, agentes inhibidores de las topoisomerasas de ADN como camptotecina o doxorubicina, antimetabolitos de ARN/ADN, especialmente 5-fluorouracilo o gemcitabina y otros compuestos que tienen actividad antitumoral.

29. El uso de la reivindicación 27, donde dicho compuesto que reduce o elimina las reacciones de hipersensibilidad se selecciona del grupo que comprende esteroides, antihistamínicos, antagonistas de los receptores H2, y combinaciones de los mismos en una cantidad suficiente para prevenir las reacciones anafilácticas letales.

30. El uso de la reivindicación 28, donde dicho compuesto se selecciona del grupo que comprende ranitidina, dexametasona, difenhidramina, famotidina, hidrocortisona, clemastina, cimetidina, prednisolona, clorfeniramina,

clorfenamina, maleato de dimetindeno y prometazina.

31. El uso de la reivindicación 27, donde dicho quimiosensibilizador se selecciona del grupo que comprende moduladores del ciclo celular, sustancias que revierten una resistencia a los fármacos como verapamilo, sustancias vasoactivas como fármacos antihipertensivos, sustancias que modifican las interacciones de liposomas catiónicos con componentes de la sangre como protamina.

32. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-31 para el tratamiento del cáncer, especialmente cáncer pancreático, cáncer pancreático inoperable, cáncer gastrointestinal, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal o gástrico, cáncer de mama, cáncer de próstata y melanoma.

33. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 32, donde dicha preparación liposomal catiónica comprende liposomas que tienen un diámetro medio de partícula de aproximadamente 25 nm a aproximadamente 500 nm, preferentemente aproximadamente 100 nm a aproximadamente 300 nm.

34. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, donde dicha preparación liposomal catiónica se administra sistemáticamente, preferentemente vía intravenosa.

35. Uso de una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para la fabricación de una composición farmacéutica para la administración a un paciente humano que lo necesita en una dosis mensual de aproximadamente 9 mg hasta aproximadamente 2337 mg de paclitaxel/m^2 de superficie corporal de dicho paciente humano.

Lista de referencias

1. Rowinsky, E.K., y R.C. Donehower. 1995. paclitaxel (paclitaxel). N Engl J Med 332:1004-1014.
2. Awada, A. 2002. New cytotoxic agents and molecular-targeted therapies in the treatment of metastatic breast cancer. Forum (Genova) 12:4-15.
3. Seidman, A.D. 2003. Monotherapy options in the management of metastatic breast cancer. Semin Oncol 30:6-10.
4. Romanini, A., L. Tanganelli, F. Carnino, A. Fanucchi, R. Lionetto, S. Pastorino, S. Cosio, A. Gadducci, y P.F.Conte. 2003. First-line chemotherapy with epidoxorubicin, paclitaxel, and carboplatin for the treatment of advanced epithelial ovarian cancer patients. Gynecol Oncol 89:354-359.
5. Blom, R., N. Palm, y E. Simonsen. 1996. paclitaxel (paclitaxel) monotherapy in the treatment of progressive and recurrent ovarian carcinoma after platinum-based chemotherapy. Acta Oncol 35:733-736.
6. Modi, S., K.S. Panageas, E.T. Duck, A. Bach, N. Weinstock, J. Dougherty, L. Cramer, C. Hudis, L. Norton, y A. Seidman. 2002. Prospective exploratory analysis of the association between tumor response, quality of life, and expenditures among patients receiving paclitaxel monotherapy for refractory metastatic breast cancer. J Clin Oncol 20:3665-3673.
7. Ozols, R.F., B.N. Bundy, B.E. Greer, J.M. Fowler, D. Clarke-Pearson, R.A. Burger, R.S. Mannel, K. DeGeest, E.M. Hartenbach, y R. Baergen. 2003. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. J Clin Oncol 21:3194-3200.
8. Vogelstein, B., E.R. Fearon, S.R. Hamilton, S.E. Kern, A.C. Preisinger, M. Leppert, Y. Nakamura, R. White, A.M. Smits, y J.L. Bos. 1988. Genetic alterations during colorectal-tumor development. N Engl J Med 319:525-532.
9. Kerbel, R.S. 1991. Inhibition of tumor angiogenesis as a strategy to circumvent acquired resistance to anti-cancer therapeutic agents. Bioessays 13:31-36.
10. Schünemann, Possinger, Scheidel, y Willich. 1999. Gynäkologische Malignome. Zuckschwerdt GmbH, Germering/München.
11. Heidemann, E., B. Steinke, y H.D. Waller. 1997. Therapieschemata Onkologie und Hämatologie. Urban & Schwarzenberg, München.
12. Heinemann, V. 2003. Role of gemcitabine in the treatment of advanced and metastatic breast cancer. Oncology 64:191-206.
13. Thigpen, J.T., J.A. Blessing, G. Olt, S.S. Lentz, y J. Bell. 2003. Cisplatin as second-line therapy in ovarian carcinoma treated initially with single-agent paclitaxel: a Gynecologic Oncology Group study. Gynecol Oncol 90:581-586.
14. Kuenen, B.C., L. Rosen, E.F. Smit, M.R. Parson, M. Levi, R. Ruijter, H. Huisman, M.A. Kedde, P. Noordhuis, W.J. van der Vijgh, G.J. Peters, G.F. Cropp, P. Scigalla, K. Hoekman, H.M. Pinedo, y G. Giaccone. 2002. Dosefinding and pharmacokinetic study of cisplatin, gemcitabine, and SU5416 in patients with solid tumors. J Clin Oncol 20:1657-1667.
15. Sledge, G.W., Jr. 2003. Gemcitabine combined with paclitaxel or paclitaxel/trastuzumab in metastatic breast cancer. Semin Oncol 30:19-21.
16. Reck, M., J. von Pawel, H.N. Macha, E. Kaukel, K.M. Deppermann, R. Bonnet, K. Ulm, S. Hessler, y U.

Gatzemeier. 2003. Randomized phase III trial of paclitaxel, etoposide, and carboplatin versus carboplatin, etoposide, and vincristine in patients with small-cell lung cancer. J Natl Cancer Inst 95:1118-1127.
17. Zimpfer-Rechner, C., U. Hofmann, R. Figl, J.C. Becker, U. Trefzer, I. Keller, A. Hauschild, y D. Schadendorf. 2003. Randomized phase II study of weekly paclitaxel versus paclitaxel and carboplatin as second-line therapy in disseminated melanoma: a multicentre trial of the Dermatologic Co-operative Oncology Group (DeCOG). Melanoma Res 13:531-536.
18. Sledge, G.W., D. Neuberg, P. Bernardo, J.N. Ingle, S. Martino, E.K. Rowinsky, y W.C. Wood. 2003. Phase III trial of doxorubicin, paclitaxel, and the combination of doxorubicin and paclitaxel as front-line chemotherapy for metastatic breast cancer: an intergroup trial (E1193). J Clin Oncol 21:588-592.
19. Nobmann, S., B. Bauer, y G. Fricker. 2001. Ivermectin excretion by isolated functionally intact brain endothelial capillaries. Br J Pharmacol 132:722-728.
20. Thomas, H., y H.M. Coley. 2003. Overcoming multidrug resistance in cancer: an update on the clinical strategy of inhibiting p-glycoprotein. Cancer Control 10:159-165.
21. Harker, W.G., y B.I. Sikic. 1985. Multidrug (pleiotropic) resistance in doxorubicin-selected variants of the human sarcoma cell line MES-SA. Cancer Res 45:4091-4096.
22. Fellner, S., B. Bauer, D.S. Miller, M. Schaffrik, M. Fankhanel, T. Spruss, G. Bernhardt, C. Graeff, L. Farber, H. Gschaidmeier, A. Buschauer, y G. Fricker. 2002. Transport of paclitaxel (paclitaxel) across the blood-brain barrier in vitro and in vivo. J Clin Invest 110:1309-1318.
23. Kiesewetter, D.O., E.M. Jagoda, C.H. Kao, Y. Ma, L. Ravasi, K. Shimoji, L.P. Szajek, y W.C. Eckelman. 2003. Fluoro-, bromo-, and iodo paclitaxel derivatives: synthesis and biological evaluation. Nucl Med Biol 30:11-24.
24. Kohler, S., y W.D. Stein. 2003. Optimizing chemotherapy by measuring reversal of P-glycoprotein activity in plasma membrane vesicles. Biotechnol Bioeng 81:507-517.
25. Leonard, G.D., O. Polgar, y S.E. Bates. 2002. ABC transporters and inhibitors: new targets, new agents. Curr Opin Investig Drugs 3:1652-1659.
26. Agrawal, M., J. Abraham, F.M. Balis, M. Edgerly, W.D. Stein, S. Bates, T. Fojo, y C.C. Chen. 2003. Increased 99mTc-sestamibi accumulation in normal liver and drug-resistant tumors after the administration of the glycoprotein inhibitor, XR9576. Clin Cancer Res 9:650-656.
27. Callies, S., D.P. de Alwis, A. Harris, P. Vasey, J.H. Beijnen, J.H. Schellens, M. Burgess, y L. Aarons. 2003. A population pharmacokinetic model for paclitaxel in the presence of a novel P-gp modulator, Zosuquidar Trihydrochloride(LY335979). Br J Clin Pharmacol 56:46-56.
28. Lindl, T., y J. Bauer. 1994. Zell- und Gewebekultur. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
29. Harker, W.G., D. Bauer, B.B. Etiz, R.A. Newman, y B.I. Sikic. 1986. Verapamil-mediated sensitization of doxorubicin-selected pleiotropic resistance in human sarcoma cells: selectivity for drugs which produce DNA scission. Cancer Res 46:2369-2373.

REIVINDICACIONES

1. Una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para su uso en la administración a un paciente humano que lo necesite en el tratamiento de una afección asociada con angiogénesis seleccionada de cicatrización de heridas, cáncer, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad inflamatoria crónica seleccionada de artritis reumatoide, dermatitis, psoriasis o endometriosis en una cantidad de aproximadamente 0,01 a 2,5 mg de paclitaxel / kg de peso corporal de dicho paciente por dosis unitaria única en una dosis mensual de aproximadamente 0,25 mg hasta aproximadamente 60 mg de paclitaxel / kg de peso corporal.

2. La preparación para el uso de la reivindicación 1, donde dicha dosis mensual es de aproximadamente 1,0 mg hasta aproximadamente 15 mg de paclitaxel / kg de peso corporal.

3. La preparación para el uso de la reivindicación 1 o 2, donde dicha dosis mensual es de aproximadamente 1 a aproximadamente 7,5 mg de paclitaxel / kg de peso corporal.

4. La preparación para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la administración de dicha preparación liposomal catiónica es una multitud de veces durante un periodo de un mes, estando cada una de dichas veces separadas por un intervalo de entre un día y 3 semanas.

5. La preparación para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la administración de dicha preparación liposomal catiónica es

(i) al menos 3 veces, especialmente 3-5 veces en la primera semana, seguido de un intervalo de 1-3 semanas sin administración, y opcionalmente una o varias repeticiones de este protocolo,
(ii) una vez en la primera semana seguido de un intervalo de al menos una semana, especialmente 1-3 semanas, sin administración, y opcionalmente una o varias repeticiones de este protocolo,
(iii) una vez a la semana durante una semana o varias semanas sucesivas, o
(iv) una combinación de (i), (ii) y/o (iii).

6. Una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para su uso en una terapia de combinación simultánea, separada, o secuencial de un paciente humano con una dosis eficaz en conjunto de al menos un agente activo adicional, que se selecciona de agentes antineoplásicos, especialmente agentes antimitóticos seleccionados de paclitaxel, agentes alquilantes, especialmente platino que contiene compuestos seleccionados de cisplatino, carbopaltino, agentes inhibidores de las topoisomerasas de ADN seleccionados de camptotecina o doxorubicina, antimetabolitos de ARN/ADN, especialmente 5-fluorouracilo o gemcitabina y otros compuestos que tienen actividad antitumoral, o un compuesto que reduce o elimina las reacciones de hipersensibilidad que comprende esteroides, antihistamínicos, antagonistas de los receptores H2 y combinaciones de los mismos en una cantidad suficiente para prevenir las reacciones anafilácticas letales, o un compuesto que comprende ranitidina, dexametasona, difenhidramina, famotidina, hidrocortisona, clemastina, cimetidina, prednisolona, clorfeniramina, clorfenamina, maleato de dimetindeno y prometazina, o un quimiosensibilizador que comprende moduladores del ciclo celular, sustancias que revierten una resistencia a los fármacos seleccionadas de verapamilo, sustancias vasoactivas seleccionadas de fármacos antihipertensivos, sustancias que modifican las interacciones de liposomas catiónicos con componentes de la sangre seleccionadas de protamina y/o calor y/o radiación y/o crioterapia,
donde la dosis unitaria única de paclitaxel liposomal está en una cantidad de aproximadamente 0,01 a 2,5 mg de paclitaxel / kg de peso corporal de dicho paciente.

7. La preparación para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde dicha preparación liposomal catiónica comprende paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 2 % en moles a aproximadamente 8 % en moles.

8. La preparación para el uso de las reivindicaciones 1-7 para la administración en la cicatrización de heridas, cáncer, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad inflamatoria crónica seleccionada de artritis reumatoide, dermatitis, psoriasis o endometriosis.

9. Una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, un agente activo en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para su uso en la prevención o tratamiento de trastornos asociados con y/o acompañados de la aparición de células resistentes a los fármacos, por ejemplo para la prevención o tratamiento de tumores resistentes a los fármacos, de un paciente humano en una cantidad de aproximadamente 0,01 a 2,5 mg de paclitaxel / kg de peso

corporal de dicho paciente por dosis unitaria única, donde dicho agente activo es paclitaxel.

10. Una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, un agente activo en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para su uso en la prevención o tratamiento de la formación de metástasis, por ejemplo, el comienzo y/o progresión, particularmente asociada con y/o acompañada de un trastorno tumoral, de un paciente humano en una cantidad de aproximadamente 0,01 a 2,5 mg de paclitaxel / kg de peso corporal de dicho paciente por dosis unitaria única, donde dicho agente activo es paclitaxel.

11. La preparación para el uso de una cualquiera de la reivindicación 1-10, donde dicha preparación liposomal catiónica comprende 50:47:3 % en moles de DOTAP, DOPC y paclitaxel.

12. La preparación para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para el tratamiento de cáncer, especialmente cáncer pancreático, cáncer pancreático inoperable, cáncer gastrointestinal, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal o gástrico, cáncer de mama, cáncer de próstata y melanoma.

13. Una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para su uso en la prevención o tratamiento de trastornos asociados con y/o acompañados de la aparición de células resistentes a los fármacos, por ejemplo para la prevención o tratamiento de tumores resistentes a los fármacos, de un paciente humano.

14. Una preparación liposomal catiónica que comprende al menos un lípido catiónico de aproximadamente 30 % en moles a aproximadamente 99,9 % en moles, paclitaxel en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en moles y al menos un lípido neutro y/o aniónico de aproximadamente 0 % en moles a aproximadamente 70 % en moles para su uso en la prevención o tratamiento de la formación de metástasis, por ejemplo el comienzo y/o progresión, particularmente asociada con y/o acompañada de un trastorno tumoral, de un paciente humano.

Figura 1

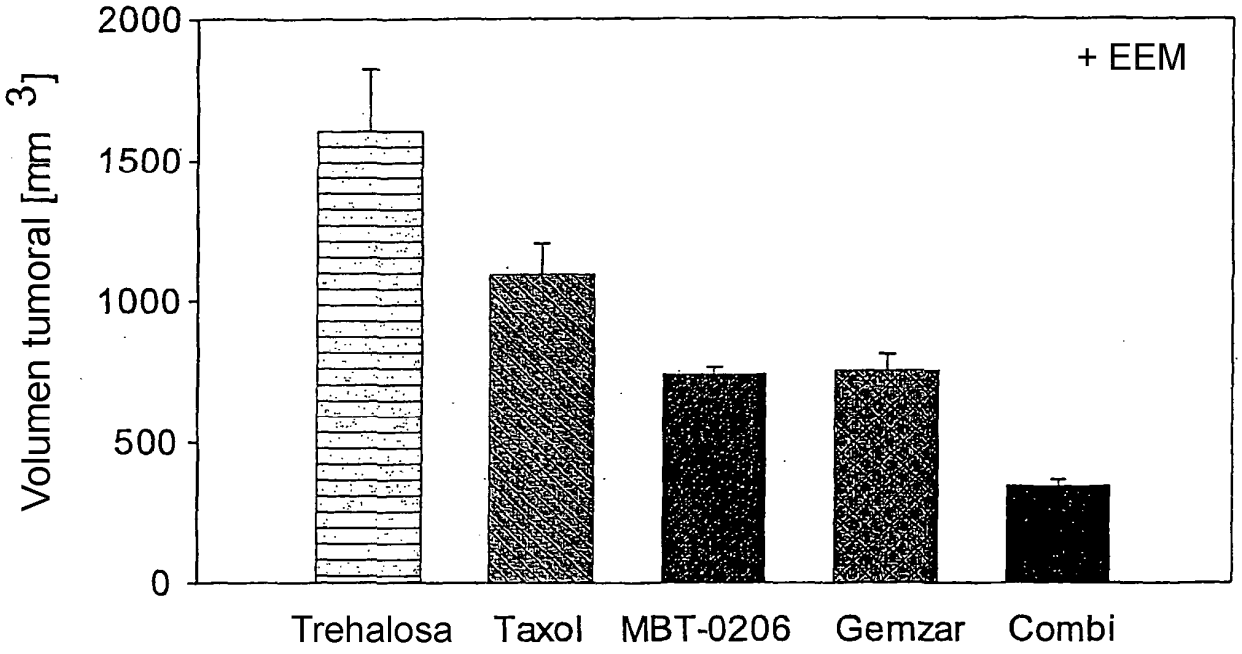

2000
1500
1000
500
0
Volumen tumoral [mm 3]
+ EEM
Trehalosa
Taxol
MBT-0206
Gemzar
Combi

Figura 2

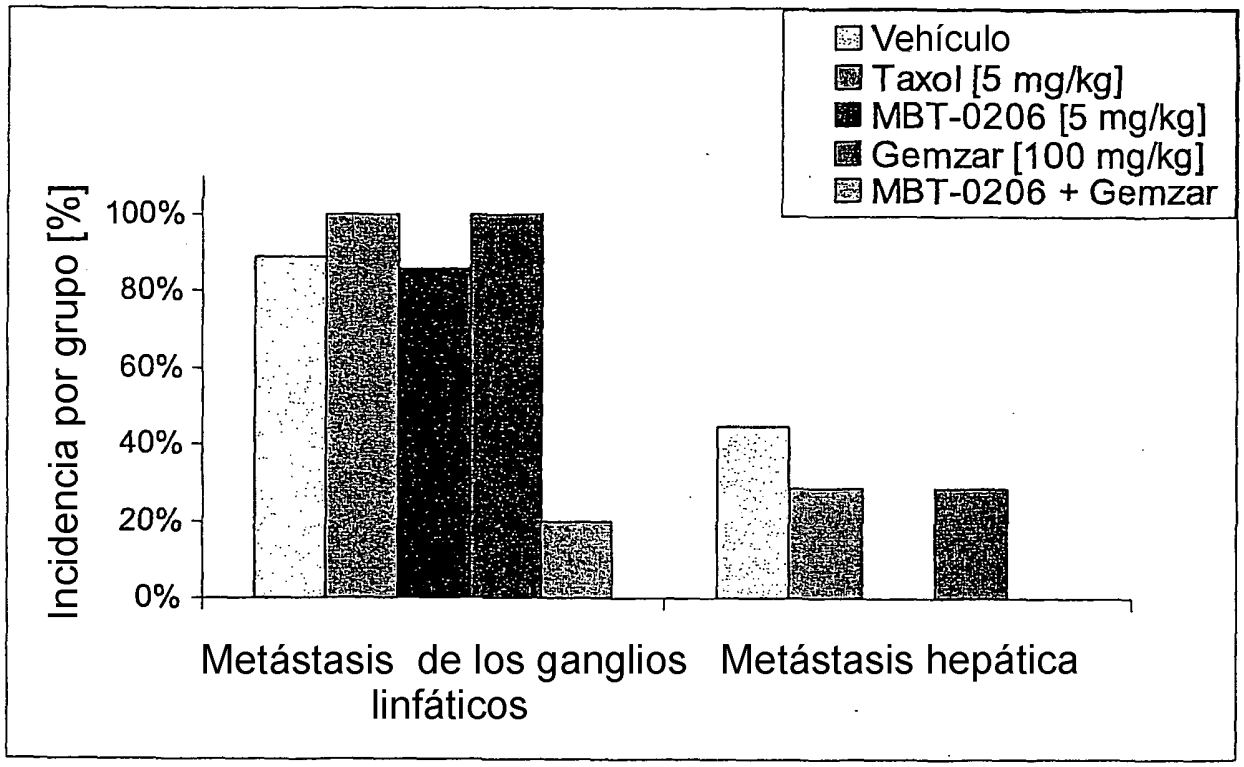

Vehículo
Taxol [5 mg/kg]
MBT-0206 [5 mg/kg]
Gemzar [100 mg/kg]
MBT-0206 + Gemzar
Incidencia por grupo [%]
100%
80%
60%
40%
20%
0%
Metástasis de los ganglios linfáticos
Metástasis hepática

Figura 3

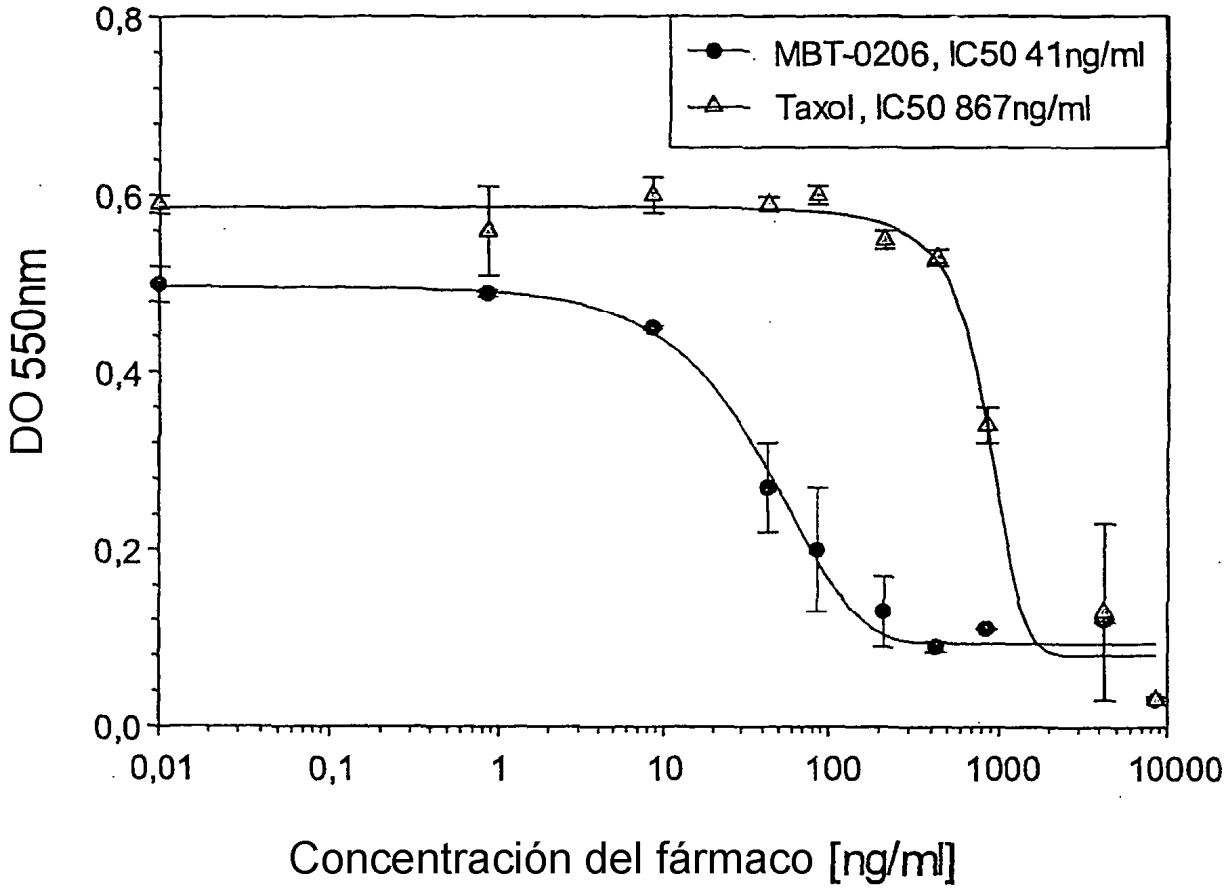

MBT-0206, IC50 41ng/ml
Taxol, IC50 867ng/ml
DO 550nm
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0,01
0,1
1
10
100
1000
10000
Concentración del fármaco [ng/ml]

Figura 4

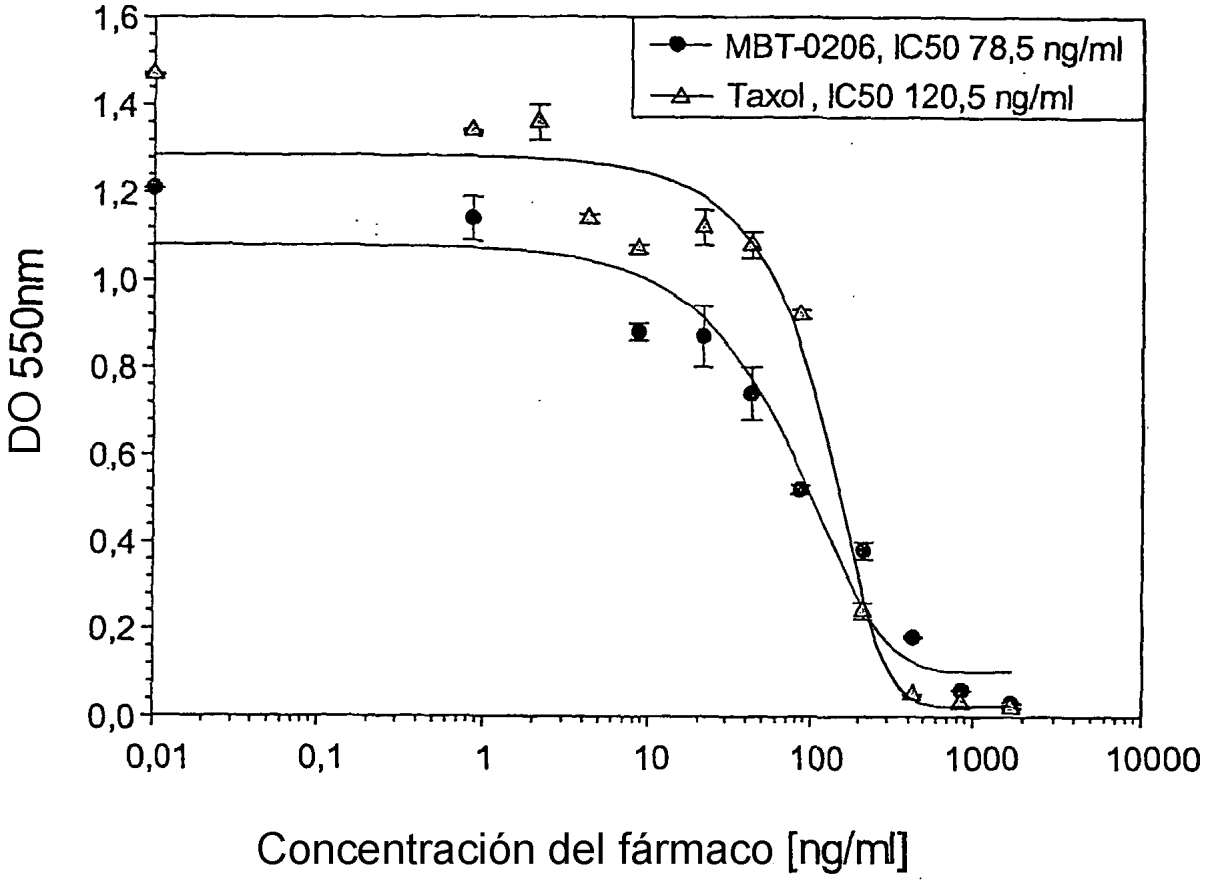

MBT-0206, IC50 78,5 ng/ml
Taxol, IC50 120,5 ng/ml
DO 550nm
1,6
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0,01
0,1
1
10
100
1000
10000
Concentración del fármaco [ng/ml]

Figura 5

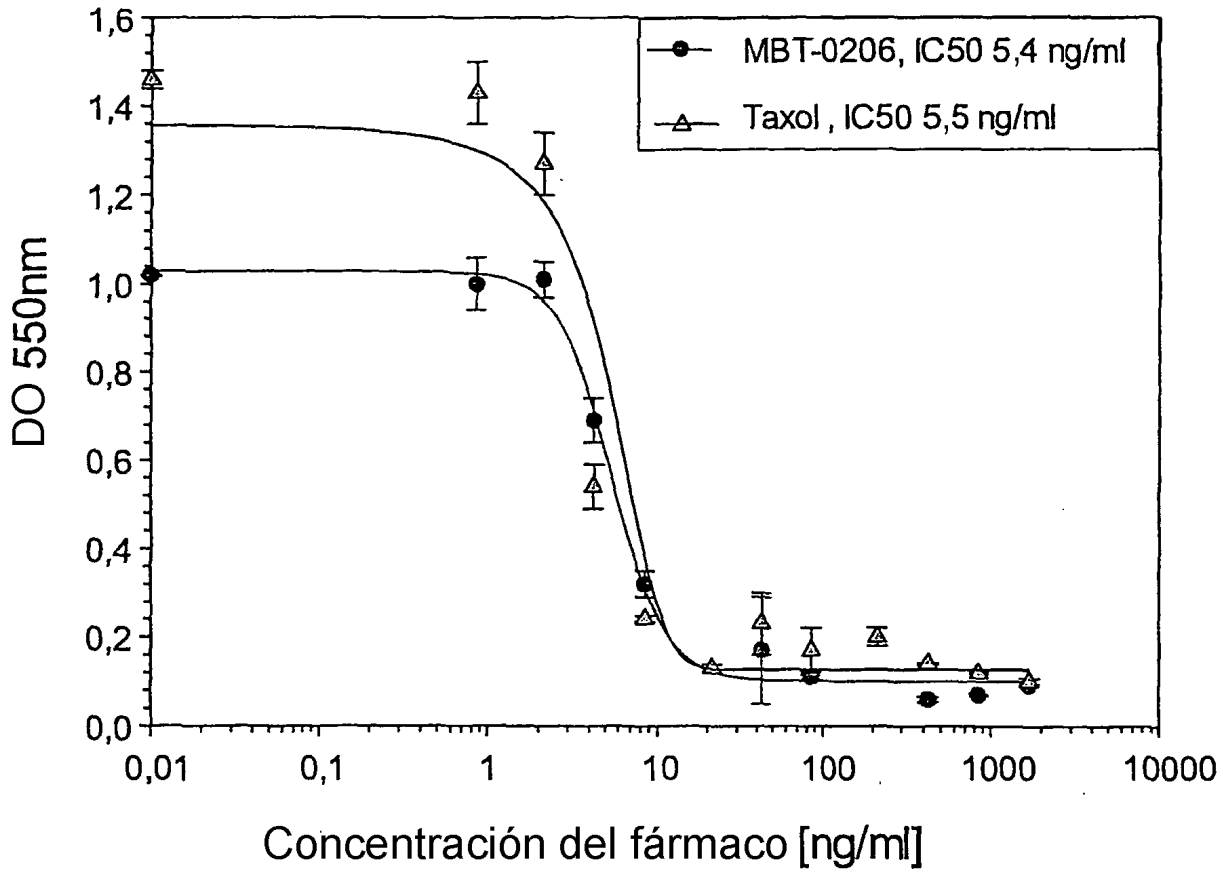

MBT-0206, IC50 5,4 ng/ml
Taxol , IC50 5,5 ng/ml
DO 550nm
1,6
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0,01
0,1
1
10
100
1000
10000
Concentración del fármaco [ng/ml]

Figura 6

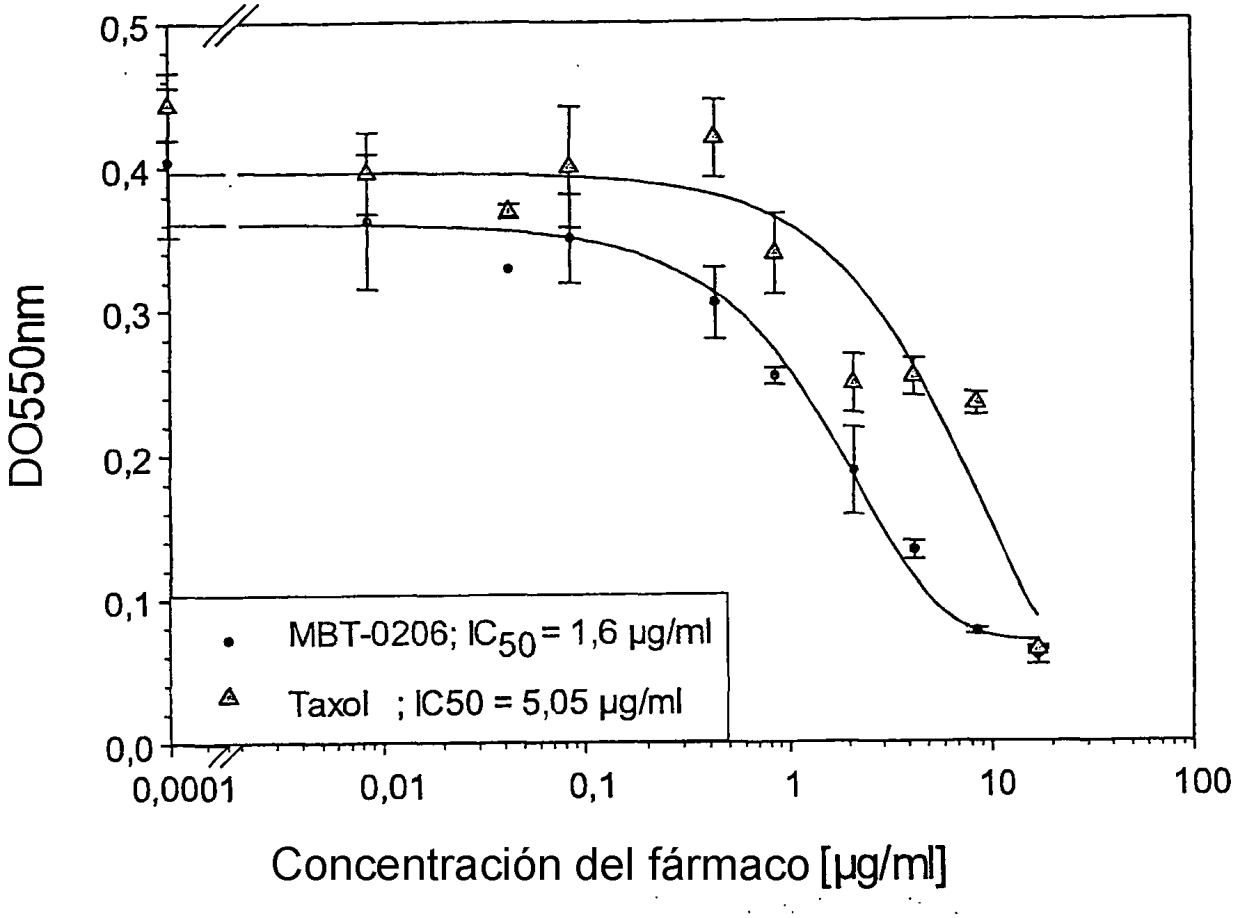

0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
DO550nm
MBT-0206; IC50 = 1,6 µg/ml
Taxol ; IC50 = 5,05 µg/ml
0,0001
0,01
0,1
1
10
100
Concentración del fármaco [µg/ml]

Figura 7

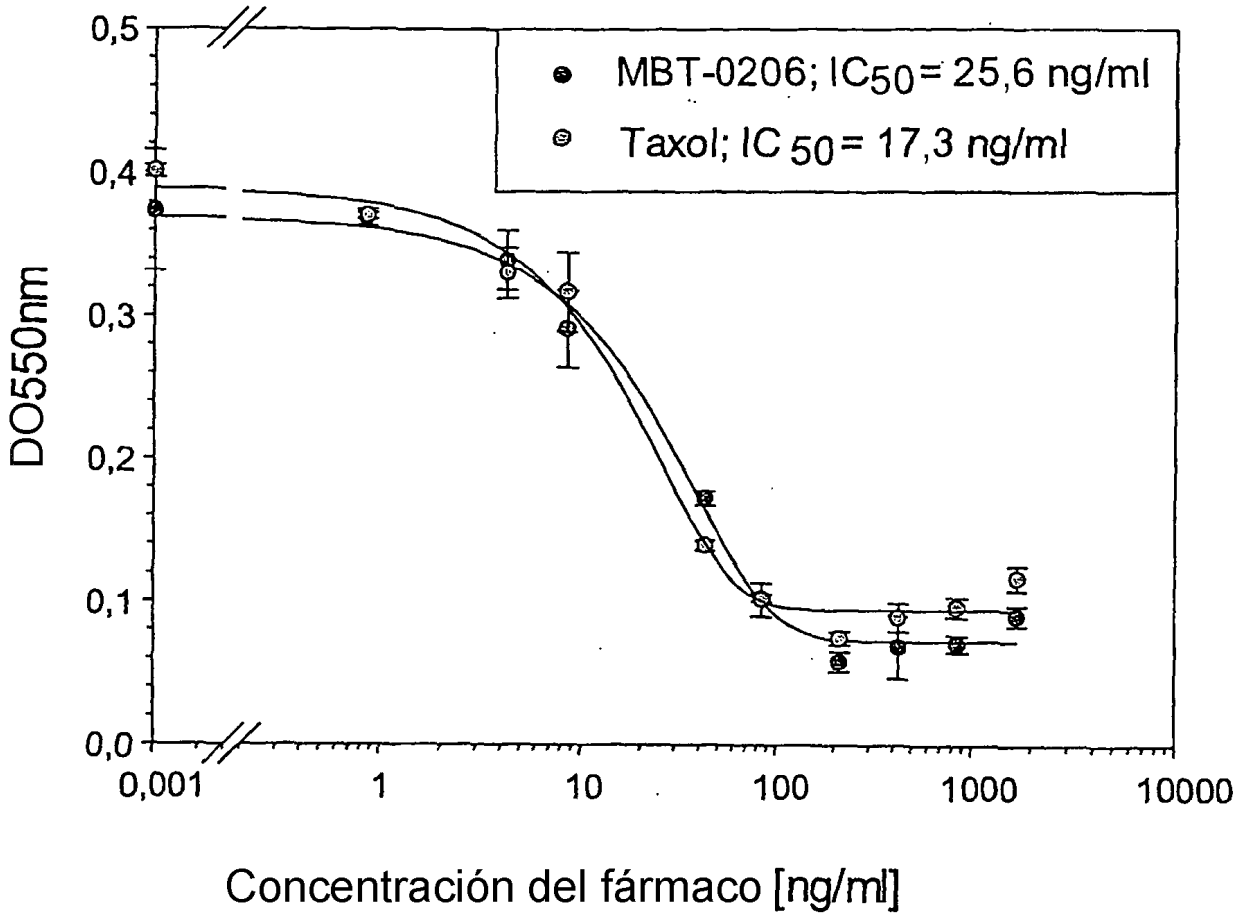

MBT-0206; IC50= 25,6 ng/ml
Taxol; IC 50= 17,3 ng/ml
DO550nm
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
0,001
1
10
100
1000
10000
Concentración del fármaco [ng/ml]

Figura 8

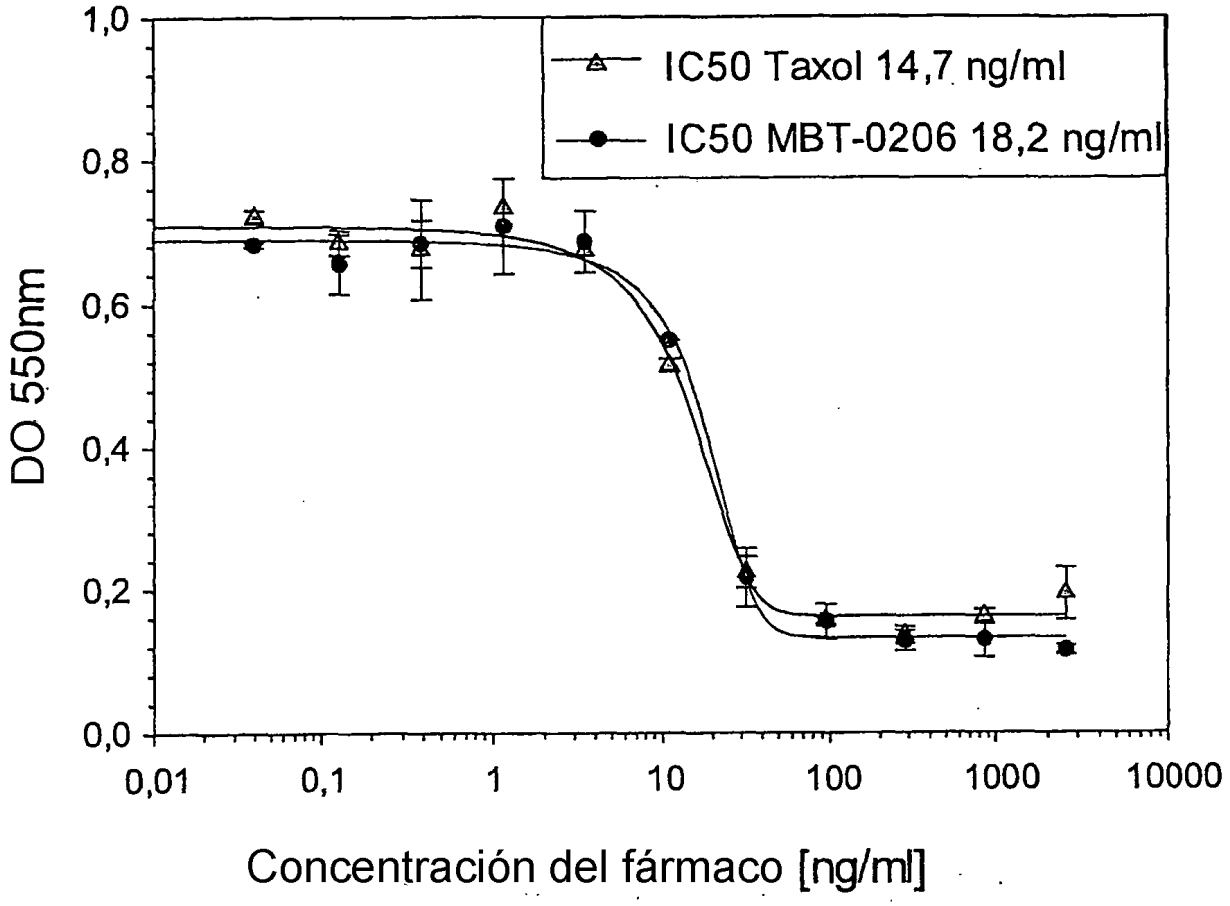

IC50 Taxol 14,7 ng/ml
IC50 MBT-0206 18,2 ng/ml
DO 550nm
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0,01
0,1
1
10
100
1000
10000
Concentración del fármaco [ng/ml]

Figura 9

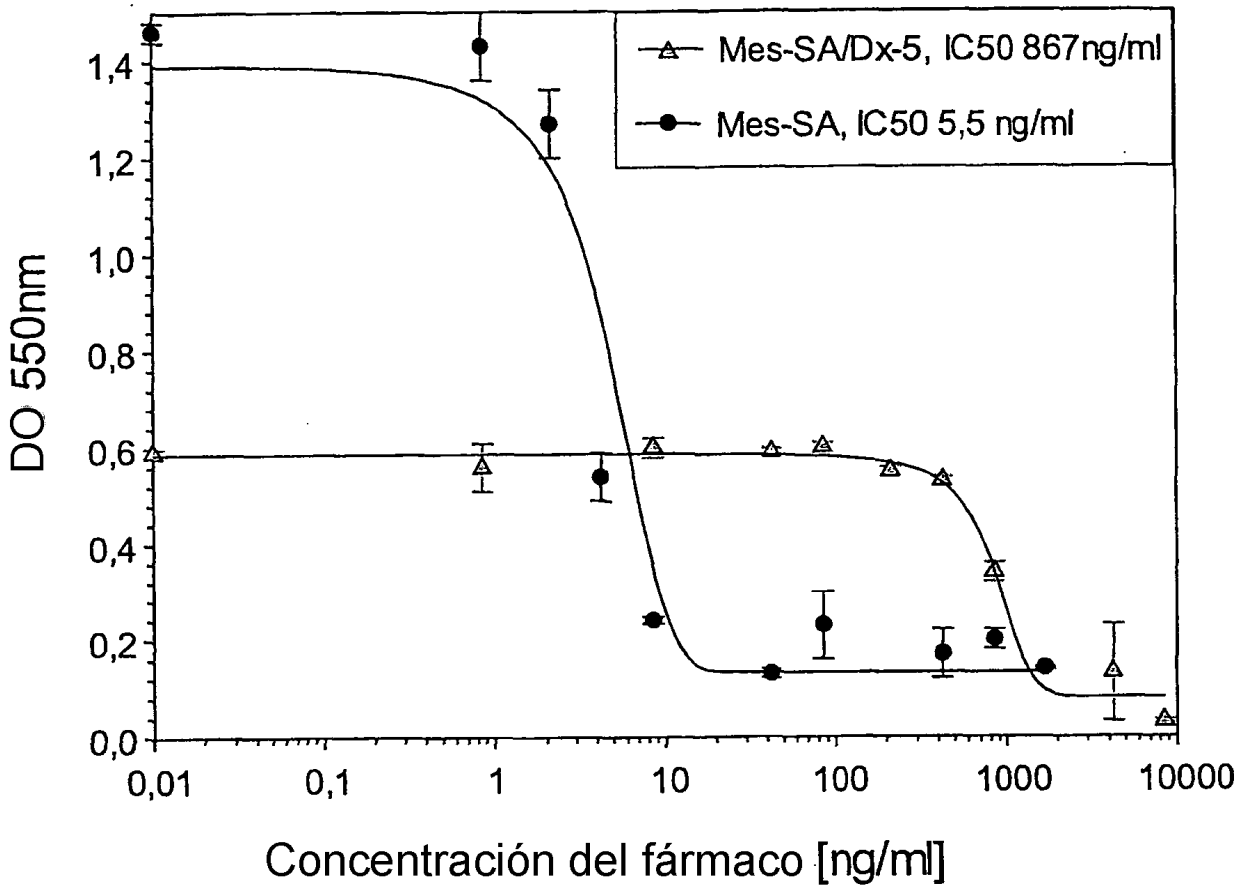
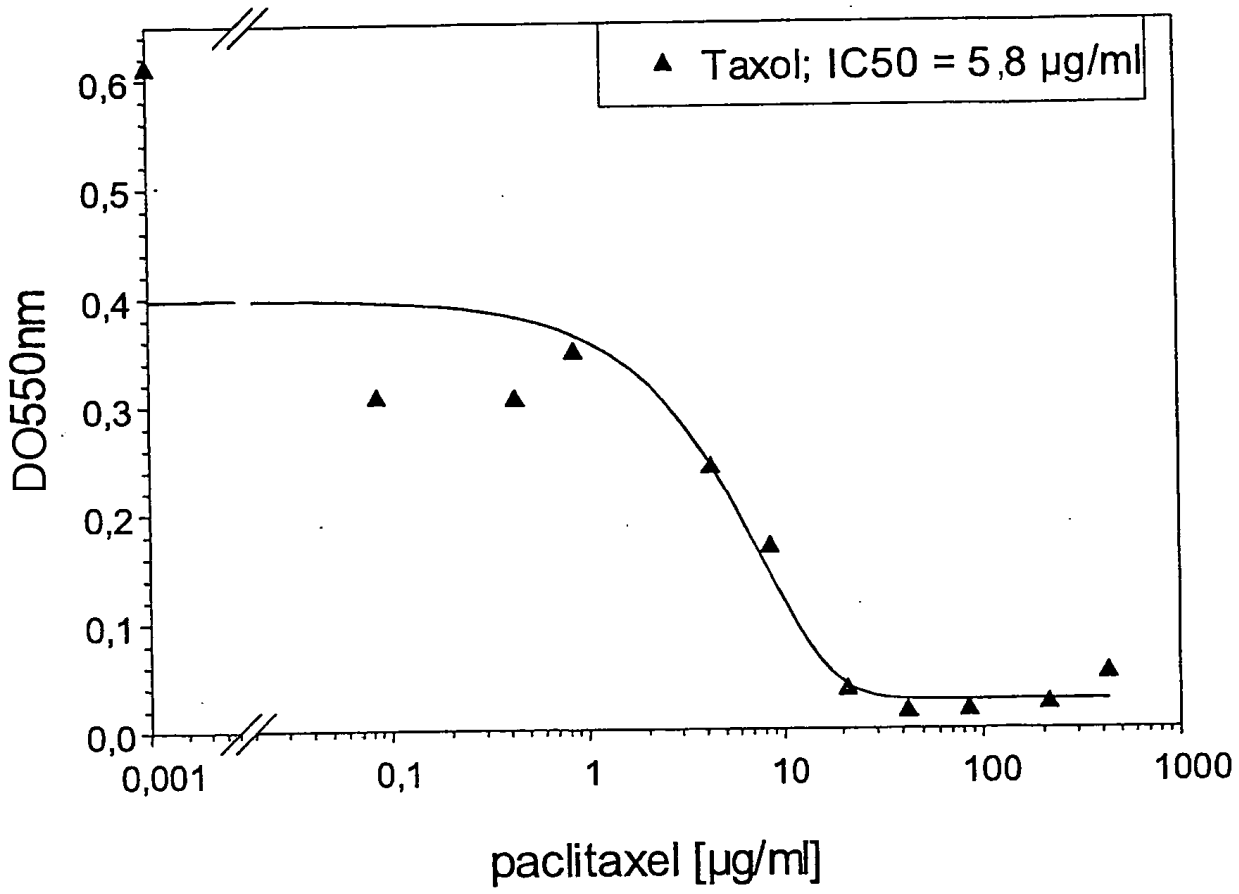

Mes-SA/Dx-5, IC50 867ng/ml
Mes-SA, IC50 5,5 ng/ml
DO 550nm
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0,01
0,1
1
10
100
1000
10000
Concentración del fármaco [ng/ml]

Figura 10


Taxol; IC50 = 5,8 µg/ml
DO550nm
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
0,001
0,1
1
10
100
1000
paclitaxel [µg/ml]