(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 658 971**

(51) Int. Cl.:

A61P 35/00 (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01)
A61K 31/282 (2006.01)
A61K 33/24 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.09.2010 PCT/DK2010/050237**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **24.03.2011 WO11032563**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.09.2010 E 10757705 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2017 EP 2477699**

(54) Título: **Uso médico de liposomas hidrolizables por sPLA2**

(30) Prioridad:

17.09.2009 DK 200901037

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.03.2018

(73) Titular/es:

BIO-BEDST APS (100.0%)
Dandyvej 19
7100 Vejle, DK

(72) Inventor/es:

PETERSEN, MORTEN JUST;
MELANDER, FREDRIK;
VIKBJERG, ANDERS FALK;
PETERSEN, SUNE ALLAN y
MADSEN, MOGENS WINKEL

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 658 971 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 médico de liposomas hidrolizables por sPLA2

Campo de la invención

La presente invención se refiere a sistemas para la administración de fármacos en liposomas y a su uso en terapia.

Antecedentes

Liposomas para la administración de fármacos

Los liposomas son esferas microscópicas que se desarrollaron como vehículos/sistemas de administración de fármacos en la década de 1980. Los primeros productos farmacéuticos basados en liposomas fueron aprobados para uso comercial en la década de 1990.

Los liposomas tienen tres compartimentos distintos que se pueden utilizar para transportar diversos compuestos tales como fármacos: El compartimento interior acuoso; la bicapa hidrófoba; y la interfase polar de la laminilla interna y externa. Dependiendo de la naturaleza química del compuesto a encapsular, éste será localizado en cualquiera de los compartimentos.

Los liposomas se consideran un sistema prometedor de administración de fármacos ya que se dirigen de forma pasiva a un tejido tumoral utilizando las características fisiopatológicas de los tumores sólidos tales como hiperplasia y aumento de la permeabilidad vascular pero también un defecto en el drenaje linfático. Estas características facilitan la extravasación de las nanopartículas y los liposomas pueden ser retenidos en el tejido durante un período de tiempo más largo debido al efecto de permeabilidad y retención aumentada (EPR).

La propiedad de los liposomas como vehículos de administración de fármacos depende de forma crucial de su carga superficial, permeabilidad, solubilidad, estabilidad, etc., que están influenciadas de modo importante por los lípidos comprendidos en la composición del liposoma. Además, el fármaco a encapsular en el liposoma puede necesitar otros requisitos a tener en cuenta en la preparación de una formulación de liposomas estable.

Las consideraciones con respecto a la seguridad y eficacia de los fármacos requieren que las formulaciones en liposomas mantengan sus propiedades, es decir, que permanezcan estables, desde el momento de la preparación hasta la administración. Además, es deseable que estas formulaciones estén intactas durante el transporte en el sujeto tratado hasta que alcancen el sitio diana, donde el fármaco es específicamente liberado.

El uso terapéutico de liposomas cargados negativamente puede inducir reacciones de hipersensibilidad no mediadas por IgE observadas en los pacientes tratados con productos liposomales. Se cree que estas reacciones adversas son el resultado de la producción de anafilatoxina través de la activación del complemento.

La administración repetida de formulaciones liposomales PEGiladas ha dado como resultado en algunos casos un aclaramiento sanguíneo acelerado (fenómeno ABC) que conduce a un rápido aclaramiento del torrente circulatorio y al correspondiente aumento de la acumulación en el hígado y en el bazo cuando se compara con la primera dosis. El fenómeno ABC puede provocar la liberación no deseada del compuesto encapsulado en órganos que tienen liposomas acumulados. Además, el fenómeno ABC normalmente no se desea ya que puede evitar que los liposomas se acumulen en los sitios deseados.

Se han descrito varias estrategias de direccionamiento para los liposomas, por ejemplo, la conjugación a ligandos específicos de la célula, tales como anticuerpos.

Liposomas hidrolizables por sPLA2

Se ha sugerido otra estrategia basada en los niveles elevados de la fosfolipasa A2 secretora (sPLA2) en tejido canceroso y también en sitios de inflamación. La idea básica es que se pueden preparar liposomas que son hidrolizables por la sPLA2 y que la hidrólisis por sPLA2 lleva a la liberación del fármaco encapsulado dentro del liposoma. Por otra parte, los productos de la hidrólisis por sPLA2, un lisolípido y un ácido graso actúan como permeabilizadores de las membranas celulares llevando a un aumento de la absorción celular del fármaco. Puesto que los niveles de sPLA2 son elevados en los tejidos cancerosos y en los sitios de inflamación, los liposomas activados por sPLA2 se pueden usar preferiblemente para administrar fármacos encapsulados a dichos sitios.

Varios documentos han descrito liposomas activados por sPLA2, pero las aplicaciones terapéuticas no han sido descritas hasta ahora.

El documento WO0158910 describe liposomas activados por sPLA2 que comprenden profármacos de mono-éter lisofosfolípidos. Este documento también describe la encapsulación de compuestos bioactivos adicionales. Sin embargo, no se indica ningún uso terapéutico de los liposomas descritos.

El documento WO0176555 sugiere el uso de un sistema de administración de fármacos basado en lípidos para el

tratamiento de enfermedades o afecciones asociadas con un aumento localizado de sPLA2 extracelular en el tejido cutáneo o subcutáneo de un mamífero, para la administración de un profármaco de un éter-lisolípido que se activa por sPLA2. El sistema comprende además un, así llamado, compuesto activo marginal. Este documento no describe la aplicación tópica a un mamífero tal como un ser humano. Por lo tanto, no se da a conocer ningún uso terapéutico de los liposomas descritos.

El documento WO0176556 sugiere el uso de un sistema de administración de fármacos basado en lípidos para el tratamiento o la prevención de una infección parasitaria seleccionada de Leishmaniasis, Tripanosomiasis, malaria, Entaboeba, Histolyticasis y "trematodo hepático oriental chlomorchis sinensis", en el que el sistema comprende profármacos en forma de derivados de lípidos que se activan por sPLA2. Los liposomas pueden contener un compuesto bioactivo adicional. No se demuestra ningún tratamiento real de las infecciones mencionadas ni se administran los liposomas a un mamífero tal como un ser humano.

Los documentos WO06048017 y WO07107161 también describen liposomas activados por sPLA2, pero sin ninguna descripción de tratamiento médico.

Andresen *et al.*, 2005a (Andresen TL, 2005) exponen la activación y liberación de profármacos y fármacos liposomales en el tejido canceroso provocada por la sPLA2. Entre otros, los autores dan a conocer datos de un experimento que muestra la inhibición del crecimiento tumoral en el modelo de ratón con xenoinjerto de mama MT-3. El cisplatino encapsulado en liposomas degradables por sPLA2 (DSPC/DSPG/DSPE-PEG2000, no se dan cantidades de los lípidos individuales) mostró un aumento de la inhibición del crecimiento del tumor en comparación con una cantidad equivalente de cisplatino libre. Los autores observan también que en experimentos *in vitro*, los liposomas degradables por sPLA2 cargados con cisplatino son más citotóxicos que el cisplatino libre posiblemente debido a un efecto aditivo perturbador de la membrana de los productos de hidrólisis, lisolípidos y ácidos grasos. Este efecto podría ser útil para facilitar la difusión transmembranal de cisplatino a los sitios diana intracelulares. No se describe si este efecto puede conducir o no a efectos secundarios adversos de los liposomas activados por sPLA2.

Andresen *et al.*, 2005b (Andresen TL JS, 2005) también dan a conocer datos de un experimento que muestra la inhibición del crecimiento tumoral en el modelo de ratón con xenoinjerto de mama MT-3.

Incluso a la vista de las referencias expuestas anteriormente, no está claro si los liposomas activados por sPLA2 se pueden utilizar o no terapéuticamente. Ellos pueden ser, por ejemplo. eliminados rápidamente por las células del sistema reticuloendotelial debido a su carga típicamente negativa. Ellos también pueden ser simplemente demasiado permeables para uso terapéutico. Otro parámetro muy impredecible es la toxicidad de los liposomas por sPLA2. Como se ha mencionado, los productos de la hidrólisis mediada por sPLA2, lisolípidos y ácidos grasos, pueden llevar a efectos secundarios no deseados, por ejemplo, a través de la permeabilización de las membranas celulares. Por otra parte, se puede producir la liberación del fármaco en sitios no deseados si la sPLA2 está presente a niveles elevados en otros sitios aparte de los tumores. Tal liberación de fármaco no deseada puede tener consecuencias perjudiciales y evitar el uso terapéutico de los liposomas activados por sPLA2. La liberación del fármaco en sitios no deseados puede ser causada por niveles elevados de sPLA2 no esperados en tales sitios.

El uso terapéutico de los liposomas de carga negativa podría incluir reacciones de hipersensibilidad no mediadas por IgE observadas en pacientes tratados con productos liposomales. Se cree que estas reacciones son un resultado de la producción de anafilatoxinas a través de la activación del complemento.

La administración repetida de formulaciones liposomales PEGiladas ha dado como resultado en algunos casos un aclaramiento sanguíneo acelerado (fenómeno ABC) que conduce a un rápido aclaramiento del torrente circulatorio y al correspondiente aumento de la acumulación en el hígado y en el bazo cuando se compara con la primera dosis. El fenómeno ABC puede provocar la liberación no deseada del compuesto encapsulado en órganos que tienen liposomas acumulados.

Tratamiento que utiliza cisplatino

Las formulaciones de cisplatino libre tienen algunos efectos secundarios graves. Los más importantes se enumeran a continuación:

Nefrotoxicidad - La principal toxicidad limitante de dosis de cisplatino es la insuficiencia renal relacionada con la dosis y acumulativa. Se ha utilizado la administración de cis-platino utilizando una perfusión de 6 a 8 horas con hidratación intravenosa para reducir la nefrotoxicidad. Sin embargo, todavía puede producirse toxicidad renal después de la utilización de estos procedimientos.

Ototoxicidad - Se ha observado ototoxicidad en hasta un 31 % de los pacientes tratados con una dosis única de cisplatino de 50 mg/m2, y se manifiesta por tinnitus y/o pérdida de la audición en el intervalo de alta frecuencia (4.000 a 8.000 Hz). Los efectos ototóxicos pueden estar relacionados con la concentración plasmática máxima de cisplatino.

Hematológicos - Se produce mielodepresión en el 25 % al 30 % de los pacientes tratados con cisplatino. La

leucopenia y la trombocitopenia son más pronunciadas a dosis más altas (> 50 mg/m2). Se produce anemia aproximadamente con la misma frecuencia que la leucopenia y la trombocitopenia.

Gastrointestinales - Se producen náuseas y vómitos acusados en casi todos los pacientes tratados con cisplatino, y en ocasiones son tan graves que el fármaco debe ser discontinuado. Las náuseas y los vómitos normalmente comienzan en un lapso de 1 a 4 horas después del tratamiento y duran hasta 24 horas.

Trastornos de los electrolitos séricos – Se han descrito hipomagnesemia, hipocalcemia, hiponatremia, hipopotasemia, e hipofosfatemia en pacientes tratados con cisplatino y probablemente están relacionadas con el daño tubular renal.

Neurotoxicidad – La neurotoxicidad se caracteriza generalmente por neuropatías periféricas. Las neuropatías por lo general se producen después de un tratamiento prolongado (de 4 a 7 meses); sin embargo, se han notificado síntomas neurológicos que se producen después de una sola dosis.

Hepatotoxicidad - Se han notificado elevaciones transitorias de las enzimas hepáticas, especialmente SGOT, así como de bilirrubina, que se asocian con la administración de cisplatino a las dosis recomendadas.

Por lo tanto, el tratamiento que utiliza cisplatino libre tiene varios efectos secundarios potenciales y existe la necesidad de formulaciones de cisplatino con un riesgo reducido de efectos secundarios.

Sumario de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona liposomas hidrolizables por las sPLA para uso médico. Los liposomas hidrolizables por sPLA2 preferiblemente comprenden un agente terapéutico tal como un agente antitumoral de moléculas pequeñas.

Otros aspectos de la presente invención se refieren a métodos para reducir los efectos secundarios de los agentes terapéuticos, por ejemplo, la reducción de la nefrotoxicidad, neurotoxicidad y toxicidad gastrointestinal de un agente terapéutico.

Otro aspecto más de la presente invención se refiere a métodos para prolongar el efecto terapéutico de un agente terapéutico.

Breve descripción de las figuras

Figura 1.

Eficacia de LiPlaCis para los xenoinjertos de MT-3 (carcinoma de mama humano). Se trataron ratones atímicos con tumores de crecimiento exponencial una vez por semana con 4 mg/kg de cisplatino o de LiPlaCis. El grupo control se trató con solución salina. Los grupos tratados con cisplatino y con solución salina recibieron tres inyecciones mientras que los ratones tratados con LiPlaCis solamente recibieron dos inyecciones debido a la toxicidad. Véase el ejemplo 2 para detalles.

Figura 2.

Se inyectaron ratas (BrlHan: WIST@Mol(GALAS)) (3 ratas/tratamiento) con 3 mg/kg de cisplatino o LiPlacis y se extrajo sangre a los tiempos indicados. Después de digestión ácida, se analizó la fracción de plasma en cuanto al contenido de platino utilizando ICP-MS. Véase el ejemplo 2 para detalles.

Figuras 3-7

Farmacocinética y biodistribución en ratones atímicos con xenoinjertos de MT-3. Se inyectaron ratones atímicos (3 ratones/punto de tiempo/tratamiento) que tienen tumores MT-3 de crecimiento exponencial, con una sola dosis de cisplatino o LiPlaCis (3 mg/kg). Después de la extracción de sangre, se sacrificaron los ratones en los puntos de tiempo indicados y se diseccionaron los tumores y los órganos, se lavaron y se congelaron rápidamente. Después de digestión ácida, se midió el contenido de platino por ICP-MS. Véase el ejemplo 4 para detalles.

Figuras 8-11

Concentración de cisplatino en sangre como función del tiempo después de la administración de LiPlaCis. Véase el ejemplo 6 para detalles.

Figuras 12-14

Concentración de cisplatino en sangre como una función de la cantidad administrada de LiPlaCis. Véase el ejemplo 6 para detalles.

Figura 15

Resumen de los datos de fase 1. Véase el ejemplo 6 para detalles.

Figura 16.

Datos detallados de la fase 1. WBC ~ glóbulos blancos, ANC ~ recuento absoluto de neutrófilos, PLT ~ plaquetas, Hgb ~ hemoglobina, Nau ~ náuseas, Vom ~ vómitos, Dia ~ diarrea. Véase el ejemplo 6 para detalles.

Descripción de la invención

Los presentes inventores han llevado a cabo estudios *in vivo* con liposomas hidrolizables por sPLA2 (denominados también en la presente memoria liposomas activados por sPLA2). Cuando se administraron los liposomas hidrolizables por sPLA2 cargados con cisplatino (denominados también en esta memoria LiPlaCis) a los modelos de ratones con tumor, se observó a menudo un aumento de la eficacia en comparación con la administración de cisplatino libre. Sin embargo, el aumento de la eficacia se relacionó también a menudo con un aumento de la toxicidad que conduce a la muerte de los ratones.

Sin embargo, los presentes inventores iniciaron un ensayo de escalada de dosis de fase 1 de cisplatino encapsulado en liposomas hidrolizables por sPLA2 en pacientes con tumores avanzados o refractarios. El criterio principal de valoración del estudio fue la seguridad y la tolerabilidad del cisplatino encapsulado en liposomas hidrolizables por sPLA2 (denominados también LiPlaCis).

Las principales conclusiones del estudio fueron:

- El LiPlaCis tiene un perfil toxicológico tolerable a dosis clínicamente relevantes.
- El LiPlaCis permite la administración de al menos la misma dosis de cisplatino que la administración de cisplatino libre, lo que es sorprendente a la vista de los datos no clínicos.
- El LiPlaCis redujo la nefrotoxicidad en comparación con la administración de cisplatino libre, que es típicamente limitante de dosis para el cisplatino.
- El LiPlaCis redujo las náuseas y los vómitos en comparación con la administración de cisplatino libre
- Se determinó que la MTD (dosis máxima tolerada) de LiPlaCis administrado cada 3 semanas estaba por encima de 80 mg por ciclo de tratamiento, lo que es sorprendente a la vista de la MTD prevista a partir de experimentos con animales.
- Se determinó que la RD (dosis recomendada) de LiPlaCis administrado cada 3 semanas era de 80 mg por ciclo de tratamiento o más alta.
- El LiPlaCis se puede administrar sin hidratación, que sí se requiere para la administración de cisplatino libre. El LiPlaCis se puede administrar de forma ambulatoria.

En particular, el LiPlaCis tenía un buen perfil de seguridad y tolerabilidad en comparación con las formulaciones de cisplatino libre en términos de náuseas, diarrea, vómitos, anemia, neuropatía, nefrotoxicidad y ototoxicidad.

Por lo tanto, la presente invención ha hecho uso médico de los liposomas hidrolizables por sPLA2 disponibles y, en su aspecto más amplio proporciona un liposoma hidrolizable por sPLA2 para uso en terapia, preferiblemente en el tratamiento de seres humanos.

Liposomas hidrolizables por sPLA2

Los liposomas hidrolizables por sPLA2 para uso en terapia según la presente invención se definen con más detalle en las siguientes realizaciones. En su realización más amplia, el término liposomas hidrolizables por sPLA2 se refiere a los liposomas que son hidrolizables en condiciones fisiológicas, en particular en el tejido canceroso.

Preferiblemente, los liposomas hidrolizables por sPLA2 comprenden entre 20 % y 45 % (mol/mol) de un lípido aniónico. El contenido de lípido aniónico afecta a características importantes del liposoma, tales como la velocidad de hidrólisis lipídica del liposoma mediada por sPLA2 y también la respuesta inmunitaria hacia el liposoma.

A medida que el contenido de lípido aniónico aumenta, también lo hace la velocidad de hidrólisis lipídica por la $sPLA_2$ (y la liberación del fármaco). Se ha demostrado que se puede alcanzar una velocidad razonable de hidrólisis mediante un contenido de lípido aniónico entre 20 % y 45 %. Por lo tanto, en una realización, el contenido de lípido aniónico es al menos 20 %. En otra realización, el contenido de lípido aniónico es no más del 45 %. En otra realización más, el contenido de lípido aniónico del liposoma se selecciona del grupo que consiste entre 20 % y 45 %, entre 25 % y 45 %, entre 28 % y 42 %, entre 30 % y 40 %, entre 32 % y 38 % y entre 34 % y 36 %.

Como se ha mencionado, también la respuesta inmunitaria frente a los liposomas se ve afectada por el contenido de lípido aniónico. Por lo tanto, la velocidad de aclaramiento del liposoma en el cuerpo se puede reducir manteniendo el contenido de lípido aniónico en el liposoma por debajo de un cierto nivel y los presentes inventores han reconocido que el contenido de lípido aniónico en el liposoma se puede utilizar para llegar a un equilibrio entre la velocidad de hidrólisis por $sPLA_2$ y el aclaramiento por el sistema reticuloendotelial.

Preferiblemente, el lípido aniónico es un fosfolípido y preferiblemente, el fosfolípido se selecciona del grupo que consiste en PI (fosfatidilinositol), PS (fosfatidilserina), DPG (bifosfaditilglicerol), PA (ácido fosfatídico), PEOH (alcohol fosfatidílico) y PG (fosfatidilglicerol). Más preferiblemente, el fosfolípido aniónico es PG. Preferiblemente, los lípidos comprenden cadenas de estearoilo. Por lo tanto, preferiblemente PG es DSPG etc.

Polímeros hidrófilos

En una realización preferida, los liposomas hidrolizables por sPLA2 para uso en la presente invención comprenden además un polímero hidrófilo seleccionado del grupo que consiste en PEG [poli(etilenglicol)], PAcM [poli(N-acriloilmorfolina)], PVP [poli(vinilpirrolidona)], PLA [poli(lactida)], PG [poli(glicolida)], POZO [poli(2-metil-2-oxazolina)], PVA [poli(alcohol vinílico)], HPMC (hidroxipropilmetilcelulosa), PEO [poli(óxido de etileno)], quitosano [poli(D-glucosamina)], PAA [poli(aminoácido)], poliHEMA [poli(2-hidroxietilmetacrilato)] y co-polímeros de los mismos.

Más preferiblemente, el polímero es PEG con un peso molecular entre 100 Da y 10 kDa. Son particularmente preferidos los tamaños de PEG de 2-5 kDa (PEG2000 a PEG5000), y el más preferido es PEG2000.

La inclusión de polímeros en los liposomas es bien conocida por los expertos en la técnica y se puede utilizar para aumentar la semivida de los liposomas en el torrente circulatorio, presumiblemente mediante la reducción del aclaramiento por el sistema reticuloendotelial. Además, la inclusión de polímeros afecta a la hidrólisis por sPLA2.

Preferiblemente, el polímero se conjuga con el grupo de cabeza de fosfatidiletanolamina. Otra opción es la conjugación con ceramida (a pesar de que este lípido no es hidrolizable por la $sPLA_2$). Cuando el polímero se conjuga con la fosfatidiletanolamina, se introduce una carga negativa y por lo tanto el DSPE-PEG se considera como un lípido aniónico (al contrario de DSPE que se considera como un lípido neutro). El lípido conjugado con polímero está presente preferiblemente en una cantidad de al menos 2 %. Más preferiblemente, la cantidad es de al menos 5 % y no más de 15 % (mol/mol). Aún más preferiblemente, la cantidad de lípido conjugado con polímero es de al menos 3 % y no más de 6 %. Los liposomas que contienen fosfolípidos aniónicos y ≤ 2,5 % de DSPE- PEG2000 han aumentado la tendencia a agregarse en presencia de calcio. Esto se puede observar normalmente por la formación de un gel altamente viscoso. Los liposomas que contienen fosfolípidos aniónicos y > 7,5 % de DSPE-PEG2000 hacen que los liposomas sedimenten o se separen las fases.

Componentes lipídicos con carga neutra en el liposoma

Preferiblemente, el liposoma a utilizar en la presente invención comprende también un fosfolípido no cargado seleccionado del grupo que consiste en fosfolípidos zwitteriónicos que comprenden PC (fosfatidilcolina) y PE (fosfatidiletanolamina). Lo más preferiblemente, el fosfolípido zwitteriónico es PC.

En contraste con el fosfolípido aniónico, el fosfolípido zwitteriónico sirve como un componente lipídico de carga neutra hidrolizable por $sPLA_2$ en el liposoma. Mediante la combinación de fosfolípidos zwitteriónicos y aniónicos en el mismo liposoma, es posible ajustar a una densidad de carga superficial deseada que cumpla tanto con una hidrólisis por $sPLA_2$ suficientemente alta como con una baja velocidad de depuración en sangre.

La cantidad de fosfolípido zwiteriónico en el liposoma está preferiblemente entre 40 % y 75 % y más preferiblemente entre 50 y 70 %.

Preferiblemente, los lípidos (lípidos aniónicos, lípidos neutros y lípidos conjugados con polímeros) comprenden cadenas de estearoilo. Por lo tanto, preferiblemente PG es DSPG, PE es preferiblemente DSPE etc.

Éteres fosfolípidos

Algunos o todos los fosfolípidos pueden ser éteres fosfolípidos.

Por lo tanto, ellos pueden contener un enlace éter en lugar de un enlace éster en la posición *sn*-1 del soporte de glicerol del fosfolípido. Cuando las $sPLA_2$ hidrolizan este tipo particular de fosfolípidos, se producen mono-éteres liso-fosfolípidos y éstos son tóxicos, por ejemplo, para las células cancerosas. Es decir, los éteres fosfolípidos se pueden considerar como profármacos de los mono-éteres liso-fosfolípidos y los liposomas de la invención se pueden usar para administrar tales profármacos al entorno de las células cancerosas aumentado por $sPLA_2$, donde los profármacos son activados mediante hidrólisis por $sPLA_2$. Los éteres fosfolípidos han sido descritos en los documentos EP 1254143 y WO 2006/048017, cuyos contenidos se incorporan a la presente memoria como referencia.

En una realización, los liposomas activados por sPLA2 tal como se utilizan en la presente invención no comprenden éteres fosfolípidos.

Otros profármacos

El resto liberado del lípido por $sPLA_2$ para crear un lisolípido puede ser también un fármaco. Por lo tanto, un liposoma puede comprender profármacos de mono-éteres lisolípidos, profármacos liberados del lípido por $sPLA_2$ y otros agentes terapéuticos, como se indica adicionalmente más adelante.

En una realización, los liposomas activados por sPLA2 como se utilizan en la presente invención no comprenden profármacos liberados del lípido por sPLA2.

Agente estabilizante

El liposoma se puede estabilizar por la inclusión de colesterol como componente de la membrana en el liposoma. Sin embargo, altas cantidades de colesterol en el liposoma tienen un efecto negativo sobre la hidrólisis por la PLA_2 y por lo tanto es preferible que el liposoma comprenda no más del 10 % de colesterol. Aún más preferiblemente, el liposoma comprende menos de 1 % de colesterol, menos del 0,1 % o no comprende nada de colesterol en absoluto.

La longitud de la cadena alquílica de los lípidos que comprende el liposoma puede ser ajustada para una velocidad óptima de hidrólisis por PLA_2 y un escape mínimo del compuesto incluido fuera del liposoma. Preferiblemente, las cadenas de alquilo son cadenas saturadas de C18 o C16.

Los liposomas a utilizar se pueden estabilizar por exposición a cationes divalentes.

Como se ha descrito anteriormente, los liposomas pueden comprender profármacos de mono-éteres lisolípidos y/o del resto liberado del lípido por $sPLA_2$ para crear el lisolípido.

En una realización preferida, los liposomas comprenden un compuesto bioactivo tal como un agente terapéutico (fármaco), que no es un profármaco de mono-éter lisofosfolípido ni un mono-éter lisofosfolípido. El liposoma puede comprender también profármacos de mono-éter lisofosfolípido y un agente terapéutico. Los compuestos bioactivos preferidos son moléculas pequeñas, péptidos, proteínas y ácidos nucleicos tales como plásmidos y oligonucleótidos. Una clase preferida de proteínas son los anticuerpos, más preferiblemente los anticuerpos monoclonales. Los oligonucleótidos preferidos son aptámeros, oligonucleótidos antisentido, microRNAs y siRNAs. Una clase de compuestos de particular interés son los agentes antitumorales de moléculas pequeñas, tales como los derivados de antraciclina, cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, doxorubicina, paclitaxel, 5-fluorouracilo, exisulind, ácido cis-retinoico, sulfuro de suldinac, metotrexato, bleomicina y vincristina. Una subclase preferida de agentes antitumorales son los agentes antitumorales a base de platino; cisplatino, oxaliplatino, picoplatino y carboplatino. Otra clase de compuestos de particular interés son los antibióticos y antifúngicos y otra clase más son los agentes antiinflamatorios tales como los esteroideos y no esteroideos.

El agente terapéutico puede estar situado en el compartimento interior acuoso; en la bicapa hidrófoba; o en la interfase polar de la laminilla interna y externa. Preferiblemente, el agente terapéutico está encapsulado en el liposoma, es decir, está presente en el compartimento interior acuoso.

En otra realización, el liposoma comprende un agente de diagnóstico. Por "agente de diagnóstico" se entiende un agente que ayuda a la localización del tejido diana y/o al diagnóstico de la enfermedad y/o afección. Los ejemplos no limitantes pueden ser agentes de contraste, micropartículas, agentes radiactivos, agentes específicos de una diana tales como, por ejemplo, los agentes que se unen específicamente a los marcadores asociados con la enfermedad y/o afección, etc. Es claro para un experto que en algunas realizaciones la invención se refiere a una formulación de liposomas en la que el liposoma comprende al menos un fármaco, así como un agente de diagnóstico.

Características físico-químicas de los liposomas de la invención

El liposoma puede ser unilamelar o multilamelar. Muy preferiblemente, el liposoma es unilamelar. El diámetro del liposoma debe estar entre 50 y 400 nm, preferiblemente entre 80 y 160 nm y lo más preferible entre 90 y 120 nm.

Preferiblemente, el índice de polidispersión (PDI) de la formulación liposomal del segundo aspecto de la invención no debe exceder de 0,2 y más preferiblemente es 0,10 o menos. Un valor de PDI en este intervalo expresa una distribución de tamaño de partícula relativamente reducida en la formulación.

Como quedará claro a partir de lo anterior, se prefiere que al menos uno de los lípidos que comprende el liposoma sea un sustrato para la $sPLA_2$ cuando está presente en el liposoma.

En una realización, el liposoma comprende lípidos que son hidrolizados por $sPLA_2$ en la posición *sn*-3 en lugar de en la posición *sn*-2. Tales lípidos no naturales y liposomas que comprenden lípidos no naturales han sido descritos en el documento WO 2006/048017, cuyo contenido se incorpora a la presente memoria como referencia.

En una realización más preferida, los liposomas a utilizar en la presente invención comprenden 70 % de DSPC, 25 % de DSPG y 5 % de DSPE-PEG.

Cuando el agente terapéutico es cisplatino, el interior de los liposomas comprende preferiblemente NaCl al 0,9 % y

la solución tampón exterior comprende tampón de fosfato 10 mM a pH 6,5, NaCl 1 mM y sacarosa al 10 %.

Uso médico

En una realización preferida, el liposoma hidrolizable por sPLA2 se administra por inyección (administración parenteral), por ejemplo, por las vías subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, e intratecal. Una vía preferida es la administración intravenosa en forma de inyección en bolo o en perfusión.

Como se ha descrito anteriormente, el liposoma puede comprender diversos agentes terapéuticos. Sin embargo, los agentes preferidos son agentes antitumorales de moléculas pequeñas (denominados también en esta memoria agentes antineoplásicos, fármacos citotóxicos o fármacos citostáticos). El cisplatino es uno de estos compuestos y la demostración de que el cisplatino encapsulado en un liposoma hidrolizable por sPLA2 puede ser utilizado terapéuticamente, argumenta que otros agentes antineoplásicos encapsulados en liposomas hidrolizables por sPLA2 también se pueden usar terapéuticamente, es decir, que no serán liberados de los liposomas hidrolizables por sPLA2 en sitios no deseados a una concentración que sería perjudicial para el uso terapéutico de los liposomas hidrolizables por sPLA2 que encapsulan agentes antineoplásicos.

En una realización preferida, la administración de liposomas hidrolizables por sPLA2 que comprenden un agente terapéutico permite la administración de una dosis reducida del agente terapéutico en comparación con la administración del agente terapéutico libre. Esto es posible por varias razones. En primer lugar, la encapsulación en liposomas del agente terapéutico prolonga la semivida del agente. En segundo lugar, el efecto de direccionamiento de la hidrólisis por sPLA2 conduce a un aumento de la concentración del agente terapéutico libre en los sitios con aumento de los niveles de sPLA2, por ejemplo, en los tumores.

En otra realización preferida, la administración de liposomas hidrolizables por sPLA2 que comprenden un agente terapéutico permite la administración de una dosis aumentada del agente terapéutico en comparación con la administración del agente terapéutico libre. Esto es posible debido al efecto de direccionamiento de los liposomas hidrolizables por sPLA2 y se puede ver por ejemplo por la reducción de la nefrotoxicidad del cisplatino encapsulado en liposomas hidrolizables por sPLA2 en comparación con el cisplatino libre.

Los LiPlaCis han sido estudiados en varios estudios de toxicología no clínica en ratas y ratones. El propósito general de estos estudios fue determinar la dosis máxima tolerada (MTD) tanto en dosis única como en dosis múltiples en las dos especies. Estos estudios se llevaron a cabo de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP). En estos estudios se encontró que las dos especies eran igualmente sensibles a LiPlaCis y aplicando las normas de la FDA (Reference: Guidance for Industry. Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. FDA, July 2005), se prevé que la dosis máxima tolerada equivalente en el ser humano será de 30 mg por ciclo de tratamiento. Por lo tanto, una MTD humana de 80 mg o más por ciclo de tratamiento es sorprendente.

Las dosis preferidas de cisplatino encapsulado están entre 80 mg y 120 mg por ciclo de tratamiento con un intervalo de 3 semanas, entre 120 y 160 mg por ciclo de tratamiento con un intervalo de 3 semanas, entre 160 mg y 200 mg por ciclo de tratamiento con un intervalo de 3 semanas, entre 200 mg y 240 mg por ciclo de tratamiento con un intervalo de 3 semanas y entre 240 mg y 300 mg por ciclo de tratamiento con un intervalo de 3 semanas.

El tiempo entre las administraciones del agente terapéutico también se puede ajustar en línea con la discusión de la reducción/aumento de dosis del agente terapéutico. Por lo tanto, en una realización, el tiempo entre las administraciones del agente terapéutico se prolonga en comparación con el tiempo entre las administraciones del agente terapéutico libre. En otra realización, el tiempo entre las administraciones del agente terapéutico se reduce en comparación con el tiempo entre las administraciones del agente terapéutico libre. Cuando el agente terapéutico es cisplatino, el tiempo entre administraciones puede ser, por ejemplo, más de 3 semanas o menos de 3 semanas.

Preferiblemente, la enfermedad a tratar según la invención es el cáncer o la inflamación, preferiblemente el cáncer.

Método de tratamiento

Un segundo aspecto de la presente invención es un método de tratamiento que comprende administrar una cantidad eficaz de un liposoma hidrolizable por sPLA2 como se describe en el primer aspecto de la invención a un paciente que lo necesite. Las realizaciones específicas de este aspecto serán evidentes a partir del primer aspecto de la invención.

Método de reducción de la nefrotoxicidad

Un tercer aspecto de la invención es un método para reducir la nefrotoxicidad de un agente terapéutico, comprendiendo dicho método la encapsulación del agente terapéutico en un liposoma hidrolizable por sPLA2. Preferiblemente, el agente terapéutico es un agente antineoplásico tal como cisplatino y preferiblemente, el agente terapéutico se administra a un paciente que lo necesita. Otras realizaciones serán evidentes a partir del primer aspecto de la invención.

Método de reducción de la neurotoxicidad

Un cuarto aspecto de la invención es un método para reducir la neurotoxicidad de un agente terapéutico, comprendiendo dicho método la encapsulación del agente terapéutico en un liposoma hidrolizable por sPLA2. Preferiblemente, el agente terapéutico es un agente antineoplásico tal como cisplatino y preferiblemente, el agente terapéutico se administra a un paciente que lo necesita. Otras realizaciones serán evidentes a partir del primer aspecto de la invención.

Método de reducción de la toxicidad gastrointestinal

Un quinto aspecto de la invención es un método para reducir la toxicidad gastrointestinal de un agente terapéutico, comprendiendo dicho método la encapsulación del agente terapéutico en un liposoma hidrolizable por sPLA2. Preferiblemente, el agente terapéutico es un agente antineoplásico tal como cisplatino y preferiblemente, el agente terapéutico se administra a un paciente que lo necesita. Otras realizaciones serán evidentes a partir del primer aspecto de la invención

Método de prolongación del efecto terapéutico

Un sexto aspecto de la invención es un método para prolongar el efecto terapéutico de un agente terapéutico, comprendiendo dicho método la encapsulación del agente terapéutico en un liposoma hidrolizable por sPLA2. Preferiblemente, el agente terapéutico es un agente antineoplásico tal como cisplatino y preferiblemente, el agente terapéutico se administra a un paciente que lo necesita. Otras realizaciones serán evidentes a partir del primer aspecto de la invención.

Referencias

Andresen TL, J. S. (2005). Advanced strategies in liposomal cancer therapy: problems and prospects of active and tumor specific drug release. Prog Lipid Res., Jan;44(l): 68-97. Epub 2005 Jan 22.

Andresen TL, J. S. (2005). Triggered activation and release of liposomal prodrugs and drugs in cancer tissue by secretory phospholipase A2. Curr Drug Deliv, Oct;2(4): 353-62.

Ejemplos

Ejemplo 1, Preparación de liposomas de sPLA2 (LiPlaCis)

Se prepara un intermedio lipídico mediante secado por pulverización de la siguiente mezcla de fosfolípidos (DSPC/DSPG/DSPE-PEG2000 70/25/5 % en moles). Los lípidos se disuelven en metanol y cloroformo. El intermedio lipídico se hidrata en una solución acuosa del fármaco anti-cáncer con agitación. En esta etapa se forman los liposomas, pero tienen una amplia distribución de tamaño y son una mezcla de liposomas de una sola capa y de múltiples capas. Con el fin de obtener un producto con un estrecho margen de distribución de tamaño y liposomas mono-capa, se extruye la mezcla de hidratación haciéndola pasar a través de filtros de policarbonato de tamaño de poro apropiado. Para eliminar el fármaco anti-cáncer no encapsulado se purifica la mezcla. Están disponibles varias técnicas, por ejemplo, diálisis, filtración en gel y ultra-filtración. Para las preparaciones que van desde unos pocos litros y hasta por encima de la ultra-filtración es el método preferido. Las preparaciones destinadas a la administración parenteral deben ser esterilizadas, por ejemplo, por filtración estéril.

Ejemplo 2, Eficacia en ratones

Métodos

Se inocularon ratones hembra atímicos NMRI (6-8 semanas) por vía subcutánea en el flanco izquierdo con 1 x 10^7 células de la línea celular MT-3 de carcinoma de mama humano. Sólo se seleccionaron para el estudio los ratones que tenían tumores en crecimiento exponencial. El tratamiento se inició cuando los tumores habían alcanzado un tamaño de 70-80 mm3. Los animales recibieron una dosis (4 mg/kg de cisplatino (Platinol), LiPlaCis o solución salina) semanalmente con inyecciones intra-venosas en la vena caudal a partir del día 13 después del trasplante del tumor. El crecimiento del tumor se evaluó tres veces por semana midiendo dos diámetros perpendiculares y el crecimiento del tumor se normalizó para diferentes tamaños de partida mediante el cálculo de volumen tumoral relativo. El peso corporal se tomó tres veces a la semana. Se tomaron muestras de sangre cuatro días después de la primera inyección para estimar los glóbulos blancos y los trombocitos mediante un contador Coulter.

Resultados:

El LiPlaCis se comparó con cisplatino y con solución salina en un estudio de eficacia utilizando xenoinjertos de mama MT-3 en ratones atímicos. Se administraron cisplatino y LiPlaCis a una dosis de 4 mg/kg semanalmente. Debido a la toxicidad, sólo se administraron dos inyecciones de LiPlaCis en comparación con tres de cisplatino y de solución salina. El LiPlaCis inhibió el crecimiento tumoral significativamente mejor que el cisplatino libre (Figura 1). El efecto fue evidente una semana después de la primera dosis y duró hasta que se terminó el experimento a causa de los grandes tumores en el grupo de control. Un ratón murió en el grupo tratado con LiPlaCis.

Tabla 1. Parámetros experimentales y toxicidad:

			Tratamiento	Dosis	Toxicidad	BWC (%)	T/C óptimo	WBC d17	Tromb. d17
Grupo	Ratones	Sustancia	(días)	mg/kg/inyec.	muertes (d)	d 13-24	(%) [día]	10^6/ml	10^6/ml
A	10	Sol. salina	13, 20, 27		0	-2		9,7±1,2	1185±89
B	10	Cisplatino	13, 20, 27	4	0	-6	71 [31]	10,6±1,5	1201±117
C	10	LiPlaCis	13, 20	4	1 (26)	-14	31 [26]*+	11,2±2,7	1058±183

BWC: Peso corporal, diferencia en porcentaje en comparación con el peso antes del tratamiento.

T/C óptimo: número de tumores tratados dividido por tumores de control.

WBC: Glóbulos blancos

Tromb: trombocitos

El LiPlaCis parece que lleva a una mayor biodisponibilidad del cisplatino e induce una eficacia antitumoral más potente, pero tiene efectos secundarios más intensos que el cisplatino libre incluyendo la pérdida de peso corporal y la trombopenia.

Ejemplo 3, Farmacocinética en ratas

Métodos:

Se inyectaron ratas (BrlHan: WIST@ Mol (GALAS)) con 3 mg/kg de cisplatino o de LiPlaCis y se recogió sangre en tubos heparinizados (Microvette CB 300 Sarsted). Se tomaron muestras desde los 10 minutos hasta las 72 h. Se tomó un volumen de sangre de 250 µl de cada punto de muestreo y se colocó inmediatamente en un baño de hielo y se centrifugó (3000 x g; 5 min) para obtener la fracción de plasma. Los tubos que contienen plasma se congelaron hasta su envío y posterior digestión en HCl/HNO3/H2O2 (60/5/35 % en volumen) antes del análisis de platino utilizando ICP-MS.

Resultados y conclusión:

El experimento reveló que el LiPlaCis es una forma liposomal de cisplatino de circulación prolongada con una Tl/2 de aproximadamente 20-23 h en comparación con los 15 minutos del cisplatino libre. El área bajo la curva (AUC) para LiPlaCis era al menos 50 veces mayor que la del cisplatino. Véase la figura 2.

Ejemplo 4, PK/BD en ratones atímicos.

Métodos:

Se inocularon ratones hembras BALB/c atímicos (6-8 semanas) por vía subcutánea en el flanco izquierdo y derecho con 1 x 10^7 células de la línea celular MT-3 de carcinoma de mama humano. Sólo se seleccionaron para el estudio los ratones que tenían tumores en crecimiento exponencial. La dosis única se administró cuando los tumores habían alcanzado un tamaño de al menos 300 mm3. Los animales recibieron 3 mg/kg de cisplatino (Platinol) o de LiPlaCis) mediante inyección en la vena caudal. Los puntos de tiempo fueron 1, 24, 48, 72 y 168 h. Se tomaron muestras de sangre (500 µl) inmediatamente antes del sacrificio y se transfirieron a tubos heparinizados (Microvette CB 300 Sarsted), se centrifugaron y se congelaron. Post mortem, los tumores, órganos y tejidos (riñones, hígado, músculo cuádriceps de la extremidad posterior y bazo) se diseccionaron, se lavaron en solución salina y se congelaron rápidamente. Para determinar las concentraciones de platino en plasma y en tumores/tejidos, se digirieron las muestras en HCl/HNO3/H2O2 (60/5/35 % en volumen) y se sometieron a ICP-MS.

Resultados:

El análisis de platino en plasma demostró que LiPlaCis estaba presente en concentraciones elevadas en el suero y el efecto duró durante al menos una semana. Los niveles de LiPlaCis en suero fueron en cualquier punto de tiempo más de un orden de magnitud más altos que los de cisplatino libre. El LiPlaCis también se acumuló en los tumores, con un máximo de aproximadamente 4 µg/mg de masa tumoral en comparación con aproximadamente 1 µg/mg de masa tumoral para el cisplatino libre. No hubo diferencias significativas en la acumulación de platino en el hígado. Hubo una moderada acumulación de LiPlaCis en los riñones, mientras que los niveles más altos de platino se pudieron medir en el bazo de los animales tratados con LiPlaCis. Véase las figuras 3-7.

Conclusión PK/BD:

El LiPlaCis es una forma liposomal de cisplatino de larga circulación. El LiPlaCis se acumula en los tumores y también en los riñones y en el bazo. El cisplatino puede ser liberado de LiPlaCis en el microentorno tumoral

Ejemplo 5, Nefrotoxicidad

En los seres humanos que reciben cisplatino terapéuticamente, un efecto secundario importante y la toxicidad limitante de dosis de cisplatino es la nefrotoxicidad. En este estudio la nefrotoxicidad del cisplatino se comparó con la de LiPlaCis en la rata.

Métodos

Se administró a grupos de cinco machos y cinco hembras de ratas Wistar, de 6-7 semanas de edad y con un peso corporal de 145-175 g, una inyección intravenosa de 3 mg/kg de cisplatino o 3 mg/kg de LiPlaCis.

Dos días después de la inyección, se sacrificaron dos machos y dos hembras de cada grupo, 7 días después de la inyección, se sacrificaron un macho y una hembra de cada grupo, y 14 días después de la inyección se sacrificaron los dos machos y las dos hembras de cada grupo restantes. Los animales fueron sometidos a patología macroscópica y se registraron los pesos absolutos y relativos de los riñones. Se realizó la histopatología en los riñones, la vejiga urinaria y el bazo de todos los animales.

Resultados y conclusión

En la necropsia, los pesos de los riñones fueron generalmente más altos después del tratamiento con LiPlaCis, y el examen histopatológico demostró que el tratamiento con LiPlaCis redujo claramente la gravedad de los cambios degenerativos renales en la forma de basofilia/detritus tubular multifocal y vacuolización tubular difusa y dilatación. El tratamiento con LiPlaCis presumiblemente causó también una menor incidencia de disminución de la densidad celular de la pulpa blanca/vaina periarterial en comparación con el cisplatino. En conclusión, el LiPlaCis reduce claramente la nefrotoxicidad del cisplatino en las ratas.

Ejemplo 6, Estudio de fase I de escalada de dosis para evaluar la seguridad y tolerabilidad de LiPlaCis (formulación liposomal de cisplatino) en pacientes con tumores avanzados o refractarios

Sinopsis del estudio

Objetivo primario:

1. Evaluar la seguridad y tolerabilidad de LiPlaCis administrado cada 3 semanas

2. Determinar la dosis máxima tolerada (MTD) y la dosis recomendada (RD) de LiPlaCis administrado cada 3 semanas

Objetivos secundarios:

3. Evaluar la farmacocinética (PK) de LiPlaCis administrado cada 3 semanas

4. Evaluar la eficacia terapéutica de LiPlaCis administrado cada 3 semanas

Diseño del estudio:

Estudio de escalada de dosis abierto, no aleatorio

Población de estudio:

Sujetos con un tumor sólido no susceptibles de tratamiento estándar

Número de pacientes:

El número exacto de pacientes no se puede definir, ya que depende de la toxicidad observada. Cohortes de 3 a 6 pacientes serán tratados en cada nivel de dosis hasta que se alcance la MTD. Se prevé que podrían ser necesarios 30 pacientes para evaluar la MTD.

Elegibilidad

Criterios de inclusión:

1. Tumor sólido con histología o citología documentada, localmente avanzado o metastásico, refractario a la terapia estándar o para el cual no existe ninguna terapia curativa.

2. Tener ≥ 18 años de edad.

3. Tener una esperanza de vida ≥ 3 meses.

4. Tener un estado funcional ECOG de 0 - 2.

5. Haberse recuperado hasta el grado 1 o menos de toxicidades agudas de tratamiento previo:

6. Deben haber transcurrido ≥ 6 meses desde que el paciente recibió cisplatino.

7. Deben haber transcurrido ≥ 4 semanas desde que el paciente recibió algún medicamento en investigación.

8. Deben haber transcurrido ≥ 4 semanas desde que el paciente recibió cualquier radioterapia, o tratamiento con agentes citotóxicos o biológicos (≥ 6 semanas para la mitomicina o nitrosoureas). No se permite ningún tratamiento hormonal excepto el tratamiento con corticosteroides en dosis fisiológicas y el tratamiento hormonal con agonistas de la LHRH para el cáncer de próstata.

9. Deben haber transcurrido ≥ 2 semanas desde cualquier cirugía previa, transfusiones de sangre o terapia con GM-CSF. Sin embargo, se permitirá el uso actual de eritropoyetina.

10. Estar en condiciones adecuadas como se evidencia por los siguientes valores de análisis clínico:

    a. Recuento absoluto de neutrófilos (ANC) ≥ 1,5 x 109/L

    b. La hemoglobina es al menos 9 g/dl (5,6 mmol/L)

    c. Plaquetas ≥ 100 x 109/L

    d. Alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) ≤ 2,5 x ULN; en caso de metástasis hepática conocida ALT y AST ≤ 5 x ULN

    e. Bilirrubina sérica ≤ 1,5 ULN

    f. Fosfatasa alcalina ≤ 2,5 x ULN

    g. Creatinina y urea en sangre dentro de límites normales, a menos que el aclaramiento de creatinina esté dentro de límites normales (≥ 60 ml/min calculado según la fórmula de Cockcroft-Gault) (véase el apéndice 1)

11. Los pacientes (hombres y mujeres) deben estar dispuestos a practicar un método anticonceptivo eficaz durante el estudio.

12. El paciente o representante legal deben entender la naturaleza investigacional de este estudio y firmar un formulario de consentimiento informado por escrito aprobado por un comité de ética independiente (IEC) antes del tratamiento.

Los criterios de exclusión son los siguientes:

1. Hemorragia activa incontrolada o diátesis hemorrágica (por ejemplo, enfermedad de úlcera péptica activa).

2. Cualquier infección activa que requiera tratamiento con antibiótico parenteral u oral.

3. Infección conocida por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o el virus de la hepatitis.

4. Enfermedad cardíaca activa, incluyendo infarto de miocardio o insuficiencia cardíaca congestiva en los 6 meses anteriores, enfermedad sintomática de las arterias coronarias, o arritmias sintomáticas que requieran actualmente medicación.

5. Conocimiento o sospecha de metástasis activa del sistema nervioso central (SNC). (Los pacientes estables 8 semanas después de la finalización del tratamiento de la metástasis del SNC son elegibles).

6. Enfermedad autoinmune.

7. Compresión inminente o sintomática de la médula espinal o meningitis carcinomatosa.

8. Tener neuropatía preexistente, es decir, toxicidad neuromotora o neurosensorial de grado > 1 (como se define por National Cancer Institute Common Toxicity Criteria for Adverse Events (NCI CTCAE) v3.0), a excepción de las anomalías debidas al cáncer.

9. Tener hipersensibilidad conocida al cisplatino o los liposomas.

10. Necesitar tratamiento paliativo inmediato de cualquier tipo, incluyendo cirugía y/o radioterapia.

11. Las pacientes mujeres que están embarazadas o dando el pecho (prueba de embarazo con resultado positivo antes de entrar en el estudio).

12. No estar dispuesto o ser incapaz de seguir los requisitos del protocolo.

Procedimientos del estudio:

Sucesos adversos (AEs): Desde la firma del consentimiento informado del estudio hasta 30 días después de recibir la última dosis del fármaco del estudio. Los sucesos adversos relacionados, incluidos los AE graves, se siguen hasta que vuelven a la línea base o a un grado ≤ grado 1.

Examen físico, signos vitales, estado funcional, análisis químico de la sangre, análisis de orina: en la línea base y semanalmente en cada ciclo.

Hematología: línea base, dos veces por semana en el ciclo 1 y semanalmente en los otros ciclos.

Muestreo para estudio farmacocinético (PK): se deben obtener muestras de sangre y de orina para la evaluación farmacocinética. Por favor, véase la sección 6.4 Procedimientos de farmacología clínica.

Evaluaciones del tumor: línea base y cada 3 ciclos.

Evaluaciones del estudio:

Seguridad, determinada por exámenes físicos, toxicidad de laboratorio, y la incidencia y gravedad de los sucesos adversos.

Evaluaciones de seguridad: NCI Common Technology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 3.0, evaluaciones de laboratorio (bioquímica, hematología), signos vitales, examen físico, incluyendo el examen neurológico, el estado funcional ECOG y el peso corporal.

La dosis máxima tolerada de LiPlaCis determinada por las toxicidades limitantes de la dosis (DLTs) y la dosis recomendada.

La tasa de respuesta clínica será determinada por criterios radiográficos utilizando RECIST.

Evaluaciones de eficacia (si procede): respuesta global del tumor según los criterios RECIST (CR, PR, SD o PD).

Justificación del estudio

Justificación para la selección de la dosis y el programa:

La dosis de inicio para humanos se determina utilizando la estrategia sugerida por la FDA (Referencia: Guidance for Industry. Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. FDA, July 2005). La dosis máxima tolerada en la rata es de 3 mg/kg y el factor de conversión entre la rata y el ser humano es 6,3 según la directriz de la FDA. Esto da una dosis equivalente humana (HED) de 0,5 mg/kg.

La dosis máxima tolerada en el ratón es de 6 mg/kg y el factor de conversión entre el ratón y el ser humano es 12,3 según la directriz de la FDA. Esto da una dosis equivalente humana (HED) de 0,5 mg/kg.

Por lo tanto, cuando las dosis máximas toleradas de rata y ratón se convierten en dosis equivalentes humanas es evidente que estas dos especies tienen la misma sensibilidad cuando se exponen a LiPlaCis.

El peso de referencia del cuerpo humano es según la directriz 60 kg que corresponden a una dosis de 30 mg por paciente (0,5 mg/kg * 60 kg = 30 mg). Se aplica un factor de seguridad de 3 lo que da como resultado una dosis inicial de 10 mg por paciente. Esta dosis representa 1/10 de la dosis más baja recomendada de productos de cisplatino simple (50 a 100 mg/m2 cuando se administra como una dosis única cada 3-4 semanas) asumiendo que el área de la superficie corporal de una persona normal es de 2 m2.

Se utiliza con frecuencia un factor de seguridad más alto (a menudo 10), pero los hallazgos en los estudios no clínicos sugieren que la toxicidad de LiPlaCis se determina por la toxicidad intrínseca del cisplatino y que el LiPlaCis es menos tóxico en comparación con el cisplatino simple. A partir de 10 mg por sujeto se debe estar entonces claramente en el lado seguro. Además, cabe señalar que el LiPlaCis no es un fármaco completamente nuevo, sino una nueva formulación de un fármaco muy conocido y ampliamente utilizado.

Justificación para el programa y la vía de administración:

En los estudios clínicos previos de fase I y II de formulaciones liposomales de cisplatino - por ejemplo, SPI-077 y Lipoplatino desarrollados por ALZA Corp. y Regulon Inc., respectivamente - el fármaco se ha administrado principalmente cada tres semanas y la mediana del número de ciclos aplicados ha estado entre 2 y 4. En algunos de estos estudios, los pacientes recibieron un total de 6 ciclos.

Para asegurar que los pacientes puedan ser tratados de manera óptima en términos de seguridad y eficacia potencial, se administrará el LiPlaCis cada 3 semanas durante hasta 3 ciclos o más si el paciente se beneficia de nuevos ciclos en la opinión del investigador.

El LiPlaCis se administrará intravenosamente por perfusión como el cisplatino convencional.

Descripción del estudio

El estudio es un estudio abierto, de escalada de dosis, no aleatorio de fase I de LiPlaCis en pacientes con cáncer avanzado.

El LiPlaCis será administrado cada 3 semanas durante hasta 3 ciclos o más si el paciente se beneficia del tratamiento a juicio del investigador y si no hay evidencia de enfermedad progresiva o toxicidad inaceptable. El acceso después del ensayo a otro tipo de atención debe ser evaluado cuando los pacientes entran en el ensayo.

El LiPlaCis se administrará con incrementos del 20 al 100 % desde el nivel de dosis anterior.

El número de niveles necesarios para alcanzar la dosis máxima tolerada es desconocido. Se hará la escalada de dosis de 20 a 100 % en base a la toxicidad y farmacocinética después de discusión entre los investigadores y el patrocinador.

Se organizará una sesión clínica (por teléfono) una vez que el último paciente en la cohorte respectiva haya completado el primer ciclo para discutir la escalada de dosis. El mismo grupo de investigadores en discusión con el patrocinador (LiPlasome Pharma) decidirá sobre la dosis máxima tolerada y la dosis recomendada (DR) a ser utilizadas en futuros estudios de fase II de LiPlaCis.

La dosis máxima tolerada será el régimen con dos o más pacientes con toxicidad limitante de dosis (DLT) en una cohorte de 3 o 6 pacientes. Después de la finalización de todas las cohortes y una vez se ha definido la DMT; se organizará una sesión clínica para revisar los resultados de los pacientes para decidir sobre la siguiente dosis, y para determinar la dosis recomendada para el LiPlaCis. La dosis recomendada será normalmente el nivel de dosis por debajo de la MTD (MTD-1). La dosis recomendada será la dosis a la que no más de 1 de los 6 pacientes experimentan DLT en el primer ciclo.

Se inscribirán tres pacientes por nivel de dosis y cada cohorte de pacientes recibirá LiPlaCis cada 3 semanas hasta un total de tres ciclos o más o hasta que se produzca el empeoramiento de la enfermedad o una toxicidad inaceptable (por favor, véase la definición de toxicidad limitante de dosis en la sección 6.5). El segundo y tercer pacientes por cohorte/nivel de dosis pueden entrar simultáneamente después de la evaluación de la primera semana del primer ciclo del primer paciente en dicha cohorte.

La duración de la perfusión será de 1 hora y podría ser cambiada a 3 horas en el caso de efectos adversos - por ejemplo, reacciones de la perfusión - necesitar una duración más larga o una interrupción temporal de la perfusión.

Si se produce una toxicidad limitante de dosis (DLT) en uno de los tres pacientes dentro de una cohorte, entonces, se tratarán tres pacientes adicionales en ese nivel. Si se produce una DLT en 2/3 o 2/6 pacientes, el siguiente nivel de dosis más baja se ampliará hasta al menos 6 pacientes. Los últimos pacientes de una cohorte se observarán durante 3 semanas antes de que pueda empezar la acumulación de la siguiente dosis más alta.

Los pacientes serán vueltos a su sitio dentro de una cohorte cuando estén fuera del estudio menos de 3 semanas por otra razón aparte de la toxicidad.

El último paciente en un nivel de dosis debe ser observado durante al menos 3 semanas antes de que el primer paciente en el subsiguiente nivel de dosis pueda ser tratado.

Antieméticos:

Inicialmente, el tratamiento del estudio se iniciará sin el uso de antieméticos profilácticos. Una vez que dos pacientes experimenten náuseas y/o vómitos de grado 2 o más, se introducirá el uso profiláctico de los siguientes antieméticos para los pacientes en cuestión y el resto de los pacientes.

Etapa 1: Antagonista de 5-HT3 (por ejemplo, granisetrón, ondansetrón)

Etapa 2: Día 1: granisetrón 1 mg i.v. y dexametasona 10 mg i.v., Días 2-4: dexametasona 6 mg *per os*.

Etapa 3: Día 1: aprepitant 125 mg *per os*, granisetrón 1 mg i.v., dexametasona 10 mg i.v.; Días 2-3: prepitant 80 mg *per os*, dexametasona 6 mg *per os*; Día 4: dexametasona 6 mg *per os*.

Si un paciente tiene náuseas y/o vómitos de grado 2 o más, se pueden administrar antieméticos terapéuticos incluyendo la Etapa 0: metoclopramida. En el re-tratamiento este paciente puede recibir antieméticos profilácticos a criterio de los investigadores. Los antieméticos se administrarán según procedimientos de Erasmus MC y LUMC.

Hidratación:

La hidratación no será utilizada de forma rutinaria.

Sin embargo, si se observa nefrotoxicidad en un paciente, se introducirá tanto pre-hidratación como post-hidratación para los ciclos restantes de este paciente. La hidratación consistirá en

1000 mL de glucosa al 2,5 %/NaCl al 0,45 % durante 4 horas antes del tratamiento y

3000 mL de glucosa al 2,5 %/NaCl al 0,45 % durante 8 horas después del tratamiento.

De acuerdo con la definición de MTD en el caso de que se observe nefrotoxicidad en dos o más pacientes en una cohorte de 3 o 6 pacientes se introducirá pre-hidratación y post-hidratación para los ciclos restantes de los pacientes restantes.

Sin embargo, en el caso de que se observe nefrotoxicidad en diferentes pacientes de diferentes cohortes esta también podría ser una razón para comenzar con la introducción de hidratación adicional. Esto se decidirá durante las sesiones clínicas de la escalada de dosis con los investigadores y el patrocinador.

Población del estudio

La población objetivo para este estudio son pacientes con diagnóstico de tumor sólido histológicamente o citológicamente documentado, localmente avanzado o metastásico, refractario a la terapia estándar o para el cual no existe ninguna terapia curativa.

Número de pacientes

El número exacto de pacientes no se puede definir, ya que esto depende de la toxicidad observada. Se tratarán cohortes de 3 a 6 pacientes en cada cohorte hasta que se determinen la MTD y la dosis recomendada para los estudios de fase II de LiPlaCis. Se espera que hasta 30 pacientes evaluables puedan entrar en el estudio para cumplir con los objetivos principales del estudio. Sin embargo, se inscribirán más pacientes, si es necesario hacerlo.

Antes de la inclusión, los pacientes deben dar su consentimiento informado por escrito para este estudio y deben cumplir con todos los criterios de selección enumerados en la sección 3.3. Los pacientes que firman un consentimiento informado, pero no cumplen los criterios de inclusión y/o de exclusión se definen como fallos de cribado. Para todos los pacientes que hayan dado su consentimiento, el investigador tiene que mantener un registro de evaluación que documente el número de cribado, las iniciales del paciente, y (si procede) el motivo o motivos del fallo de cribado. Una copia del registro se debe conservar en el archivo del estudio del investigador.

Resultados del estudio de fase 1

PK:

Los datos farmacocinéticos confirman que LiPlaCis es una formulación de cisplatino de larga circulación. Se observa lo siguiente:

- La T½ observada es de 78 horas, que se compara con la T½ de cisplatino de menos de una hora. Véanse las figuras 8-11.
- El perfil farmacocinético es lineal tanto en términos de Cmax como de AUC. Véanse las figuras 12-14.
- La excreción urinaria se altera significativamente en comparación con el cisplatino. Se recoge la orina de 0 a 96 horas y la excreción está entre 0 y 20 % de la dosis administrada. La excreción urinaria de cisplatino está por encima del 90 % en 3 horas.

Toxicidad:

El LiPlaCis administrado en dosis de hasta 120 mg por ciclo de tratamiento no muestra signos de nefrotoxicidad, ototoxicidad ni neurotoxicidad. Además, la toxicidad gastrointestinal en forma de náuseas y vómitos no ha sido descrita en pacientes que reciben LiPlaCis. Véanse las figuras 15 y 16.

REIVINDICACIONES

1. Un liposoma hidrolizable por sPLA2 para su uso en el tratamiento del cáncer en humanos, en donde el contenido de lípido aniónico está entre 20 % y 45 %, el contenido de lípido conjugado con polímero está entre 3 % y 6 % y el contenido de lípidos neutros está entre 40 % y 75 %, y en donde el lípido aniónico es DSPG, el lípido neutro es DSPC y el lípido conjugado con polímero es DSPE-PEG, comprendiendo dicho liposoma un agente antitumoral de moléculas pequeñas seleccionado del grupo que consiste en: derivados de antraciclina, cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, picoplatino, doxorubicina, paclitaxel, 5-fluorouracilo, exisulind, ácido cis-retinoico, sulfuro de suldinac, metotrexato, bleomicina y vincristina.

2. El liposoma para uso según la reivindicación 1, en donde el liposoma es para administración intravenosa en forma de inyección en bolo o en perfusión.

3. El liposoma para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el agente antitumoral de moléculas pequeñas es un agente antitumoral basado en platino seleccionado del grupo que consiste en: cisplatino, oxaliplatino, picoplatino y carboplatino.

4. El liposoma para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la dosis del agente terapéutico se reduce en comparación con la dosis estándar del agente terapéutico libre.

5. El liposoma para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la dosis del agente terapéutico se incrementa en comparación con la dosis estándar del agente terapéutico libre.

6. El liposoma para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el liposoma se administra a intervalos prolongados en comparación con el régimen de dosis estándar del compuesto libre.

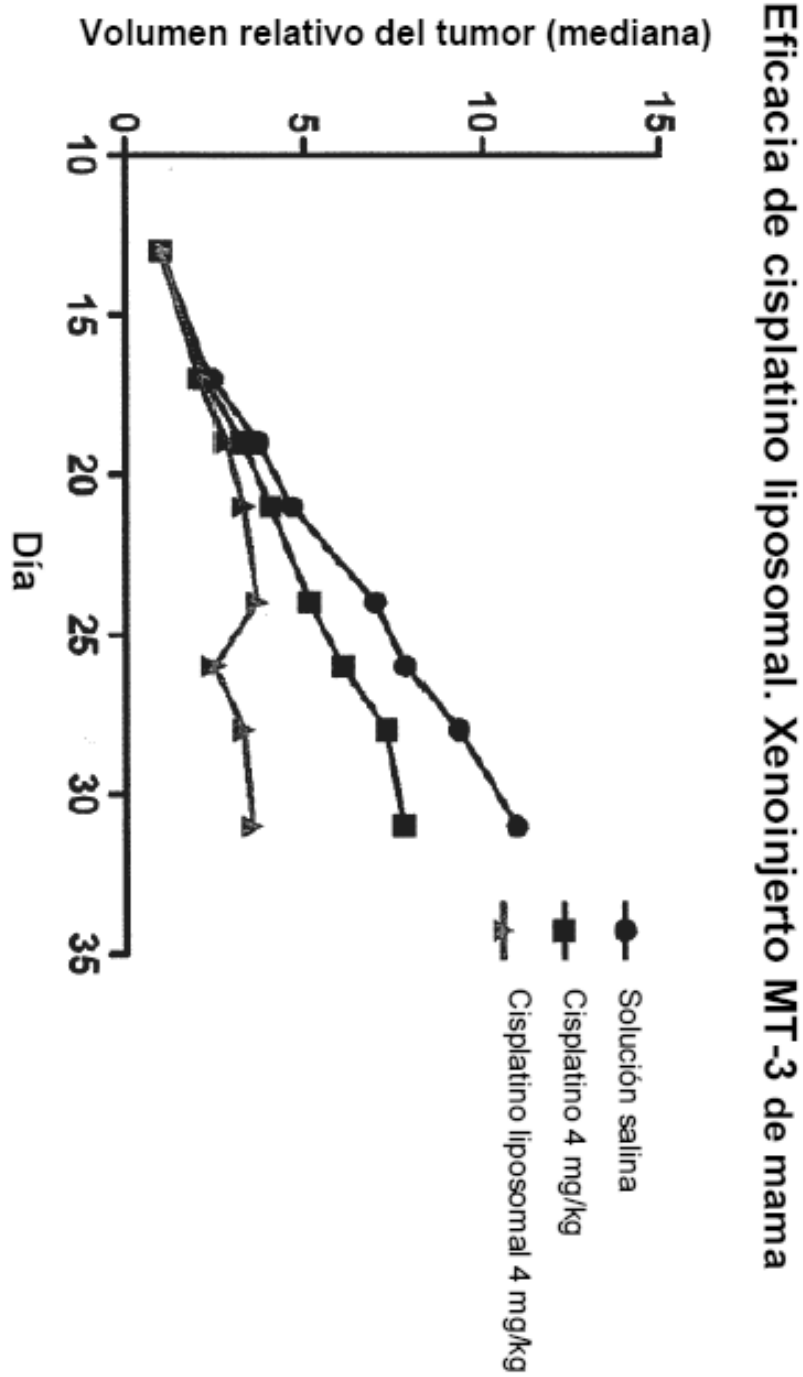
Eficacia de cisplatino liposomal. Xenoinjerto MT-3 de mama
Solución salina
Cisplatino 4 mg/kg
Cisplatino liposomal 4 mg/kg
Volumen relativo del tumor (mediana)
15
10
5
0
10
15
20
25
30
35
Día

Figura 1

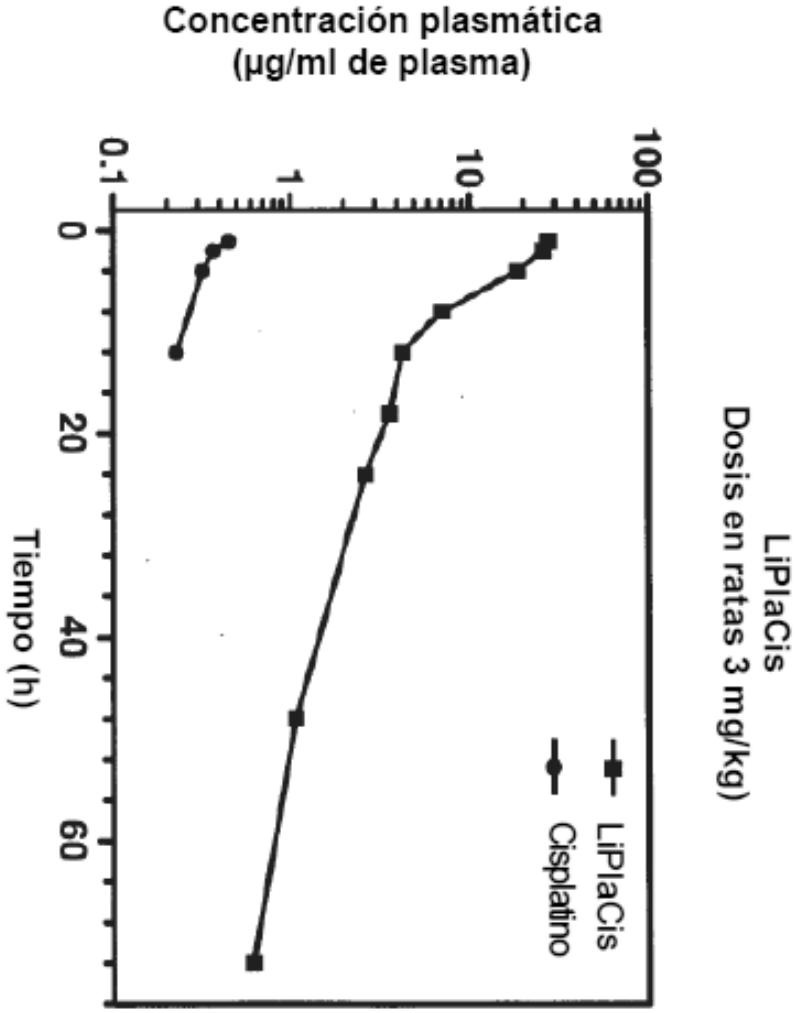
LiPlaCis
Dosis en ratas 3 mg/kg)
LiPlaCis
Cisplatino
100
10
1
0.1
Concentración plasmática
(µg/ml de plasma)
0
20
40
60
Tiempo (h)

Figura 2

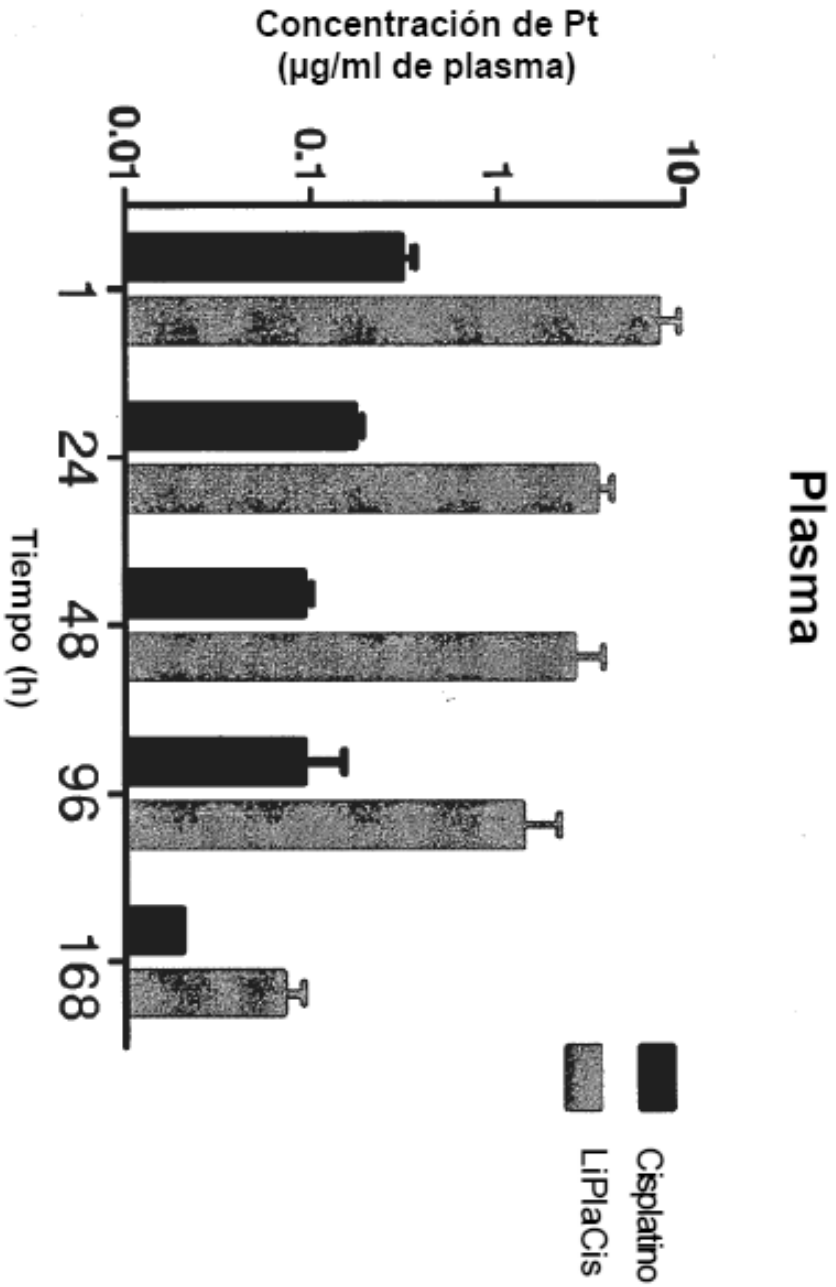
Plasma
Cisplatino
LiPlaCis
10
1
0.1
0.01
Concentración de Pt
(µg/ml de plasma)
1
24
48
96
168
Tiempo (h)

Figura 3

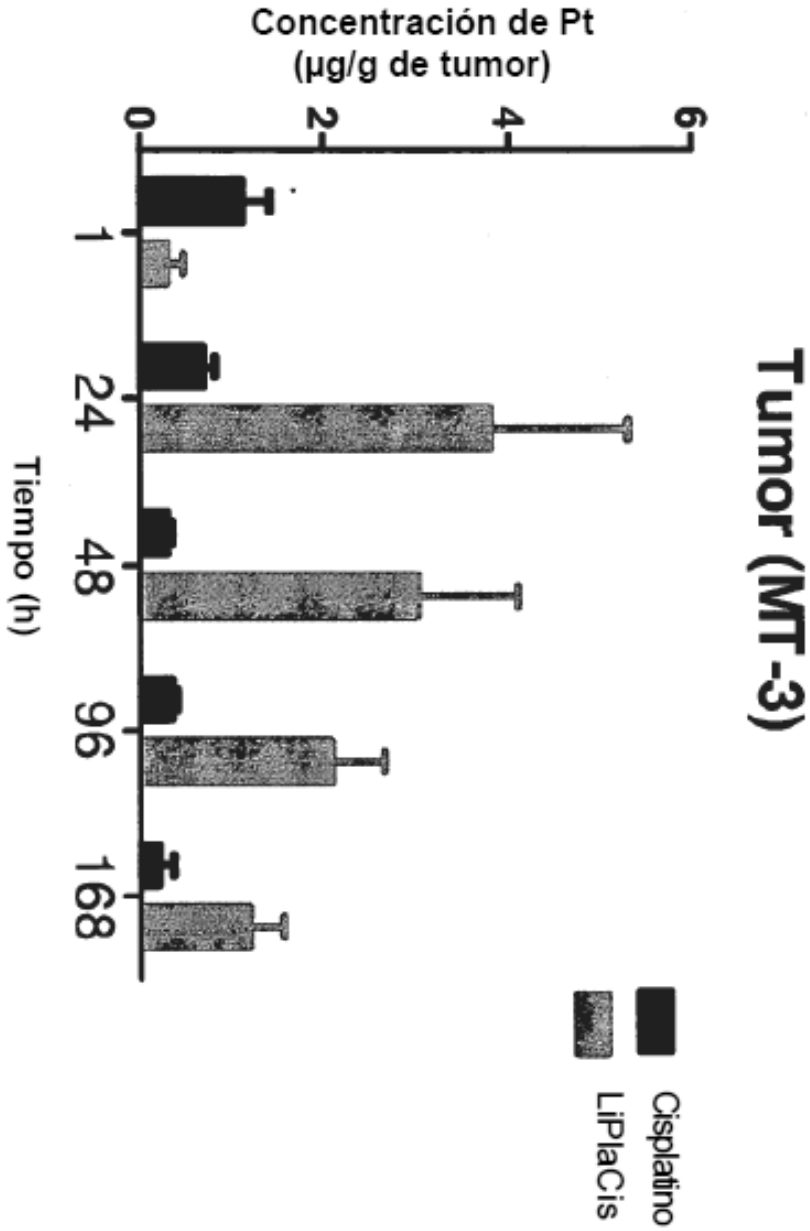
Tumor (MT-3)
Cisplatino
LiPlaCis
Concentración de Pt
(µg/g de tumor)
0
2
4
6
Tiempo (h)
1
24
48
96
168

Figura 4

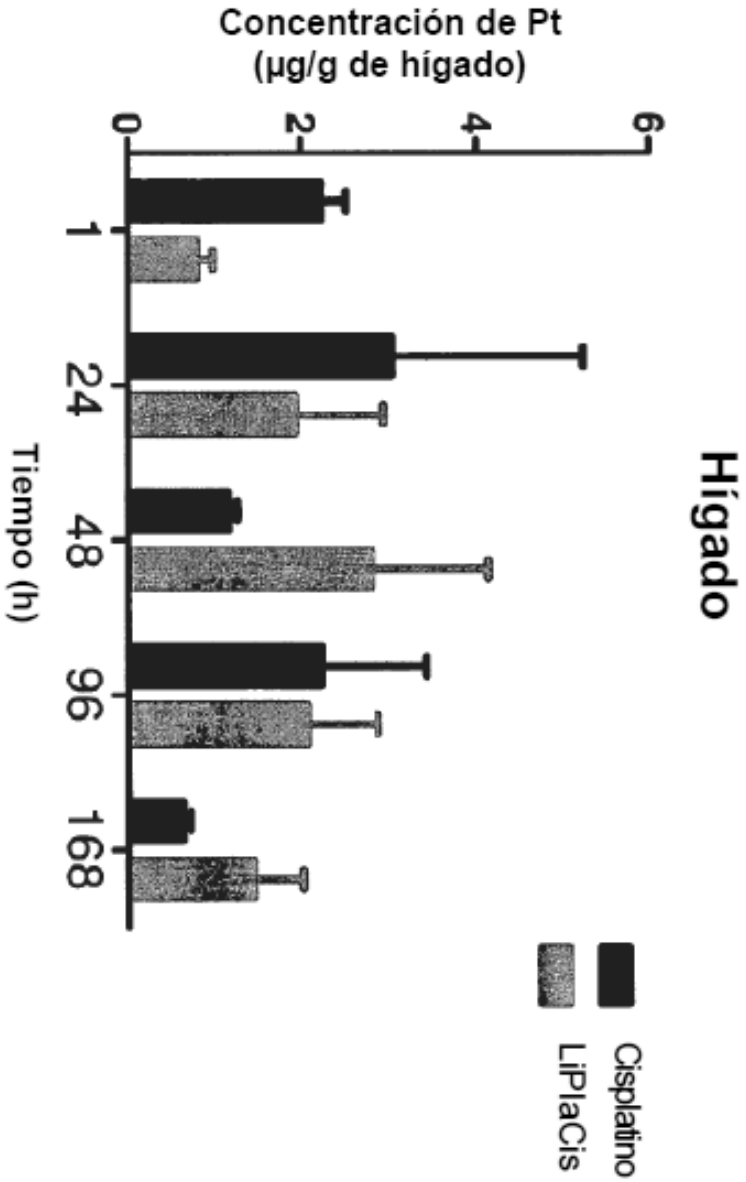
Hígado
Cisplatino
LiPlaCis
Concentración de Pt
(µg/g de hígado)
0
2
4
6
Tiempo (h)
1
24
48
96
168

Figura 5

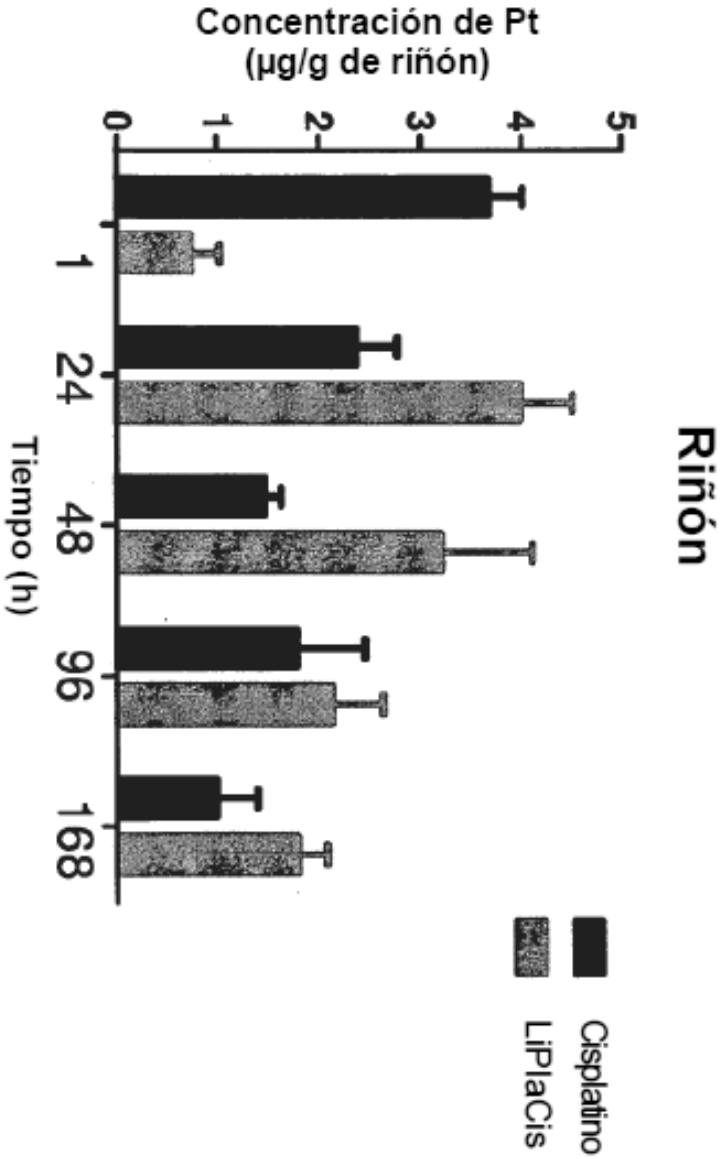
Riñón
Cisplatino
LiPlaCis
Concentración de Pt
(µg/g de riñón)
0
1
2
3
4
5
Tiempo (h)
1
24
48
96
168

Figura 6

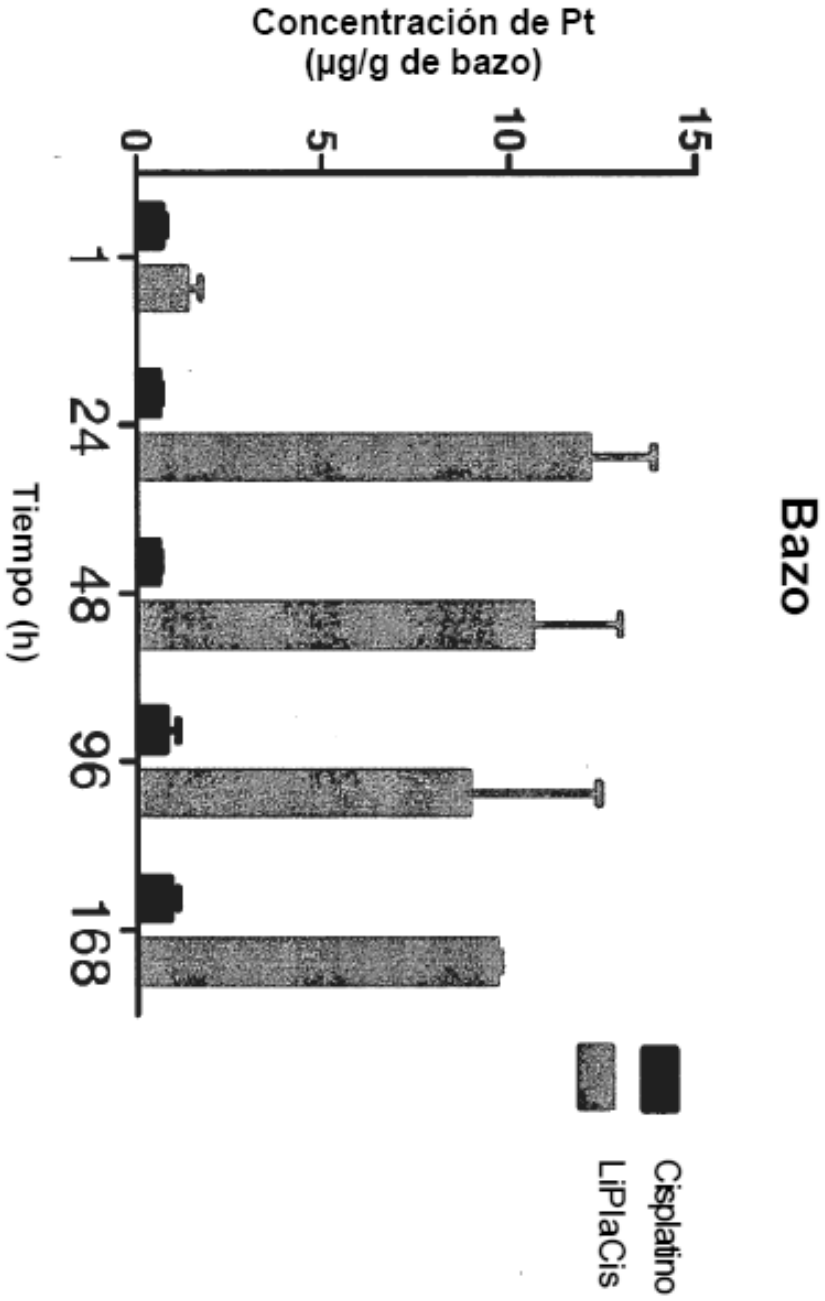
Bazo
Cisplatino
LiPlaCis
Concentración de Pt
(µg/g de bazo)
15
10
5
0
1
24
48
96
168
Tiempo (h)

Figura 7

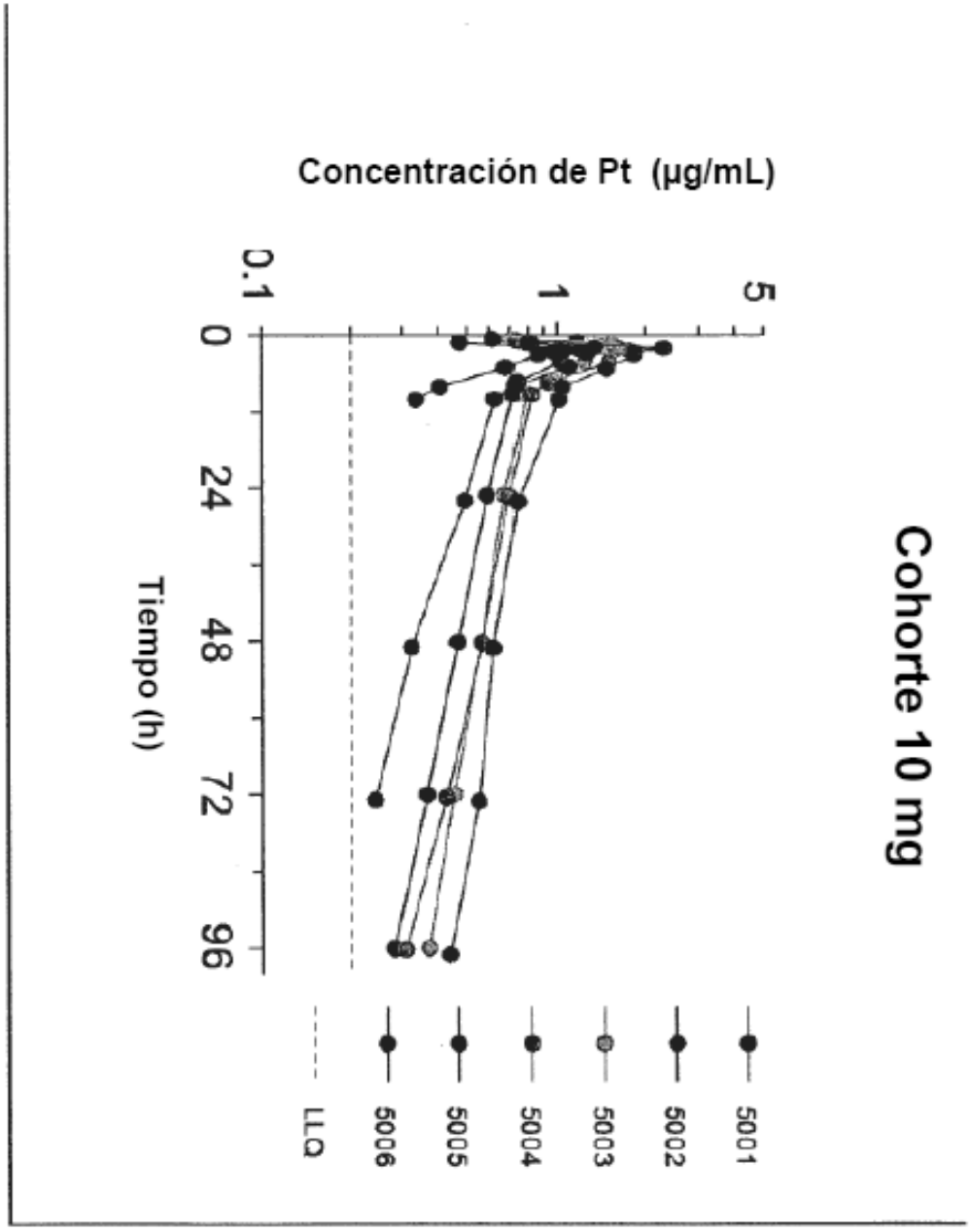
Cohorte 10 mg
Concentración de Pt (µg/mL)
5
1
0.1
0
24
48
72
96
Tiempo (h)
5001
5002
5003
5004
5005
5006
LLQ

Figura 8

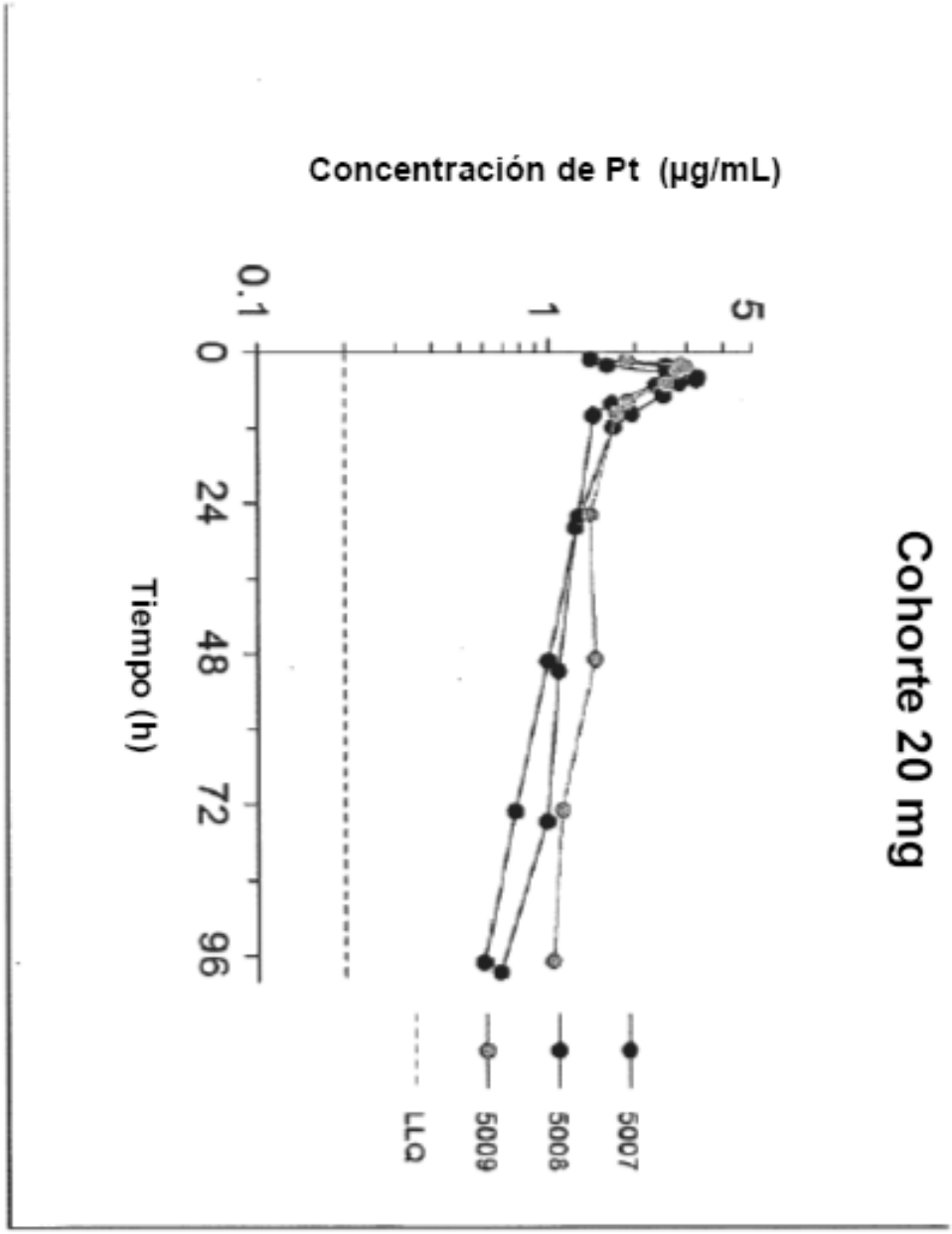
Cohorte 20 mg
Concentración de Pt (µg/mL)
5
1
0.1
0
24
48
72
96
Tiempo (h)
5007
5008
5009
LLQ

Figura 9

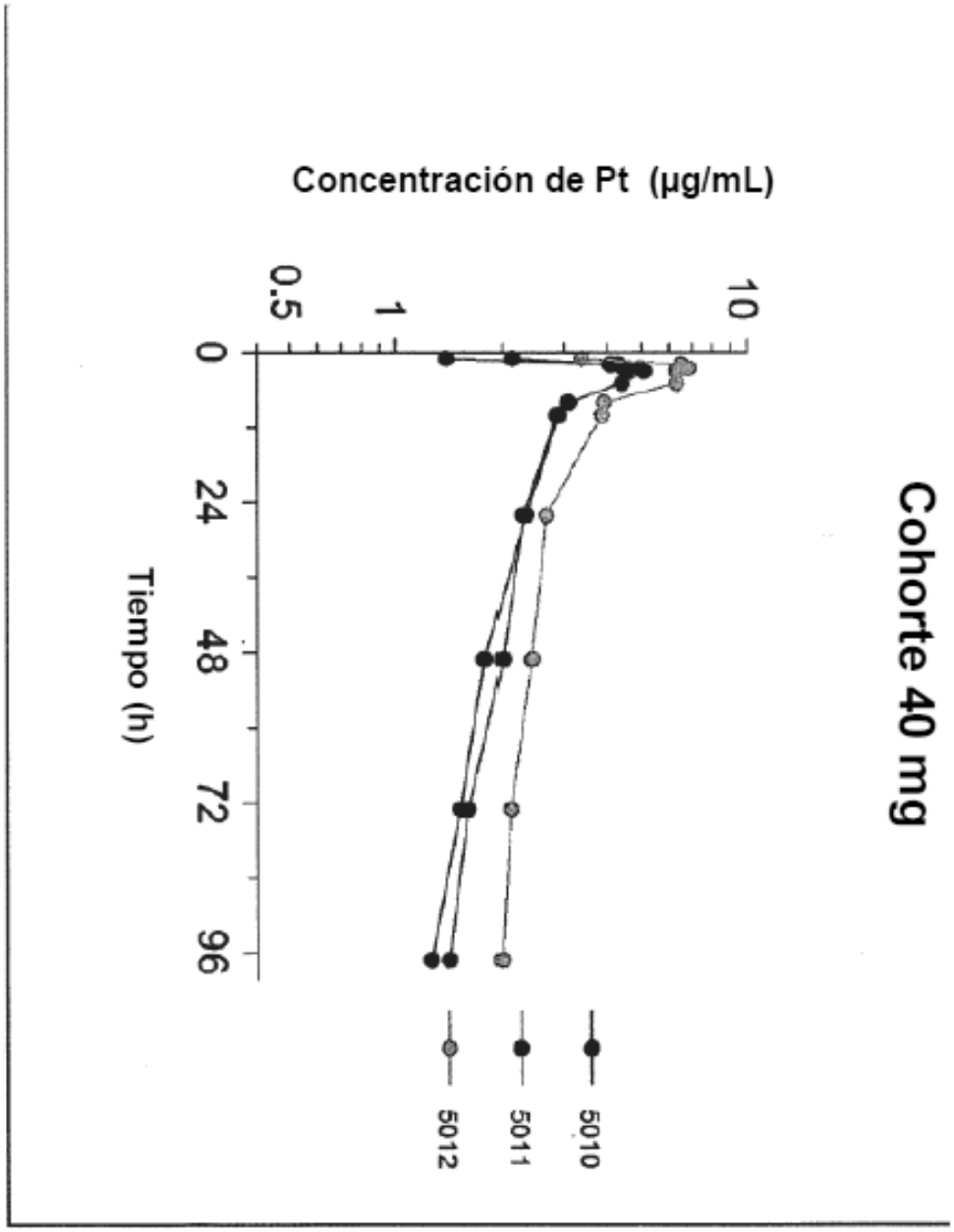
Cohorte 40 mg
Concentración de Pt (µg/mL)
10
1
0.5
0
24
48
72
96
Tiempo (h)
5010
5011
5012

Figura 10

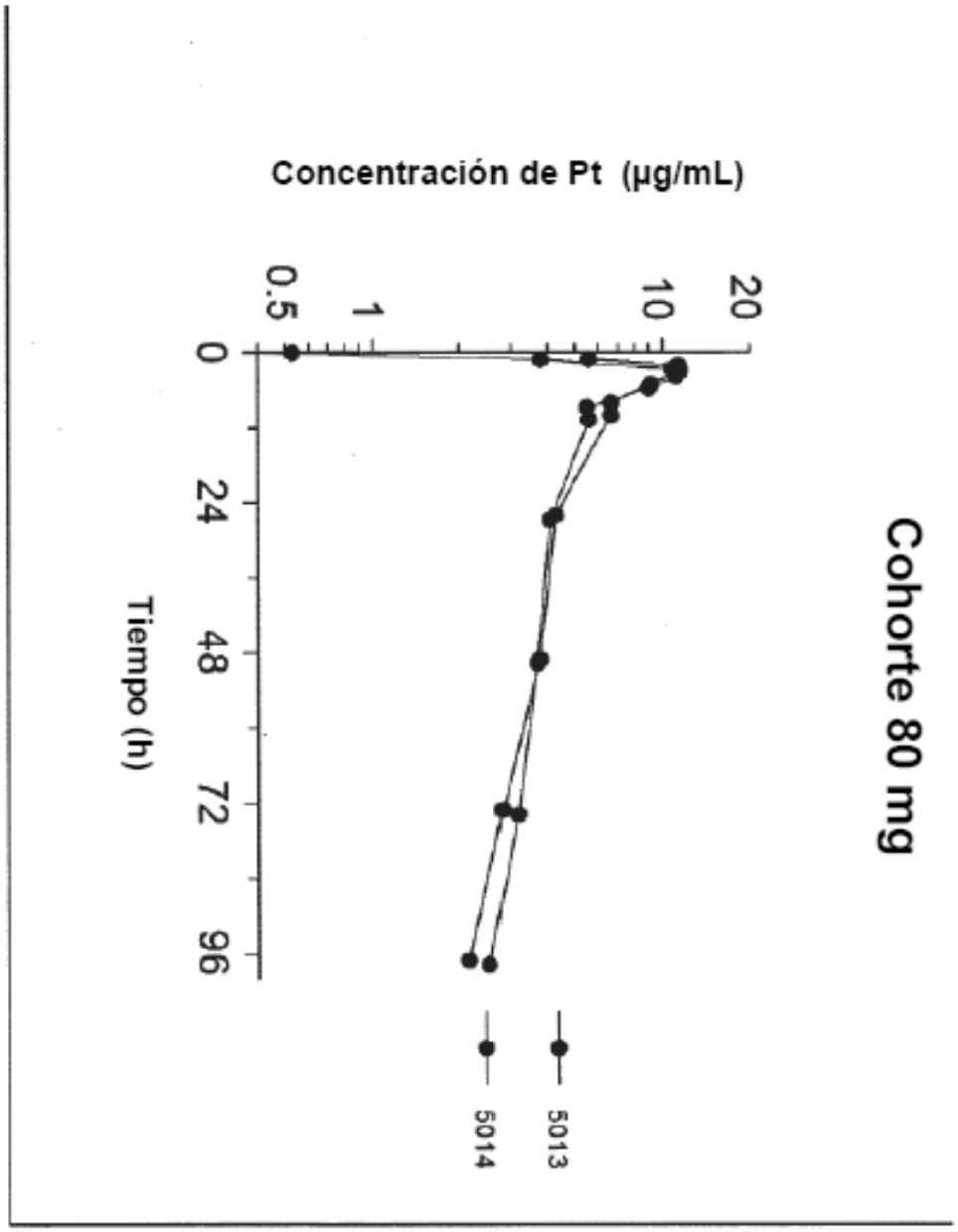
Cohorte 80 mg
Concentración de Pt (µg/mL)
20
10
1
0.5
0
24
48
72
96
Tiempo (h)
5013
5014

Figura 11

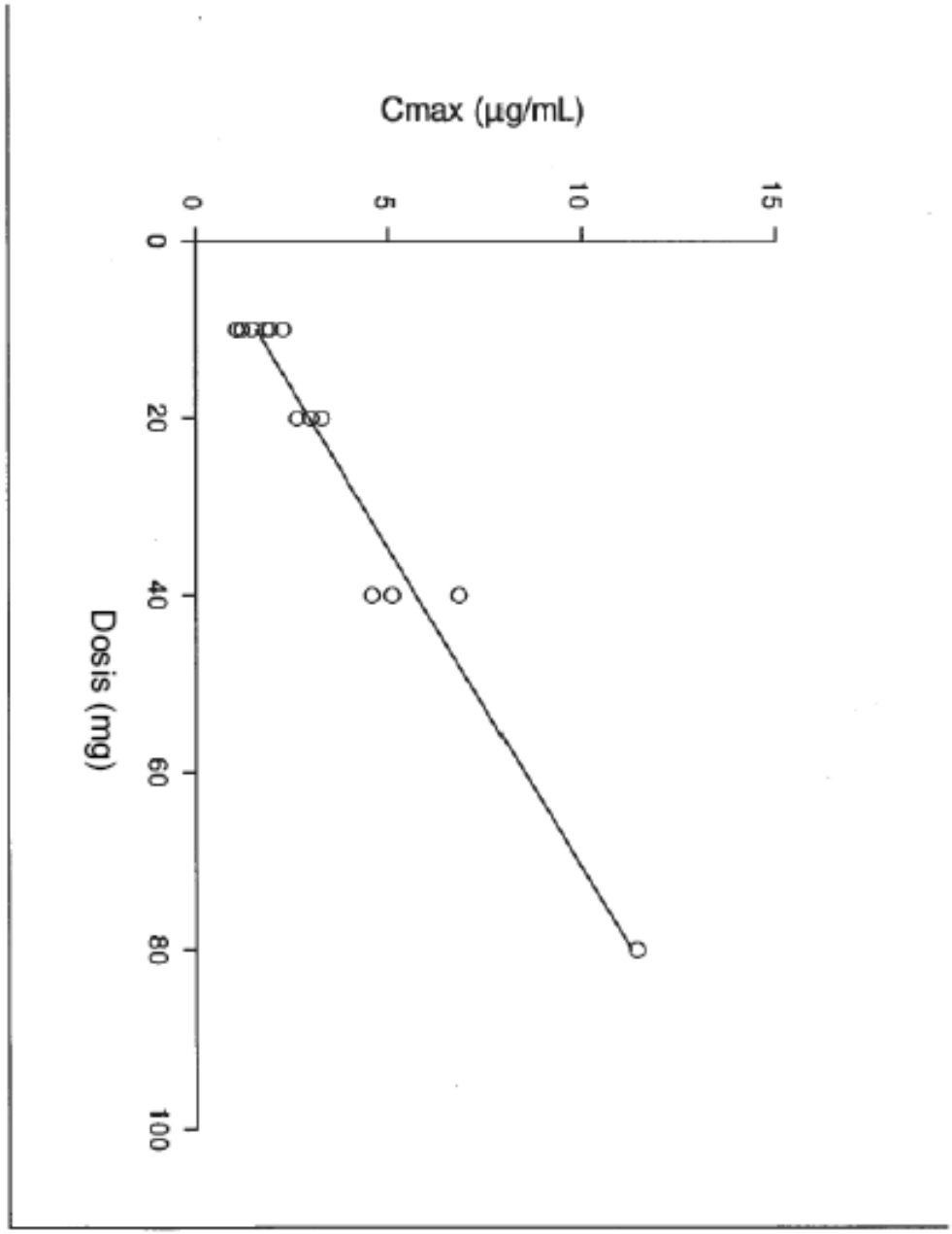

Figura 12

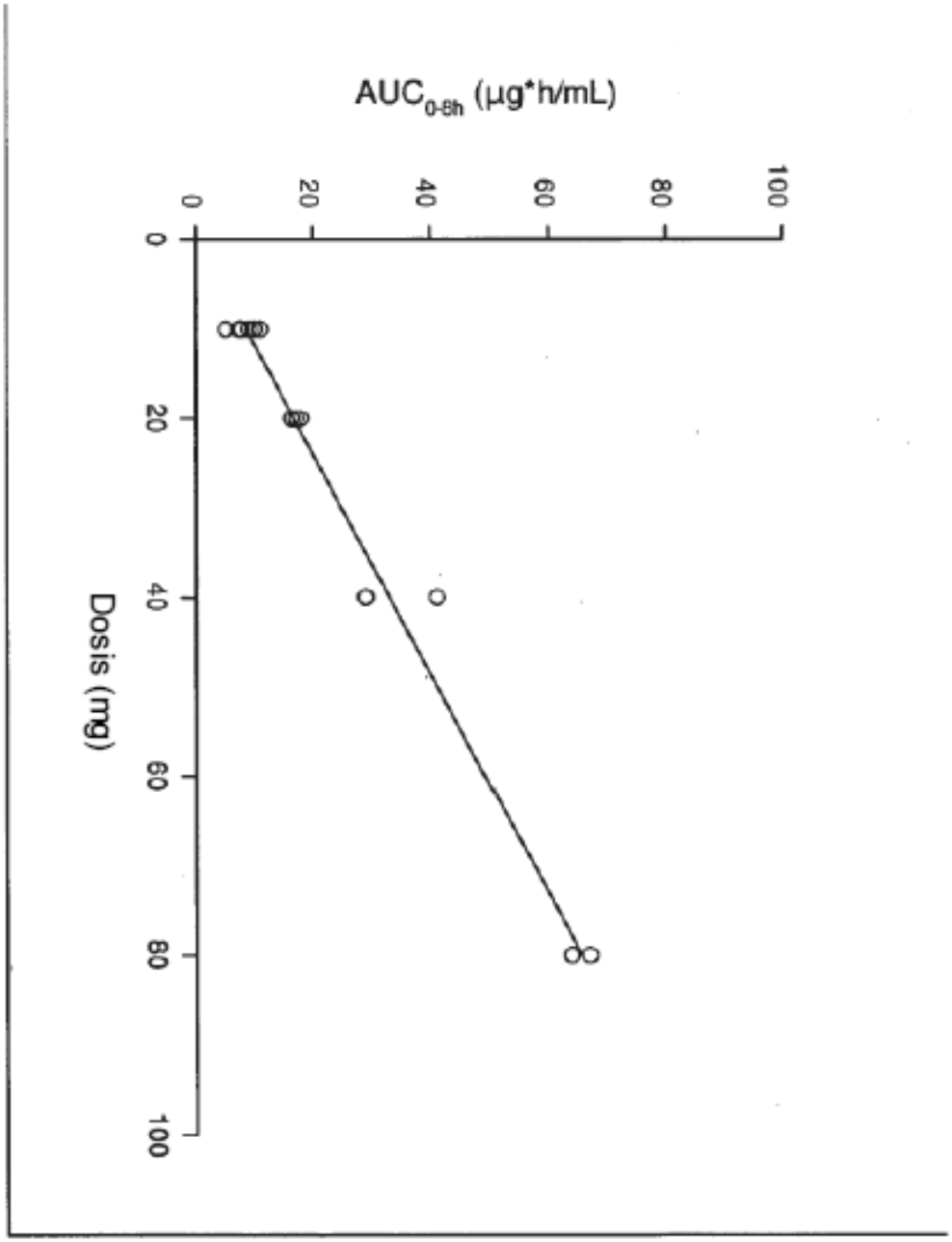

Figura 13

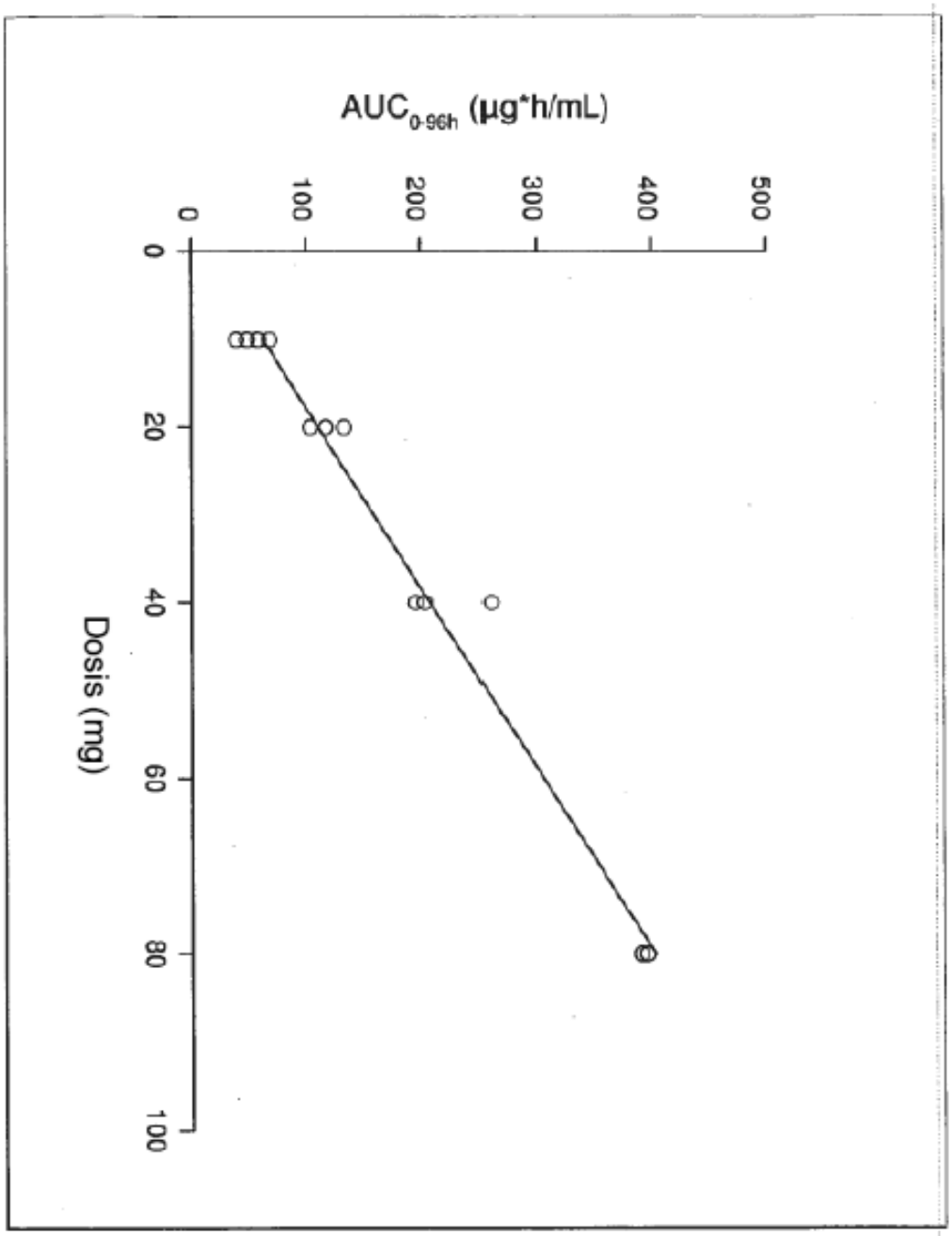

Figura 14

Sujeto nº	Sexo	Edad	Diagnóstico	Historia de cisplatino	Dosis, mg/sujeto	1er ciclo	2º ciclo	3er ciclo	Comentarios
1	F	63	Cáncer de mama	No	10	OK	OK	Ok	PD
2	F	49	Melanoma	No	10	Reac. alérgica grado 2-3	Reac. alérgica grado 3 DLT	No hecho	Fuera del estudio después de 2 ciclos
3	F	75	Carcinoma adenoide quístico	No	10	OK	OK	OK	PD después de 15 ciclos
4	M	51	Cáncer oesofaríngeo	No	10	OK	OK	OK	PD después de 3 ciclos
5	M	61	Cáncer de próstata	No	10	Reac. alérgica grado 2	OK	OK	PD después de 6 ciclos
6	F	44	Cáncer orofaríngeo	No	10	OK	OK	No hecho	Fuera del estudio después de 2 ciclos debido a PD
7	F	39	Cáncer de la parótida	?	20	OK	OK	OK	PD después de 3 ciclos
8	M	56	Cáncer de células uroteliales	?	20	OK	OK	OK	PD después de 3 ciclos
9	M	64	Cáncer de la parótida	?	20	OK	OK	OK	PD después de 6 ciclos
10	M	66	Melanoma	?	40	OK	OK	No hecho	PD después de 2 ciclos
11	M	71	Cáncer de próstata	?	40	OK	OK	No hecho	Fuera del estudio después de 2 ciclos
12	F	45	Cáncer de mama	?	40	OK	No hecho	No hecho	Fuera del estudio después de 1er ciclo. PD
13	M	62	Cáncer de células uroteliales	?	80	OK	OK	OK	
14	F	50	CUP	?	80	Reac. alérgica grado 2	Reac. alérgica grado 3	No hecho	Fuera del estudio después de 2 ciclos
15	M	53	Cáncer hipofaríngeo	?	80	OK	OK	Pendiente	

Figura 15

Pac. Nº	Dosis	Sexo	Edad	Tumor	Ciclo	Dia	WBC	ANC	PLT	Hgb	Nau	Vom	Dia	Oral	Renal	Fiebre	Neuro	Fatiga	Otros	DLT	Respuestas
5001	10 mg	F	63	mama	0		1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	ASAT 2, ALAT 2, LDH 1		
					1		1	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	piel 1 (descamación seca), ASAT 2, ALAT 2		
					2		1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	AST 2, ALT 2		
					3		.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	AST 1, ALT 1, LDH 1		PD
					off																
5002	10 mg	F	49	melanoma	0		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	dolor 1		
					1		.	.	1	.	1	.	.	.	.	.	.	2	reac. alérgica 3, exantema 1, anorexia1, AST 2, ALT 2, GGT 1	X	
					2														reac. alérgica 3, (a pesar de pre-medicación) fin de medicación		
					off																
5003	10 mg	F	75	carcinoma adenoide quístico	0		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
					1		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	GGT 1		
					2		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
					3		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	AST 1, colesterol 1		SD
					4		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	GGT 1, hipercolesterol 1		
					5		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	GGT 1, hipercolesterol 1		
					6		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	hipercolesterol 1		SD
					7		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	hipercolesterol 1		
					8		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	hipercolesterol 1		
					9		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	hipercolesterol 1, glucosa 1		SD
					10		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	hipercolesterol 1, glucosa 1		
					11		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	hipercolesterol 1		

Figura 16

					12		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	hipercolesterol 1		SD
					13		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
					14		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	AST 1		
					15		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	GGT 1		PD
					off																
5004	10 mg	M	51	esófago	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
					1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	disfunción hepática 1, sudación 2		
					2		-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	GGT 1		
					3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	sudación 1, anorexia1, GGT 1, disfagia 1		PD
					off																
5005	10 mg	M	61	prostata	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
					1		-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	1	reac. alérgica 2, pirosis 2, nerviosismo 1, proteinuria/hematuria 1		
					2		-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	1	pirosis 2, proteinuria/hematuria 1		
					3		-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	1	proteinuria/hematuria 1		
					4		-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	1	proteinuria 1		
					5		-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	proteinuria 1		
					6		-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1			PD
					off																
5006	10 mg	F	44	orofaringeo	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	dolor 1		
					1		-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	dolor 1, AF 1, GGT 3, ALT 2, AST 1, trombosis 3 (relacionada con el tumor)		
					2		-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	1	reac. a perfusión 2, trombosis 3 (relacionada con línea central) ALT 3/ ALT 2 (prob. Relacionada con comedicación)		PD

Figura 16

					off																
5007	20 mg	F	39	cáncer de la parótida	0		.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	1	1	anorexia 1		
					1		.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	1	1	reac. a perfusión 2, anorexia 1, dolor 2, GGT 1		
					2		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	GGT 1, anorexia 1, dolor 1		
					3		1	.	.	1	.	.	.	.	1	1	2	2	GGT 1, dolor 1, bilis 2, estreñimiento 1, disnea 2, infección 3		PD
					off																
5008	20 mg	M	56	cáncer de células uroteliales	0		.	.	.	1	.	.	.	.	1	.	1	.	disnea 1, tos 1		
					1		.	.	.	1	.	.	.	.	1	.	1	.	tos 1, AF 1		
					2		.	.	.	1	.	.	.	.	1	.	1	1	tos 1, AF 1, LDH 1, disnea 1, hipofosfatemia 2, GGT 1, glucosa 1		
					3	15	.	.	.	1	.	.	.	.	1	.	1	1	AF 1, GGT 1		PD
					off																
5009	20 mg	M	64	cáncer de la parótida	0		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	GGT 1, dolor 1		
					1		.	.	.	1	1	.	.	.	1	.	.	1	GGT 1, dolor 1, bilis 1		
	hidratación				2		.	.	.	1	1	.	1	.	.	.	.	1	dolor 1, GGT 1		
					3		.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	1	dolor 1		SD
					4		.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	1	GGT 1, dolor 1, urea 1, AST 1, ALT 1, dolor de cabeza 1		
					5		.	.	.	1	.	.	.	.	1	.	.	1	GGT 1, dolor 1, urea 1, AST 1, ALT 1, dolor de cabeza 1, hipofosfatemia 1, tinnitus 1		
					6		.	.	.	1	.	.	.	.	1	.	.	1	tinnitus 1, GGT 1, dolor 1		PD
					off																
5010	40 mg	M	66	melanoma	0		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
					1		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			

Figura 16

					2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
					3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			PD
					off																
5011	40 mg	M	71	próstata	0		1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	hematuria 1		
					1		1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	hematuria 1, proteinuria1, dolor 2		
					2		1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	hematuria 1		
					off														petición del paciente		
2012	40 mg	F	45	mama	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	alopecia 1, disnea 1, dolor 1, GGT 2, AST 2, ALT 1, AF 1		
					1		-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1	anorexia 1, dolor 1, alopecia 1, AF 1, GGT 3, AST 2, ALT 2, LDH 1		PD
					off																
2013	80 mg		62	cáncer de células urotelíales	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	GFR 1, hematuria 1, proteinuria 1		
					1		-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	disnea 1, anemia 1, GFR 1, hematuria1, proteinuria 1, dolor abdominal 2, leucocituria 1		
					2		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	infección urinaria, anemia 1, GFR 1, hematuria 1, fiebre 2 2 días después de la perfusión con UTI recurrente		
					3	1															
S1-01 5014	80 mg	F	50	CUP	0		-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	estreñimiento 1, disnea 1, dolor 1, edema 1, AST 1, ALT 1, GGT 1		

Figura 16

					1		.	.	.	1	1	.	.	.	.	.	.	2	reac. a perfusión 2, AST 1 LDH 1, hipercalcemia 2, GGT1, ALT 1, anorexia 1, disnea 1		
					2														tratamiento discontinuado debido a reac. a la perfusión		
					off																
S2-06 5015	80 mg	M	53	cáncer hipofaríngeo	0														hiponatremia		
					1		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	hiponatremia 3, leucocituria, hematuria, proteinuria		
					2																
S1-03 5016					0																
					1																

Figura 16