

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 698 948**

51 Int. Cl.:

A61K 31/718 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

A61K 31/4045 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.01.2013 PCT/EP2013/051778**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.08.2013 WO13113747**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2013 E 13701646 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 2809327**

54 Título: **Almidón hidroxialquilado para el tratamiento del cáncer por reducción de las tasas de crecimiento de los tumores**

30 Prioridad:

30.01.2012 EP 12153068

30.01.2012 US 201261592017 P

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

06.02.2019

73 Titular/es:

FRESENIUS KABI DEUTSCHLAND GMBH

(100.0%)

Else-Kröner-Strasse 1

61352 Bad Homburg, DE

72 Inventor/es:

WESTPHAL, MARTIN y

BAASNER, SILKE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 698 948 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

Almidón hidroxialquilado para el tratamiento del cáncer por reducción de las tasas de crecimiento de los tumores.

Antecedentes de la invención

5 Las enfermedades asociadas con cáncer y estados de enfermedad neoplásica son afecciones graves y a menudo potencialmente mortales. Estas enfermedades, que se caracterizan por proliferación descontrolada, también llamadas enfermedades proliferativas de las células, son también un objetivo principal en muchos proyectos de investigación, dedicados a identificar nuevos ingredientes terapéuticos activos que demuestren ser eficaces en el tratamiento de estas enfermedades. Dichos ingredientes activos prolongan la expectativa de vida del paciente, inhiben el rápido progreso del desarrollo celular asociado con la neoplasia, u originan la regresión de la neoplasia o mejoran la calidad de vida.

10 Los almidones hidroxialquilados (HAS) son polímeros que derivan de materiales de base naturales y se modifican. Los HAS se preparan a partir de almidones ricos en amilopectina. El almidón original puede ser ramificado o no ramificado, o puede consistir en una mezcla de ambos. Los almidones hidroxietilados (HES) se basan casi exclusivamente en amilopectina, en otros términos, en cadenas ramificadas de moléculas de glucosa.

15 Se conoce el uso médico de almidones hidroxialquilados, y más particularmente de almidón hidroxietilado. Se usa en particular en terapia de volumen como sustituto de plasma, y también en hemodiálisis clínica (Sommermeyer et al., 1987, Krankenhauspharmazie, 8(8): 271-278; Weidler et al., 1991, Arzneimittelforschung/Drug Research, 41: 494-498). La administración intravenosa de disolución de almidón hidroxietilado, que permite que los eritrocitos, (corpúsculos rojos) continúen transportando oxígeno al organismo, se pueden usar, por ejemplo, con el fin de prevenir un estado de choque después de una pérdida de sangre importante causada por un traumatismo o cirugía.

20 El documento DE4023788 (Schumann) describe el uso de almidón hidroxietilado para el tratamiento de daño del oído interno. Concretamente, describe el uso de almidón hidroxietilado en un tratamiento llamado terapia de oxígeno hiperbárico. Dicho tratamiento se aplica para tratar acufenos y pérdida auditiva aguda, y se sugiere usarlo para tratar a pacientes con cáncer. El único ejemplo en esta solicitud describe el modo en que una disolución de HES se aplica a un paciente en una cámara de presión de oxígeno, pero no demuestra ni analiza ningún efecto terapéutico. En este contexto, la solicitud de patente también sugiere el uso de almidón hidroxietilado para el tratamiento de tumores de cabeza y cuello, pero sin demostrar ningún dato o conexión teórica entre la pérdida auditiva después de la incidencia acústica y el cáncer de cabeza y cuello.

25 A su vez, se ha propuesto usar almidón hidroxietilado (HES) para introducir ingredientes farmacéuticamente activos en el peritoneo. En algunos esquemas de tratamiento de carcinomatosis peritoneal, los fármacos citotóxicos o citostáticos se aplican localmente. Aquí se ha demostrado que el uso local de disoluciones que contienen HES resulta en tiempos de retención superiores del fármaco citotóxico o citostático en el peritoneo, en comparación con el uso de disoluciones de diálisis libres de coloides osmóticamente activos (Mohamed et al (2003) European Journal of Surgical Oncology vol 29, pág. 261-265).

30 También se ha sugerido el uso de HES como una barrera absorbible, como un agente anti-adhesión en cavidades corporales lastimadas (WO 96/40108).

35 Muchos de los ingredientes citotóxicos o citostáticos habituales, juntos denominados citostáticos, que son ingredientes activos que inhiben el crecimiento celular y que se usan en la terapia para el cáncer actual, tienen solamente poca solubilidad en agua. Esto presenta problemas para su administración. La poca solubilidad en agua debe superarse típicamente mediante técnicas de formulación complejas, como por adición de diversos excipientes, que en general implican efectos colaterales tóxicos. Una posible solución propuesta ha sido el acoplamiento de citostáticos a vehículos macromoleculares, como almidón hidroxietilado, por ejemplo, con el fin de permitir la administración de los llamados profármacos poliméricos.

40 Además de la mejora de la solubilidad en agua del fármaco, los profármacos se han propuesto para ofrecer una diana ventajosa y/o una mejora de la estabilidad del agente terapéutico. Además, se sugirió que dichos profármacos prolongan el tiempo de circulación, para proporcionar una duración extendida de la actividad o lograr una reducción de los efectos colaterales y la toxicidad del fármaco. Por lo tanto, además de la preparación de profármacos de agentes citotóxicos o citostáticos solubles en agua, proporcionar profármacos de agentes citotóxicos o citostáticos solubles en agua es también de gran interés con el fin de modificar el inicio y/o la duración de la acción del agente citotóxico *in vivo*.

45 El documento WO 03/074088 describe conjugados de almidón hidroxietilado con, por ejemplo, agentes citostáticos como daunorrubicina, en donde los agentes citostáticos habitualmente se acoplan directamente mediante un grupo amino al almidón hidroxietilado en conjugados 1:1. No obstante, no se ha demostrado allí ningún uso de estos conjugados *in vivo*.

50 El documento US 6.207.654 (Zikria) describe que el almidón hidroxietilado se puede utilizar para mejorar un tratamiento del cáncer basado en la administración de interleucinas, reduciendo los efectos colaterales de la

interleucina 2 (IL-2). Se explica que las moléculas de polisacárido actúan como estabilizadores de la membrana epitelial. Debido a sus propiedades biofísicas/bioquímicas, parecen prevenir la fuga de proteína del suero de las uniones endoteliales capilares sellándolas y estabilizando de este modo las membranas capilares.

5 Actualmente, el tratamiento habitual del cáncer se basa en tres opciones de tratamiento, cirugía, radioterapia y farmacoterapia, también denominada quimioterapia. La quimioterapia implica la administración de fármacos diseñados para inactivar las células proliferativas, como células cancerosas o células tumorales, o por lo menos para evitar que sigan proliferando. Comúnmente se denominan citostáticos. Estos fármacos, sin embargo, no son selectivos para inactivar solamente las células cancerosas. En consecuencia, este tipo de tratamiento se asocia con efectos colaterales graves para el paciente. Una lista no exhaustiva de efectos colaterales comprende anemia, náuseas, vómitos, cambios de apetito, diarrea, estreñimiento, cansancio, dolor, alopecia, hemorragia, inflamación, aumento de susceptibilidad a infecciones, disminución de la memoria, cambios nerviosos, cambios en la boca y la garganta, cambios en la sexualidad y la fertilidad, problemas en la piel y las uñas, problemas para orinar. Estos efectos colaterales podrían ser tan intensos que podría ser necesario cesar el tratamiento con los citostáticos debido a la alta toxicidad, con el fin de mantener al paciente con vida. No obstante, durante estas fases de recuperación, en donde el paciente puede retomar parte de su salud general, el tumor a menudo también se recupera y comienza a crecer nuevamente. Se conoce bien el problema de la alta toxicidad de los fármacos citostáticos utilizados para tratar a pacientes con cáncer. En consecuencia, existe la necesidad en la técnica de una opción de tratamiento para pacientes con cáncer que inhiba la progresión del cáncer y que a la vez no estrese ni perjudique al sujeto que necesita mayor tratamiento.

20 Un tratamiento de cáncer ideal sería dirigir el crecimiento del tumor y la proliferación celular del tumor selectivamente. La proliferación celular saludable a un índice normal y controlado no debería verse afectada.

Es un aspecto de la presente invención dar a conocer un tratamiento que sea eficaz en el tratamiento del cáncer y que al mismo tiempo no exhiba efectos colaterales tóxicos o exhiba efectos colaterales menos tóxicos para el paciente tratado que cuando se le administran citostáticos. Esta tarea ha sido resuelta por la provisión de almidón o almidones hidroxietilados para el tratamiento del cáncer, reduciendo las tasas de crecimiento del tumor. Podría demostrarse que estas sustancias tienen una tasa de crecimiento que limita los efectos sobre los tumores, pero no daña las células normales. Si bien estas disoluciones de HES se han administrado a un gran número de seres humanos (sin tumores) sin demostrar ningún efecto colateral grave, se observó por primera vez que estas sustancias podrían tener un efecto antiproliferativo selectivamente en las células tumorales.

30 Se ha demostrado que la administración exclusiva de almidón hidroxietilado a un sujeto que padece cáncer en forma de un tumor creciente, inhibió su progresión, reduciendo el tamaño del tumor asociado con dicho cáncer, en comparación con el tamaño de tumores en sujetos no tratados, medido al final de la fase de tratamiento/no tratamiento. Este importante efecto terapéutico de los almidones hidroxietilados administrados, de reducir la tasa de crecimiento del tumor y a la vez no causar una reducción del estado general, indicada por una pérdida de peso corporal, se ha demostrado en la presente memoria por primera vez. Según nuestro conocimiento, nadie ha descrito aún un efecto terapéutico del almidón hidroxietilado propiamente dicho sobre un cáncer o un tumor. Si bien se han propuesto los almidones hidroxietilados como agentes estabilizantes o solubilizantes o como ingredientes osmóticamente activos, no se ha demostrado nunca que la aplicación de HES propiamente dicha tenga un efecto reductor de la tasa de crecimiento del tumor.

40 De acuerdo con la invención, el almidón o los almidones hidroxietilados se proveen como compuestos terapéuticamente activos para el tratamiento del cáncer, caracterizado por la presencia de tumores en crecimiento, que en general son terapéuticamente eficaces para reducir la tasa de crecimiento de tumores, preferiblemente a la vez que no afectan a una célula de proliferación normal. En otro aspecto de la invención, una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado como ingrediente terapéuticamente activo, que resulta en una reducción de las tasas de crecimiento de los tumores, se da a conocer para el tratamiento del cáncer.

De acuerdo con la invención, el término "cáncer" se refiere a un trastorno o enfermedad proliferativa causada o caracterizada por la proliferación de células que han perdido susceptibilidad al control de crecimiento normal. El término abarca una enfermedad que se asocia con el crecimiento de tumores y cualquier otro trastorno proliferativo de las células. De acuerdo con la invención, el término tiene como fin incluir todas las condiciones patológicas que implican el crecimiento descontrolado de las células, independientemente del estadio o la capacidad de invasión.

55 En una realización, el cáncer puede estar localizado en un tejido u órgano específico (p. ej., en la mama, la próstata o el pulmón), y por lo tanto, puede no propagarse más allá del tejido de origen. En otra realización, el cáncer puede ser invasivo, por lo tanto puede haberse propagado más allá de la capa de tejido en donde se originó hacia los tejidos circundantes normales (frecuentemente también se lo denomina cáncer localmente avanzado). Los tipos de cáncer invasivos pueden o no ser metastásicos. En una realización preferida, el cáncer es metastásico. Un cáncer es metastásico si se ha propagado desde su ubicación original hacia partes del cuerpo distantes.

Asimismo, se entiende que el término cáncer describe todos los tipos de cáncer conocidos en la técnica.

El término "tumor" tiene como fin describir una acumulación de células que crecen de manera descontrolada, un tejido corporal que ha crecido o está creciendo en forma anormal, o una acumulación de células proliferativas. Los tumores pueden ser cancerosos (malignos) o no cancerosos (benignos). Una enfermedad proliferativa de las células usualmente resulta en la aparición de un tumor.

- 5 Una "composición farmacéutica" de acuerdo con la invención comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un HES, como se describe en la presente invención, que puede además ser sustituida, por ejemplo mediante la función hidroxilo unida en el resto alquilo, o en lugar de esta función hidroxilo, y preferiblemente de todos esos HES que se describen específica y explícitamente, incluido tio-HES.

10 La composición farmacéutica puede comprender formulaciones sólidas o líquidas de diferentes concentraciones. Las realizaciones diferentes que comprenden el almidón hidroxietilado o bien en sí mismo o como una composición farmacéutica se describen en más detalle a continuación: De acuerdo con la invención, el ingrediente activo, almidón hidroxietilado, se puede administrar por sí mismo, simplemente disuelto en una disolución electrolítica, o se puede usar en combinación con un excipiente farmacéutico. En general, el almidón hidroxietilado estará en forma sólida, la cual se puede combinar con un excipiente farmacéutico adecuado que puede estar en forma sólida o líquida. Como
15 excipientes, se pueden mencionar carbohidratos, sales inorgánicas, agentes antimicrobianos, antioxidantes, tensioactivos, tampones, ácidos, bases y sus combinaciones. Un carbohidrato tal como azúcar, un azúcar derivado tal como un alditol, ácido aldónico, un azúcar esterificado y/o un polímero de azúcar pueden estar presentes como excipientes. Los excipientes de carbohidratos específicos incluyen, por ejemplo: monosacáridos tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa y similares; disacáridos tales como lactosa, sacarosa, trehalosa, celobiosa y similares; polisacáridos tales como rafinosa, melezitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones y similares; y alditoles tales como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol, sorbitol (glucitol), piranosil sorbitol, mioinositol y similares. El excipiente puede además incluir una sal inorgánica o tampón como ácido cítrico, cloruro de sodio, cloruro de potasio, sulfato de sodio, nitrato de potasio, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico y sus combinaciones.

25 La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede además comprender un agente antimicrobiano para prevenir o determinar el crecimiento microbiano, como por ejemplo cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, alcohol bencílico, cloruro de cetilpiridinio, clorobutanol, fenol, alcohol feniletílico, nitrato fenilmercúrico, timersol y sus combinaciones.

30 La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede además comprender un antioxidante, como p. ej., ascorbil palmitato, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido hipofosfórico, monotioglicerol, propil galato, bisulfito sódico, formaldehído sulfoxilato sódico, metabisulfito sódico y sus combinaciones.

35 La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede además comprender un tensioactivo, como p. ej., polisorbatos o sorbitán ésteres plurónicos; lípidos como fosfolípidos y lecitina y otras fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas, ácidos y ésteres grasos; esteroides tales como colesterol; y agentes quelantes tales como EDTA o zinc.

40 La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede además comprender ácidos o bases tales como, p. ej., ácido clorhídrico, ácido acético, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico, ácido fórmico, ácido tricloroacético, ácido nítrico, ácido perclórico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido fumárico y sus combinaciones, y/o hidróxido sódico, acetato de potasio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, acetato de amonio, acetato de potasio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, citrato de sodio, formiato de sodio, sulfato de sodio, sulfato de potasio, fumarato de potasio y sus combinaciones. En general, el excipiente estará presente en una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención en una cantidad entre 0,001 y 99,999% en peso, preferiblemente entre 0,01 y 99,99% en peso, más preferiblemente entre 0,1 y 99,9% en peso, en cada caso en base al peso total de la composición farmacéutica.

45 En una realización preferida, las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención comprenden almidón hidroxietilado, como se describe en la presente invención, como el único ingrediente farmacéuticamente activo.

En otra realización preferida, la composición farmacéutica puede comprender otros ingredientes terapéuticamente eficaces, en donde HES es terapéuticamente activo contra el cáncer, reduciendo la tasa de crecimiento del tumor.

50 Las expresiones "tratar el cáncer" y "tratamiento del cáncer" hacen referencia a medidas terapéuticas, en donde el objeto es prevenir o demorar (aliviar) un cambio fisiológico o trastorno indeseado, como el crecimiento, el desarrollo o la propagación de una condición hiperproliferativa, como una enfermedad proliferativa de las células o una enfermedad neoplásica, la formación de un tumor benigno o maligno, o metástasis producidas a partir de allí, o cáncer. Para los propósitos de la presente invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, entre otros, alivio de los síntomas, disminución del grado de enfermedad, estado de enfermedad estabilizado (es decir,
55 que no empeora), demora o ralentización de la progresión de la enfermedad, mitigación o paliación del estado de enfermedad y remisión parcial o total. Las células de cáncer metastásicas usualmente se originan a partir de un tipo de célula descrito en la presente memoria, y la principal diferencia entre los tipos descritos aquí es que estas células

están ahora presentes en un tejido a partir del cual las células cancerosas no se desarrollaron originalmente. En consecuencia, si se menciona un tipo de cáncer, el término abarca su forma metastásica.

5 Se ha de entender que un tratamiento puede también estar destinado a prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Se ha de entender que un tratamiento puede también entenderse como prevención del cáncer o prevención del crecimiento de un tumor.

En una realización preferida, el tratamiento es eficaz para reducir la tasa de crecimiento de tumores que se originan de cánceres metastásicos.

10 Se contempla particularmente que la expresión "tratamiento del cáncer" de acuerdo con la invención comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos anteriormente mencionados en por lo menos uno de los efectos del grupo que consiste en reducir la cantidad de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir, demorar en algún grado y preferiblemente detener la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir, es decir, demorar en algún grado y preferiblemente detener las metástasis tumorales; inhibir, por lo menos en algún grado, el crecimiento del tumor; y aliviar en algún grado uno o más de los síntomas asociados con cáncer. Si una cantidad particular de los compuestos antes mencionados ejerce por lo menos uno o varios de estos efectos, es decir es farmacéuticamente eficaz, se puede determinar por medidas conocidas. Particularmente, se puede determinar evaluando la eficacia de la terapia del cáncer. La eficacia de la terapia del cáncer, p. ej., se puede evaluar determinando el tiempo hasta la progresión de la enfermedad, el aumento de la calidad de vida, y/o determinando la tasa de respuesta. Por consiguiente, la dosis requerida dependerá de la gravedad de la afección que se esté tratando, la respuesta individual del paciente, el método de administración utilizado, el tipo de cáncer, el tumor y similares. El experto en la técnica es capaz de establecer una dosis correcta en función de su conocimiento general. En general, la dosis puede además administrarse independientemente del estado de la enfermedad, ya que el producto se considera no tóxico y los límites a la dosis se consideran basados en la experiencia clínica actual (con, p. ej., disolución. Voluven® 10% de HES 130/0,4: 30 ml/kg/día y/o disolución Volulyte® 6% de HES 130/0,4: 50 ml/kg/día).

25 El término "administrar" tal como se emplea en la presente invención, preferiblemente, hace referencia a la introducción del almidón hidroxietilado de acuerdo con la invención, o a la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, en sujetos, como pacientes con cáncer. El término comprende métodos para administrar un compuesto particular por rutas de administración parenterales y enterales. Las rutas de administración parenterales se seleccionan del grupo que comprende administración intravascular, transmucosa, trans-/intradérmica, intramuscular (i.m.), intravenosa (i.v.), intradérmica, subcutánea (s.c.), intraperitoneal (i.p.), intraventricular, intracraneal, vaginal, nasal, intratumoral, intraósea, intratecal e intrapulmonar. Los métodos de administración enterales se seleccionan del grupo que comprende administración oral, nasal, sublingual y rectal, y administración por gavage (con sonda de alimentación), como gastrostomía endoscópica percutánea (sonda PEG) o sonda de alimentación por yeyunostomía percutánea (sonda PJG). Se ha de entender que la ruta de administración puede depender del cáncer que se ha de tratar.

De acuerdo con la invención, la ruta preferida de administración es la administración parenteral. Se prefiere además que dicha ruta parenteral sea una infusión, preferiblemente en un vaso sanguíneo. La ruta más preferida de administración es una ruta intravenosa. Preferiblemente, la administración de una sola dosis (bolo) de una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos antes mencionados se produce en un periodo de 5 min a 5 h.

40 Los almidones hidroxietilados para el tratamiento y la profilaxis de hipovolemia se encuentran en uso, también como infusiones i.v., desde hace muchos años y no exhiben efectos colaterales tóxicos. Las recomendaciones de dosis conocidas de dichos usos médicos especifican un límite superior debido a límites físicos solamente. Las disoluciones de "almidón hidroxietilado al 6% 130/0,4" en cloruro de sodio al 0,9% se pueden administrar en forma repetitiva durante varios días. En consecuencia, el paciente puede recibir infusiones continuas de HES para tratar el cáncer e inhibir la tasa de crecimiento del tumor.

En una realización preferida de acuerdo con la invención, la administración de la sustancia HES o de una composición farmacéutica que comprende HES se repite de acuerdo con los requerimientos del paciente.

En otra realización preferida, la sustancia terapéuticamente eficaz de acuerdo con la invención se administra en forma continua.

50 Preferiblemente, el almidón hidroxietilado se administra junto con un vehículo adecuado, y/o un diluyente adecuado, tal como preferiblemente una disolución estéril para aplicación i.v., i.m., i.p. o s.c. Se prefiere además que la ruta de administración comprenda una disolución líquida lista para usar del HES.

Se prefiere también que el HES de acuerdo con la invención esté contenido en un dispositivo farmacéuticamente aceptable. Se prefiere además que el HES se administre como disolución acuosa. Se prefiere además que la disolución acuosa se provea en un recipiente farmacéuticamente aceptable. Dicho dispositivo puede tener, por ejemplo, la forma de una jeringa, frasco o bolsa. El experto en la técnica podrá seleccionar un material adecuado. Por ejemplo, un frasco puede estar hecho de materiales de vidrio o plástico, y una bolsa puede estar hecha de materiales plásticos adecuados y/o autorizados para contener los fármacos. Preferiblemente, dicha disolución

acuosa puede ser provista en una bolsa farmacéuticamente aceptable, adecuada para contener los fármacos y/o para la administración i.v. al paciente. Se prefiere especialmente que dicha disolución sea provista en una bolsa plástica, como por ejemplo una bolsa freeflex.

5 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", tal como se emplea en la presente memoria, preferiblemente se refiere a una cantidad del almidón hidroxietilado definido en este documento, o a la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención que (a) reduce o inhibe la tasa de crecimiento del tumor, (b) trata el cáncer, o (c) atenúa, reduce o elimina el cáncer. También se ha de entender que la cantidad terapéuticamente eficaz previene la propagación del cáncer (metástasis), o previene la generación de cáncer o reduce la carga tumoral. Más preferiblemente, la expresión se refiere a la cantidad de la composición farmacéutica que comprende almidón hidroxietilado como el único ingrediente activo como se define en este documento, de acuerdo con la presente invención que (a) reduce o inhibe la tasa de crecimiento del tumor, (b) trata el cáncer, o (c) atenúa, reduce o elimina el cáncer.

15 El término "sujeto", tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a animales y, preferiblemente, a mamíferos. Más preferiblemente, el sujeto es un roedor tal como un ratón o una rata. Incluso más preferiblemente, el sujeto es un primate. Lo más preferiblemente, el sujeto es un ser humano. De acuerdo con la invención, se ha de entender que el término "sujeto" también se refiere a un individuo que sufre de cáncer o a un individuo que necesita tratamiento del cáncer. En una realización preferida de la invención, el término "sujeto" describe a un paciente con cáncer.

20 De acuerdo con la invención, el término "carcinoma" describe tipos de cáncer que surgen en el tejido epitelial, en la piel o en los tejidos que recubren o cubren los órganos internos. De acuerdo con la invención, el cáncer preferiblemente se selecciona del grupo que consiste en piel, pulmón, colon, páncreas y epitelio, carcinomas de células escamosas y basales, melanomas, papilomas y adenomas. Lo más preferiblemente, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en carcinoma de mama, carcinoma de próstata, carcinoma de pulmón y carcinoma renal.

25 De acuerdo con la invención, el término "sarcoma" describe tipos de cáncer que por lo general surgen de hueso, cartílago, grasa, músculo, vasos sanguíneos u otro tejido conjuntivo o de soporte. De acuerdo con la invención, el cáncer preferiblemente se selecciona del grupo que consiste en cáncer de hueso, cáncer de tejidos blandos, osteosarcoma, sarcoma sinovial, liposarcoma, angiosarcoma, rabdomyosarcoma, condrosarcoma y fibrosarcoma.

30 De acuerdo con la invención, el término "cáncer" también comprende tipos de cáncer que surgen en los tejidos del cerebro y la médula espinal. Preferiblemente, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en tumores de cerebro y médula espinal, gliomas, meningiomas, adenomas pituitarios, schwannomas vestibulares, linfomas primarios del SNC y tumores neuroectodérmicos primitivos.

La expresión "almidón hidroxietilado" abarca diversos almidones hidroxietilados, como se describirá en más detalle a continuación. Estos almidones hidroxietilados pueden además sustituirse.

35 El almidón hidroxietilado es un derivado de éter de almidones naturales parcialmente hidrolizados, en donde los grupos hidroxilo en el almidón se hidroxietilan adecuadamente.

La invención actual comprende un nuevo uso médico de los almidones hidroxietilados (HES) que son sustituidos con un residuo etilo que porta una función hidroxilo.

40 El almidón es un polisacárido de la fórmula $(C_6H_{10}O_5)_n$ compuesto sustancialmente por unidades de alfa-D-glucosa, acopladas mediante enlaces glucósido. En términos generales, el almidón consiste sustancialmente en amilosa y amilopectina. La amilosa está compuesta por cadenas lineales en donde las unidades de glucosa están unidas mediante enlaces alfa-1,4-glucosídicos. La amilopectina tiene una estructura altamente ramificada, con enlaces alfa-1,4-glucosídicos y alfa-1,6-glucosídicos.

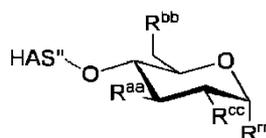
45 Los almidones naturales a partir de los cuales se pueden preparar almidones hidroxialquilados incluyen almidones de cereales, almidones de legumbres y almidones de patata. Los almidones de cereales incluyen almidones de arroz, almidones de trigo como almidones de escaña, almidones de espelta, almidones de trigo blando, almidones de farro, almidones de trigo duro o almidones de trigo oriental, almidones de maíz, almidones de centeno, almidones de avena, almidones de cebada, almidones de triticale y almidones de mijo como almidones de sorgo o almidones de teff. Los almidones de legumbres incluyen almidones de frijoles, almidones de guisantes, almidones de lentejas y almidones de lupinos. Los almidones naturales preferidos a partir de los cuales se preparan los almidones hidroxialquilados tienen un alto contenido de amilopectina en relación a amilosa. El contenido de amilopectina de estos almidones es, por ejemplo, por lo menos 70% en peso, preferiblemente por lo menos 75% en peso, más preferiblemente por lo menos 80% en peso, más preferiblemente por lo menos 85% en peso, más preferiblemente por lo menos 90% en peso, como hasta 95% en peso, hasta 96% en peso, hasta 97% en peso, hasta 98% en peso o hasta 99% en peso o hasta 100% en peso. Los almidones naturales que tienen un contenido de amilopectina especialmente alto son, por ejemplo, almidones de patata adecuados tales como almidones de patata cerosos, que preferiblemente se extraen de patatas sustancialmente libres de amilosa, que o bien se cultivan en forma tradicional, p. ej., la variedad natural Eliana, o son variedades de patatas de amilopectina genéticamente modificadas, y almidones de variedades cerosas de cereales tales como maíz ceroso o arroz ceroso.

En general, el almidón hidroxialquilado se prepara rompiendo los granos de almidón y escindiendo las macromoléculas para obtener moléculas con un tamaño deseado. La escisión se puede llevar a cabo, por ejemplo, por degradación enzimática, como por ejemplo usando alfa-amilasa y/o beta-amilasa, y/o mediante hidrólisis ácida. La purificación de las fracciones deseadas se puede lograr, por ejemplo, mediante ultrafiltración, usando membranas que tienen un límite de corte adecuado, que permite la separación de, por ejemplo, productos secundarios de bajo peso molecular, que tienen un peso molecular de hasta 5000 Da o hasta 1000 Da. Se pueden llevar a cabo dos o más etapas de escisión en serie, con la posibilidad de usar en cada etapa las mismas o distintas tecnologías de escisión. Después de cada etapa de escisión, el producto obtenido se puede purificar. El producto en última instancia se aísla, como por ejemplo liofilizando.

En base a las fracciones de almidón así obtenidas, se prepara almidón hidroxialquilado por eterificación de grupos hidroxilo. En general, se pueden contemplar todas las reacciones conocidas de la eterificación de alcoholes de bajo peso molecular, como las reacciones sin catalizador o con catalizadores básicos. Los métodos preferidos en los procedimientos técnicos incluyen la adición Michael de olefinas activadas, la síntesis Williams con sustitución nucleófila de compuestos que contienen halógeno alifático, o la reacción con oxiranos, también conocidos como epóxidos.

Con respecto a la preparación del almidón hidroxietilado, se hace referencia, por ejemplo, a Sommermeyer et al., *Chromatographia*, 25, 1988, pág. 167-168; C. Jungheinrich et al., *Clin. Pharmacokin.*, 44 (7), 2005, pág. 681-699; J.-M. Mishler IV, *Pharmacology of hydroxyethyl starches*, Oxford Medical Publications, 2002, pág. 1-30.

De acuerdo con la presente invención, el almidón hidroxietilado (HES) preferiblemente tiene una estructura de acuerdo con la siguiente fórmula (III)



(III)

en donde R^{aa} , R^{bb} y R^{cc} se seleccionan independientemente unos de otros del grupo que consiste en $-O-HES''$, y $-[O-CH_2-CH_2]_s-OH$, en donde s está en el intervalo de 0 a 4 y en donde HAS'' es el resto del almidón hidroxietilado y se abrevia con HES'' . El residuo R^{rr} es o bien $-O-HES''$ o, en caso de que la fórmula (III) exhiba la unidad de sacáridos terminal de HES, R^{rr} es $-OH$.

Como polímero, y debido a los procedimientos de preparación, el almidón hidroxietilado es un compuesto polidisperso en donde las moléculas de almidón hidroxietilado individuales pueden diferir con respecto al grado de polimerización, el número de los sitios de ramificación y el patrón de sustitución, es decir, el número y/o los sitios de los grupos hidroxietilados. En consecuencia, el almidón hidroxietilado usualmente se caracteriza por parámetros estadísticamente promediados. Estos son, en general, el peso molecular promedio y parámetros que caracterizan el patrón de sustitución. Estos últimos parámetros habitualmente se identifican como grado de sustitución (DS), sustitución molecular (MS) y relación C2/C6, es decir, la relación del número de unidades de anhidroglucosa sustituidas en la posición C2 al número de unidades de anhidroglucosa sustituidas en la posición C6, o la relación del M_w en relación al M_n (M_w/M_n), que usualmente se denomina PDI (índice de polidispersidad) y caracteriza la propagación de la distribución del peso molecular.

El almidón hidroxietilado se puede sustituir con grupos hidroxietilados no solamente en los sitios C2 y C6, sino también en el sitio C3, pero esta información por lo general se omite cuando se hace referencia a un tipo de HES específico.

El segundo parámetro que especifica un HES usualmente se refiere al grado de sustitución molecular MS y el tercer parámetro o bien se refiere a la relación de sustituciones en C2 frente a las sustituciones en C6 (relación C2/C6) o al PDI.

En términos generales, hay dos maneras de describir estadísticamente el peso molecular promedio del almidón hidroxietilado. El primer parámetro es el peso molecular promedio en número, comúnmente denominado M_n o M_n ; el segundo parámetro es el peso molecular promedio en peso, comúnmente denominado M_w o M_w .

El peso molecular se puede determinar, por ejemplo, mediante cromatografía de permeación en gel con detección de dispersión de luz de múltiples ángulos (GPC/MALLS/RI). Se hace referencia, por ejemplo, a W.-M. Kulicke et al., *Starch*, 45 (12), 1993, pág. 445-450. Alternativamente, el peso molecular se puede determinar usando flujo-FFF/MALLS, como por ejemplo de acuerdo con la Farmacopea Europea 7.0, 01/2011:1785, pág. 984 o con B. Wittgren et al., *Int. J. Polym. Anal. Charact.* 7 (1-2), 2002, pág. 19-40.

En este contexto, el peso molecular promedio en número se define con la ecuación 1:

$$\bar{M}_n = \frac{\sum_i n_i \cdot M_i}{\sum_i n_i}$$

(1)

en donde n_i es el número de moléculas de almidón hidroxietilado de las especies i que tienen masa molar M_i . \bar{M}_n indica que es un valor promedio, pero la línea típicamente se omite.

El peso molecular promedio en peso M_w se define mediante la siguiente ecuación:

$$\bar{M}_w = \frac{\sum_i n_i \cdot M_i^2}{\sum_i n_i M_i}$$

(2)

en donde n_i es el número de moléculas de almidón hidroxietilado de las especies i que tienen masa molar M_i . \bar{M}_w indica que es un valor promedio, pero la línea típicamente se omite.

En el contexto de la presente descripción, la expresión "peso molecular medio" se refiere al peso determinado por el método MALLS (dispersión de luz láser de múltiples ángulos)-GPC.

10 Los almidones hidroxietilados de acuerdo con la invención tienen un peso molecular medio (M_w o MW) que varía de tan solo aproximadamente 20 kDa a pesos moleculares medios de hasta 1300 kDa.

La relación de M_w en relación al M_n (M_w/M_n), que por lo general se denomina PDI, índice de polidispersidad, es un parámetro que caracteriza la propagación de la distribución de peso molecular. Cuanto más cerca esté este parámetro al valor 1, menos dispersa estará la distribución de peso molecular.

15 De acuerdo con la invención, los valores PDI típicos están en el intervalo de 4,0 a 1,1.

El patrón de sustitución se puede determinar cuantitativamente, por lo menos parcialmente, usando ^1H NMR o por un método más elaborado, mediante ^{13}C NMR de alta resolución. Se hace referencia a Y. M. Liu et al., Chin. Chem. Lett. 13 (11), 2002, pág. 1097-1099, y a W.-M. Kulicke et al., Starch, 45 (12), 1993, pág. 445-450. En general existen tres parámetros habituales que describen el grado de sustitución del almidón hidroxietilado.

20 El primer parámetro, que se identifica como "DS" (grado de sustitución), describe la relación del número de unidades de anhidroglucosa sustituidas al número total de todas las unidades de anhidroglucosa. En vista de esta definición, el valor máximo teórico de DS es 1,0.

25 El parámetro DS se puede determinar, por ejemplo, de acuerdo con W. Banks et al., Br. J. Pharmac., 47, 1973, pág. 172-178, O. Larm et al., Starch, 33 (7), 1981, pág. 240-244, o Sommermeyer et al., Starch, 44 (6), 1992, pág. 215-218.

El segundo parámetro, que típicamente se identifica como "MS" (sustitución molecular), describe la relación del número de residuos hidroxietilados (en moles) que se han añadido por hidroxietilación a las moléculas de glucosa de la macromolécula de almidón, en relación al número de monómeros de glucosa en la molécula.

30 Suponiendo que la etilación resulta en la adición de una sola unidad de etilo por función hidroxilo, el grado de sustitución molar indica en qué proporción de las tres unidades hidroxilo las unidades de glucosa en la molécula de almidón han sido sustituidas o reemplazadas por unidades hidroxietiladas. En la presente invención, un grado de sustitución de 1 equivale a una sustitución del 100% de uno de los tres grupos hidroxilo libres. Por ende, teóricamente el rango de sustitución podría variar entre 0,1 y 3, en donde tres indicó que las tres unidades hidroxilo estarían 100% sustituidas. Existe en el mercado una cantidad de tipos de HES diferentes, y sus grados de sustitución varían entre 35 0,3 y 2.

El parámetro MS se puede determinar de acuerdo con Ying-Che Lee et al., Anal. Chem. 55, 1983, pág. 334-338; o K. L. Hodges et al., Anal. Chem. 51, 1979, pág. 2171. De acuerdo con estos métodos, una cantidad conocida del almidón hidroxietilado se somete a una escisión de éter en xileno, con adición de ácido adípico y ácido yodhídrico.

La cantidad de yodoalcano liberada se determina posteriormente mediante cromatografía de gases, usando tolueno como estándar interno y disoluciones de calibración de yodoalcano como estándares externos.

5 El tercer parámetro, que se identifica como la relación C2/C6, describe la relación del número de unidades de anhidroglucosa sustituidas en la posición C2 al número de unidades de anhidroglucosa sustituidas en la posición C6. Durante la preparación del almidón hidroxietilado, la relación C2/C6 puede estar influenciada por la cantidad de base utilizada para la reacción de hidroxietilación. En términos generales, cuanto más alta sea la concentración de base, mayor será el número de grupos hidroxilo que se hidroxietilan en la posición C6.

El parámetro C2/C6 se puede determinar, por ejemplo, de acuerdo con Sommermeyer et al., *Krankenhauspharmazie* 8 (8), 1987, pág. 271-278, especialmente la página 273.

10 Por lo tanto, usualmente se describen diversos tipos de almidón hidroxietilado mediante un enunciado de su peso molecular promedio, expresado en kDa, su grado de sustitución molar (MS) y su grado de ramificación (C2/C6), o mediante una indicación de su polidispersidad (Mw/Mn).

15 La presente invención da a conocer un agente terapéutico fundamentalmente nuevo para el tratamiento del cáncer, que evita los efectos colaterales problemáticos asociados con la administración de otros agentes terapéuticos para el cáncer, especialmente agentes quimioterapéuticos como agentes citostáticos. En particular, los efectos colaterales tóxicos asociados con la administración de agentes quimioterapéuticos, indicados por una pérdida de peso corporal y caquexia, como respuesta al tratamiento drástico con agentes tóxicos celulares, se pueden evitar cuando se tratar el cáncer reduciendo las tasas de crecimiento del tumor con almidón hidroxietilado (HES).

20 La presente invención se refiere a HES para el tratamiento del cáncer. En otra realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende HES de acuerdo con la invención para el tratamiento del cáncer. En otra realización, la invención se refiere a métodos de tratamiento del cáncer que comprenden la administración de HES de acuerdo con la invención.

25 Se halló inesperadamente que la administración de HES a mamíferos que fueron inoculados con líneas de células tumorales, es decir, que padecían cáncer, redujeron sus síntomas, y se produjo una disminución significativa del crecimiento del tumor, sin afectar adversamente su salud o peso corporal. Se observó el efecto terapéutico con varias disoluciones de HES. La tabla 1 que sigue expone una serie de disoluciones de HES ensayadas, con parámetros específicos determinados para el tipo de HES utilizado en ámbitos experimentales con ratones inoculados:

30 Tabla 1:

"Nombre del tipo de HES" ejemplificado por Mw/Ms/PDI	Línea celular	Figura	Ejemplo
"HES 70/0.5" 66/0.57/2.3	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 7, Fig 8	5
"HES 100/0.1/2.0"	carcinoma de mama humano MT-3	no se exhibe	-
"HES 100/0.7/1.3" 103/0.7/1.3	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 11, Fig 12	5
"Voluven 10% 130/0,4" 105/0,4	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 4, Fig 2	1, 2
"HES 100/1,0/1,3" 84/1,0/1,3	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 4, Fig 2	1,2
"HES 100/1,0/1,3" 78/1,0/1,4	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 7, Fig 8	5
"HES 130/0,4" 105/0,4	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 7, Fig 8	5

"Nombre del tipo de HES" ejemplificado por Mw/Ms/PDI	Línea celular	Figura	Ejemplo
(disuelto en disolución salina)			
"HES 200/0,5" 195/0,46	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 9, Fig 10	5
"HES 450/0,7" 420/0,7	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 7, Fig 8	5
"HES 700/0,5" 618/0,5/2,2	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 9, Fig 10	5
"HES 700/0,7" 644/0,7/1,9	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 9, Fig 10	5
"HES 700/1,3" 728/1,3/1,6	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 9, Fig 10	5
"HES 900/0,4" 929/0,4/3,0	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 11, Fig 12	5
"HES 900/0,7" 1034/0,67/3,0	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 11, Fig 12	5
"HES 1300/0,7" 1406/0,7/4,4	carcinoma de mama humano MT-3	Fig 11, Fig 12	5
"Voluven 10% 130/0,4" 105/0,4	xenoinjerto de próstata PC3	Fig 5	4

Todos los almidones ensayados demostraron un efecto terapéutico que produce una reducción de la tasa de crecimiento del tumor, en comparación con la tasa de crecimiento de sujetos no tratados o de sujetos tratados con control de disolución salina solamente.

- 5 Sin desear estar influenciados por ninguna teoría, puede ser que los almidones hidroxietilados afecten la angiogénesis del tumor e inhiban su posterior crecimiento y la progresión del cáncer. La angiogénesis cumple una función crítica en el crecimiento y la propagación del cáncer. Los tumores dependen de una red de crecimiento de capilares, que proporciona oxígeno y nutrientes. Para que un tumor crezca es necesaria la formación de nuevos vasos sanguíneos. Sin la capacidad de generar nuevos vasos sanguíneos para el suministro de nutrientes, las neoplasias no angiogénicas permanecen con un tamaño clínicamente irrelevante y no causan síntomas, las células cancerosas no pueden invadir el tejido aledaño, moverse por el cuerpo ni formar nuevas colonias de células cancerosas, llamadas metástasis. Al inhibir la angiogénesis se logra la inactividad del tumor. En consecuencia, las terapias anti-angiogénicas intentan bloquear o reducir la circulación sanguínea del tumor, bloqueando o reduciendo su construcción de vasos sanguíneos. Es posible que la sustancia polimérica del HES bloquee los vasos sanguíneos recién formados e impida así que el tumor crezca y que el cáncer avance.

En una realización preferida, la presente invención se refiere a un almidón hidroxietilado y a una composición farmacéutica que comprende un HES de acuerdo con la invención para la reducción del tamaño de un tumor o su tasa de crecimiento.

- 20 Ventajosamente, se ha demostrado en los estudios realizados en el contexto de la presente invención que el almidón hidroxietilado o la composición farmacéutica que comprende dicho almidón hidroxietilado no es tóxico y prácticamente no desencadena efectos colaterales cuando se administra por vía intravenosa, lo cual representa una gran ventaja en comparación con un agente citotóxico. No resulta en una reducción del peso corporal tal como los agentes citotóxicos habitualmente utilizados, como por ejemplo docetaxel (Taxotere®). Por consiguiente, mientras que la dosis máx. de un agente citotóxico convencional es limitada por sus efectos colaterales intensamente tóxicos, un paciente puede recibir dosis repetidas e infusión continua de los almidones hidroxietilados a diario.

Se prefiere que el almidón hidroxietilado tenga un peso molecular medio MW de más de 20 kDa, preferiblemente más de 40 kDa e incluso más preferiblemente un MW de más de 65 kDa. Preferiblemente, el MW tampoco es mayor que 1300 kDa. Más preferiblemente, el MW oscila entre 75 y 1200 kDa, y más preferiblemente entre 90 y 800 kDa.

5 En una realización, el almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la invención tiene un grado de sustitución molar MS del HES en el intervalo de 0,1 a 1,5. Las realizaciones preferidas comprenden intervalos particulares de valores de sustituciones molares de 0,15 a 1,5, 0,2 a 1,5, 0,3 a 1,5, 0,4 a 1,5, 0,5 a 1,5, 0,6 a 1,5, 0,7 a 1,5, 0,75 a 1,5, más preferiblemente en el intervalo de 0,1 a 1,3, 0,1 a 1,0, 0,1 a 0,8, 0,1 a 0,6 y 0,1 a 0,5 y además preferiblemente en el intervalo de 0,90 a 1,4, tal como 0,90, 0,95, 1,0, 1,05, 1,1, 1,15, 1,2, 1,25, 1,3, 1,35 o 1,4. Un intervalo particularmente preferido es 0,1 a 1,0, más preferiblemente 0,1 a 0,6, más preferiblemente 0,25 a 0,55.

10 De acuerdo con una realización especialmente preferida, el derivado de almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio MW en el intervalo de 80 a 1200 kDa y una MS en el intervalo de 0,1 a 1,5. Las realizaciones preferidas comprenden intervalos particulares de valores de sustituciones molares de 0,15 a 1,45, 0,3 a 1,45, 0,45 a 1,45, 0,6 a 1,45, 0,7 a 1,45, 0,75 a 1,45, más preferiblemente en el intervalo de 0,1 a 0,5 y preferiblemente en el intervalo de 0,90 a 1,4, tal como 0,90, 0,95, 1,0, 1,05, 1,1, 1,15, 1,2, 1,25, 1,3, 1,35 o 1,4, más preferiblemente una sustitución molar MS en el intervalo de 0,1 a 1,30, o 0,1 a 0,5.

15 En una realización especialmente preferida, el derivado de almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio MW en el intervalo de 30 a 700 kDa y una sustitución molar en el intervalo de 0,1 a 0,7; más preferiblemente un peso molecular medio MW en el intervalo de 80 a 700 kDa y una MS en el intervalo de 0,1 a 0,7.

20 En una realización, la relación C2/C6 de HES oscila entre 0,5 y 20, más preferiblemente entre 2 y 20, 18, 2 y 17, 2 y 14, 2 y 12, 2 y 10, 2 y 8, 2 y 6, 2 y 5, o 2 y 4. En otra realización preferida, dicha sustitución C2/C6 oscila entre 4 y 12, 6 y 12, 7 y 12, o preferiblemente entre 7 y 10, más preferiblemente entre 8 y 9. En otra realización preferida, dicha sustitución C2/C6 oscila entre 4 y 6, más preferiblemente es 5,7.

25 En una realización preferida, el índice de polidispersión PDI oscila entre 1,1 y 4,0, más preferiblemente oscila entre 1,1 y 3,5, 1,1 y 3, 1,1 y 2,5, 1,1 y 2, 1,1 y 1,5, 1,1 y 1,4, 1,1 y 1,3 y 1,1 y 1,2. En otra realización preferida, el PDI oscila entre 1,2 y 4, 1,35 y 4, 1,5 y 4, 1,7 y 4, 1,8 y 4, 1,9 y 4, 2 y 4, 2,5 y 4 o 2 y 4, o 1,4 y 3,0,

Se considera que todos estos intervalos comprenden valores que difieren de los números precisos en aproximadamente un décimo de su valor número.

Preferiblemente, el almidón hidroxietilado, como se describió anteriormente, tiene un peso molecular medio MW (peso medio) por encima del umbral renal.

30 En otra realización preferida, el almidón hidroxietilado de acuerdo con la invención, como se describió anteriormente, tiene un peso molecular medio MW (peso medio) por debajo del umbral renal.

El umbral renal se determina de acuerdo con el método descrito por Waitzinger et al. (Clin. Drug Invest. 1998; 16: 151-160) y revisado por Jungheinrich et al. (Clin. Pharmacokinet. 2006; 44(7): 681-699). Preferiblemente, el umbral renal se ilustra para definir un peso molecular medio MW igual o superior a 40 kDa o 45 kDa o 60 kDa o 65kDa.

35 A continuación, las estructuras de almidón hidroxietilado se describen en más detalle, mediante varias realizaciones preferidas diferentes de la clase de HES descrita.

40 En una realización preferida, el almidón hidroxietilado es un almidón hidroxietilado conocido con el nombre "HES 130/0,4". A pesar del nombre "HES 130/0,4", es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 105 kDa, de acuerdo con una medición estándar y un método de calibración descritos en la Farmacopea Europea 7.0, 01/2011:1785, pág. 984, con un grado de sustitución molar en el intervalo de 0,38—0,45, un grado de sustitución molar media de 0,4. Su relación C2/C6 oscila entre 8,0 y 12,0. Su PDI es aproximadamente 2, es decir entre 1,7 y 2,3. Se comercializa, por ejemplo, como disolución al 10% en 0,9% NaCl, con la marca registrada Voluven®. La diferencia entre el valor del MW 130 de la especificación públicamente conocida de "HES 130/0,4" y la especificación enmendada a HES 105/0,4 resulta de un cambio en la calibración del método utilizado para determinar el Mw del HES. Mientras que anteriormente la determinación se realizaba de acuerdo con Sommermeyer et al. (Krankenhauspharmazie, 8, 1987, 08, pág. 271-278), el valor enmendado (Mw 105) se ha determinado de acuerdo con la calibración descrita en la Farmacopea Europea 7.0, 01/2011:1785, pág. 984. La diferencia en el método es el valor del valor de dispersión de luz dn/dc, en donde en el método de Sommermeyer se utiliza un valor dn/dc de 0,135, el cual se modifica a 0,147±0,001 en el "método de la Farmacopea".

50 Otra realización preferida de acuerdo con la invención es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 100/1,0/1,3". Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 100 kDa, determinado según Sommermeyer et al.; y con un peso molecular medio de aproximadamente 84 kDa (75-93 kDa), determinado según la Farmacopea Europea 7.0, 01/2011:1785, pág. 984; y un grado de sustitución molar de 1,0±0,05. Su relación C2/C6 es 5,0 – 6,0 o preferiblemente 5,7, el PDI es 1,3±0,1.

ES 2 698 948 T3

5 A menudo, el nombre indicado entre comillas, como "HES 200/0,5" se refiere a la medición antigua, pero se explica en este documento, qué valores Mw se generarán si se mide de acuerdo con la Farmacopea Europea (como se mencionó anteriormente). Los valores Mw en la solicitud (que no son parte del "nombre") se refieren a aquellos determinados de acuerdo con la Farmacopea Europea 7.0, 01/2011:1785, pág. 984 con el método de calibración definido allí usando un valor dn/dc de 0,147-0,149, a menos que se mencione concretamente algo distinto.

En otra realización especialmente preferida de acuerdo con la invención, dicho "HES 100/1,0/1,3" se especifica además mediante una o más de las propiedades enumeradas en la Tabla 2 que especifica el lote de "HES 100/1,0/1,3" como se usa en los ejemplos 1 y 2.

Tabla 2:

Parámetro de prueba	Propiedades medidas del "HES 100/1,0/1,3" utilizado en el Ejemplo 2
Aspecto	Sólido
Color	Amarillento
Absorción 400 nm/1cm	0,007
Mw	84 kDa +/- 8,4 kDa
Mw de 10% de la fracción más pequeña	31,700 Da
Mw de 10% de la fracción más grande	177,567 Da
Mn	64,883 Da
Mw/Mn (PDI)	1,29
MS	0,99
C2/C6	5,7

10

En el Ejemplo 5, se ha empleado otro lote del llamado "HES 100/1,0/1,3", como se define en esta tabla 3:

Tabla 3:

Parámetro de prueba	Propiedades medidas del "HES 100/1,0/1,3" utilizado en el Ejemplo 5
Aspecto	Sólido
Color	Amarillento
Absorción 400 nm/1cm	0,007
Mw	78,4 kDa
Mw de 10% de la fracción más pequeña	24,977 Da
Mw de 10% de la fracción más grande	178,700 Da
Mn	55,993 Da
Mw/Mn (PDI)	1,40

ES 2 698 948 T3

Parámetro de prueba	Propiedades medidas del "HES 100/1,0/1,3" utilizado en el Ejemplo 5
MS	1,02
C2/C6	5,6

Otra realización es el almidón hidroxietilado conocido como "HES 70/0,4/1,8" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 70 kDa, un grado de sustitución molar de 0,4 y un PDI de 1,8.

- 5 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 70/0,5" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 70 kDa, un grado de sustitución molar de 0,5.

Otra realización es un almidón hidroxietilado HES 100/0.1/2,0 para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 100 kDa, un grado de sustitución molar de 0.1 y un PDI de 2,0.

- 10 Otra realización es un almidón hidroxietilado llamado "HES 100/0,1/2,0" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 130 kDa, un grado de sustitución molar de 0,1 y un PDI de 2,0.

Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 100/0,7/1,3" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 100 kDa, un grado de sustitución molar de 0,7 y un PDI de 1,3.

- 15 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 100/1,0/1,1" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 100 kDa, un grado de sustitución molar de 1,0 y un PDI de 1,1.

- 20 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 150/0,7/1,3" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 150 kDa, un grado de sustitución molar de 0,7 y un PDI de 1,3.

Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 150/1,0/1,3" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 150 kDa, un grado de sustitución molar de 1,0 y un PDI de 1,3.

- 25 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "Viastarch" con un peso molecular medio de: Mw 150--300 kDa, un grado de sustitución molar MS de 0,40—0,50, que además se caracteriza por un Mw de la fracción 10% más baja ≥ 25 kDa, Mw de la fracción 10% más alta ≤ 2000 kDa, que puede además denominarse "HES 180/0,45", para el tratamiento del cáncer.

- 30 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 200/0,5" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 200 kDa, que además se caracteriza por un Mw 170-290, y un grado de sustitución molar de 0,43 a 0,55. Este HES puede además caracterizarse por un Mw de 10% de la fracción más baja > 15 kDa, y Mw de 10% de la fracción más alta < 600 kDa.

- 35 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "Pentastarch" con un peso molecular medio de: Mw 200-300 kDa, y un MS de 0,40-0,50; que además se caracteriza por un Mw de 10% de la fracción más baja ≥ 15 kDa, un Mw de 10% de la fracción más alta ≤ 1500 kDa, que puede denominarse "HES 250/0,45", para el tratamiento del cáncer.

Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 300/1,0/1,3" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 250+/-17kDa (o 300 kDa según Sommermeyer et al.), un grado de sustitución molar de 1,0+/-0,05 y un PDI de 1,3+/-0,1.

- 40 Otra realización es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 300 kDa, un grado de sustitución Ds de menos de 0,4 como se describe en el documento WO 00/48637, para el tratamiento del cáncer.

Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 450/0,7" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 450 kDa (Mw 400--500 kDa), que puede además especificarse con un Mw de 10% de la fracción más baja ≥ 25 kDa, y un Mw de 10% de la fracción más alta ≤ 3000 kDa; y un grado de sustitución molar de 0,7 (MS 0,65—0,75).

- 45 Otra realización es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 500 kDa según el método de Sommermeyer et al. y un grado de sustitución molar de 0,28 y una relación C2/C6 de 8,7 descrita y de acuerdo con

la patente estadounidense 5.502.043 "Use of hydroxyethyl starch for improvement of microcirculation" para Weidler et al., en el ejemplo 3, para el tratamiento del cáncer.

5 Otra realización es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 500 kDa y un grado de sustitución molar MS entre 0,25 y 0,5 y una relación C2/C6 de 2 a menos de 8 descrita y de acuerdo con la patente europea EP1732953B (reivindicación 1), para el tratamiento del cáncer.

Otra realización es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 600 kDa y un grado de sustitución molar de 0,5 descrito y de acuerdo con la patente europea EP0402724B de Fresenius AG para el tratamiento del cáncer.

10 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 700/0,5/2,5" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 600+/- 40 kDa (o 700 kDa según Sommermeyer et al.), un grado de sustitución molar de 0,5+/-0,05 y un PDI de 2,5.

Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "Hetastarch", con un peso molecular medio de: Mw 550-800 kDa, MS 0.70--0.80, un Mw de 10% de la fracción más baja ≥ 13 kDa, Mw de 10% de la fracción más alta ≤ 4000 kDa; que se puede describir como "HES 700/0,7" para el tratamiento del cáncer.

15 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 700/0,7/2,0" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 600+/- 40 kDa (o 700 kDa de acuerdo con Sommermeyer et al.), un grado de sustitución molar de 0,7+/-0,05 y un PDI de 2,0.

20 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 700/1,0/1,5" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 600+/- 40 kDa (o 700 kDa de acuerdo con Sommermeyer et al.), un grado de sustitución molar de 1,0+/-0,05 y un PDI de 1,5.

Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 700/1,3/1,5" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 600+/-40 kDa (o 700 kDa de acuerdo con Sommermeyer et al.), un grado de sustitución molar de 1,3+/-0.05 y un PDI de 1,6+/-0,1.

25 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 60/1,3/1,3" para el tratamiento del cáncer. Es un almidón hidroxietilado con un peso molecular medio de 50+/-5 kDa (o 60 kDa de acuerdo con Sommermeyer et al.), un grado de sustitución molar de 1,3+/-0,05 y un PDI de 1,3+/-0,1.

Otra realización es un almidón hidroxietilado de peso molecular medio Mw de 1000 kDa y un grado de sustitución Ds entre 4 y 10, como se describe en la patente de Estados Unidos 6.680.305, para el tratamiento del cáncer.

30 Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido como "HES 70000", también denominado "HES 70/0,55" con un peso molecular medio Mw de 60 - 80 kDa para el tratamiento del cáncer. Preferiblemente, tiene una MS de 0,55-0,61. Preferiblemente, tiene un PDI de 2,3 +/-0,1.

Otra realización es un almidón hidroxietilado conocido de un peso molecular medio Mw de 70 kDa y una relación C2/C6 entre 2 y 8 para el tratamiento del cáncer, como se describe y de acuerdo con A.N. Belder y B. Norman en Carbohydrate Research, Vol 10, 1969, pág. 391-394.

35 El método para tratar a un sujeto que padece un tumor con un HES de acuerdo con la invención es una realización preferida de la invención. Se prefiere que el método comprenda una etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho HES a dicho sujeto.

40 Otra realización preferida es una composición farmacéutica que comprende HES de acuerdo con la invención como se describe en este documento, en donde el HES es en sí mismo terapéuticamente activo para reducir la tasa de crecimiento del tumor. Se prefiere que dicho HES sea allí el único ingrediente terapéuticamente activo.

En una realización preferida, la actividad terapéutica de HES resulta en un efecto inhibitor de la actividad proliferativa de las células tumorales, en donde el HES reduce la tasa de proliferación de las células tumorales. Esto se basa en las observaciones que se realizaron cuando se comparó el tejido tumoral de ratones tratados y no tratados.

45 Después de sacrificar a los ratones en los estudios descritos, por ejemplo, en el Ejemplo 5, se extirpó el tejido tumoral del cadáver y se efectuó un análisis para comparar el efecto del HES administrado a los ratones con tumores sobre la necrosis intratumoral, el número de figuras mitóticas, índice Ki67 e intensidad de tinción de CD31 en un modelo de tumor murino.

50 Se analizaron 48 preparaciones de tumores diferentes con un ensayo estándar basado en la tinción de células positivas KI. Además, se efectuó una "tinción CD31" para determinar la densidad del estroma tumoral. Debido a las dificultades técnicas solamente fue posible analizar un conjunto limitado de muestras con esta última tinción, pero en todas las muestras ensayadas la densidad pareció ser similar.

- En síntesis, la comparación de los tejidos tumorales del grupo A, de los ratones tratados con disolución salina solamente, con el grupo V, de los ratones tratados con Voluven 10%, reveló una reducción del número de figuras mitóticas en el grupo V, que es indicativa de una menor actividad proliferativa de células tumorales en el grupo V. Los tumores del grupo V también contuvieron ligeramente más necrosis que los tumores del grupo A. No se identificaron diferencias obvias entre el grupo A y el grupo V usando un índice Ki67 semicuantitativo para analizar el porcentaje de células tumorales proliferativas y una tinción CD31 para analizar la densidad de los vasos intratumorales.
- En consecuencia, podría demostrarse que las disoluciones de HES tienen un efecto directo sobre la tasa de proliferación de células tumorales, que se reduce en células de tejido tumoral tratado con HES, mientras que el tratamiento con disoluciones de HES no afecta a las células de proliferación normal en tejidos sanos.
- En consecuencia, sin desear estar influenciados por una teoría, asumimos que el tratamiento con HES produce una reducción de la tasa de crecimiento del tumor por inhibición o desaceleración de la tasa de proliferación celular de las células tumorales, causada por una reducción del número de células tumorales en mitosis (que se refiere a la disminución del número de células tumorales duplicadas). Los datos indican que la actividad mitótica de las células tumorales se reduce.
- En una realización de la invención, HES es terapéuticamente activo para reducir la tasa de crecimiento del tumor, reduciendo o inhibiendo la tasa de proliferación o deteniendo el ciclo mitótico de las células tumorales o de las células proliferativas sin control fisiológico. Cabe destacar que el HES no reduce la tasa de proliferación de células no tumorales o células de proliferación normal.
- En una realización de la invención, el HES es terapéuticamente activo para reducir la tasa de crecimiento del tumor, deteniendo las células tumorales en el ciclo mitótico.
- En una realización preferida de acuerdo con la invención, el cáncer se selecciona del grupo de tumores sólidos que se originan en órganos o tejidos sólidos. Se prefiere que el grupo de tumores sólidos no comprenda tumores de cabeza y cuello.
- Se prefiere también que el grupo de tumores no comprenda cáncer de ovario o vejiga.
- En una realización preferida de acuerdo con la invención, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer biliar, cáncer de mama, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer gastrointestinal, melanoma maligno, mesotelioma, cáncer pancreático, cáncer de próstata, sarcoma, cáncer tiroideo, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de pulmón de células pequeñas.
- Se prefiere especialmente que el cáncer se seleccione del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de próstata y cáncer de pulmón de células pequeñas y de células no pequeñas.
- En una realización de la invención, el cáncer es cáncer de mama.
- En una realización, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer gastrointestinal y cáncer de riñón.
- En una realización, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas.
- En una realización, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata y cáncer renal.
- En una realización, el cáncer es cáncer cervicouterino.
- En una realización, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer pancreático y cáncer biliar.
- En una realización, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en sarcoma, mesotelioma y melanoma maligno.
- En una realización de acuerdo con la invención, el tumor ha sido causado por un cáncer de próstata.
- En otra realización preferida de acuerdo con la invención, el tumor ha sido causado por un cáncer seleccionado del grupo que consiste en carcinoma. Se prefiere especialmente que el tumor haya sido causado por un carcinoma de próstata, un carcinoma de mama, un carcinoma pulmonar o un carcinoma renal.
- Se prefiere especialmente que dicho carcinoma se seleccione del grupo que consiste en carcinoma de piel, pulmón, colon, melanoma y ovario.
- En otra realización preferida de la invención, el tumor se asocia con un cáncer seleccionado del grupo que consiste en sarcoma.
- En otra realización preferida de la invención, el tumor se asocia con un cáncer seleccionado del grupo que consiste en los tipos de cáncer que se originan en los tejidos del cerebro y la médula espinal.

Se prefiere especialmente que el tumor que se ha de tratar con HES se defina como un "tumor de rápido crecimiento".

La expresión "tumor de rápido crecimiento" se caracteriza por exhibir un tiempo de duplicación del volumen del tumor en un modelo de ratón de menos de o igual a 4 días. El tiempo de duplicación del volumen del tumor (DT) se define como el intervalo de tiempo (en días) requerido para que un grupo de ratones alcance una mediana de RTV (volumen relativo del tumor) de 200% del volumen del tumor inicial (normalmente de 100-200 mm³). El tiempo de duplicación del volumen del tumor es un parámetro establecido para la cuantificación de la proliferación del tumor. El tiempo de duplicación del volumen del tumor para un tumor determinado puede variar hasta algún grado entre los experimentos, motivo por el cual un tumor se clasifica como de rápido crecimiento cuando tiene una mediana del tiempo de duplicación (en un modelo de ratón) entre 1 y 4 (+/-0,4) días. Un tumor se clasifica como de lento crecimiento cuando tiene una mediana del tiempo de duplicación (en un modelo de ratón) de más de 6 (+/-0,6) días. Los ejemplos de xenoinjertos de tumores de rápido crecimiento son LXFE 397 y RXF 2178.

Se prefiere especialmente que el tumor se seleccione del grupo de tumores de rápido crecimiento de tumores sólidos que se originan en órganos o tejidos sólidos.

Se prefiere más que el tumor se seleccione de los grupos de carcinomas de rápido crecimiento.

Se prefiere incluso más que el tumor de rápido crecimiento derive de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer biliar, cáncer de mama, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer gastrointestinal, melanoma maligno, mesotelioma, cáncer pancreático, cáncer de próstata, cáncer renal, sarcoma, cáncer de tiroides, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de pulmón de células pequeñas.

En una realización, el efecto terapéutico de HES, o el tratamiento se caracteriza además como un tratamiento del cáncer en donde no se observan efectos colaterales tóxicos o se observa significativamente menos en el paciente tratado cuando se administran citostáticos. El efecto del tratamiento con HES consiste por lo tanto en reducir la tasa de crecimiento del tumor, a la vez que no se genera un empeoramiento del estado de salud general.

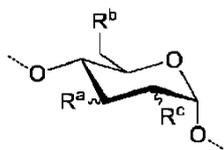
Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso del almidón hidroxietilado, o la composición farmacéutica, de acuerdo con la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el almidón hidroxietilado es el ingrediente terapéuticamente activo.

Finalmente, la presente invención también se refiere a un método de tratamiento de un sujeto que lo necesita, que comprende una etapa de administrar almidón hidroxietilado, como el ingrediente terapéuticamente activo, a un sujeto que lo necesita, que resulta en el cese o la inhibición de la progresión del cáncer, preferiblemente que resulta en una reducción del tamaño del tumor o una reducción de la tasa de crecimiento del tumor. Se prefiere que el método comprenda una etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho HES a dicho sujeto. Los métodos de tratamiento de acuerdo con la invención se pueden dirigir a todos los tipos de cáncer de la presente memoria, y el HES administrado puede comprender todos los tipos de HES descritos en la presente memoria.

Se describen las siguientes realizaciones especialmente preferidas:

1. Un almidón hidroxietilado (HES), como compuesto terapéuticamente activo, para el tratamiento del cáncer, caracterizado como un cáncer que comprende un tumor creciente, en donde la administración de HES resulta en una reducción de las tasas de crecimiento de los tumores, o un almidón hidroxietilado (HES), como compuesto terapéuticamente activo, para reducir las tasas de crecimiento de los tumores.

2. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 1, en donde el almidón hidroxietilado comprende por lo menos una unidad estructural de acuerdo con la siguiente fórmula (I)



(I)

en donde R^a, R^b y R^c se seleccionan independientemente unos de otros del grupo que consiste en -O-HESⁿ, -[O-(CR^wR^x)-(CR^yR^z)]_x-OH, -[O-(CR^wR^x)-(CR^yR^z)]_y-XH, en donde R^w, R^x, R^y y R^z se seleccionan independientemente unos de otros del grupo que consiste en hidrógeno y etilo, y es un número entero en el intervalo de 0 a 20, preferiblemente en el intervalo de 0 a 4, y x es un número entero en el intervalo de 0 a 20, preferiblemente en el intervalo de 0 a 4, y en donde por lo menos uno de R^a, R^b y R^c es -[O-(CR^wR^x)-(CR^yR^z)]_y-XH y en donde X se selecciona del grupo que consiste en -S- y -O-.

3. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 1, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio Mw entre 20 y 1300 kDa.

4. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 1, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w entre 40 y 1300 kDa.
5. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 1, en donde el almidón hidroxialquilado tiene un peso molecular medio M_w entre 65 y 1300 kDa.
- 5 6. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 1, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w entre 70 y 1200 kDa.
7. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 1, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w entre 75 y 800 kDa.
- 10 8. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 1, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w entre 90 y 800 kDa.
9. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w entre 100 y 700 kDa.
10. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w entre 100 y 110 kDa.
- 15 11. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w por encima del umbral renal.
12. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 1 o 2, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w por debajo del umbral renal.
- 20 13. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el almidón hidroxietilado tiene una sustitución molecular MS entre 0,1 y 1,5.
14. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el almidón hidroxietilado tiene una sustitución molecular MS entre 0,1 y 1,3.
15. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el almidón hidroxietilado tiene una sustitución molecular MS entre 0,1 y 1,1.
- 25 16. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el almidón hidroxietilado tiene una sustitución molecular MS entre 0,1 y 0,9.
17. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el almidón hidroxietilado tiene una sustitución molecular MS entre 0,3 y 0,8.
- 30 18. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el almidón hidroxietilado tiene una sustitución molecular MS entre 0,3 y 0,7.
19. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 7, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio entre 80 y 230 kDa y una sustitución molecular MS entre 0,3 y 0,6.
20. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 10, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio de 100 a 110 kDa y una sustitución molecular MS entre 0,3 y 0,5.
- 35 21. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 19, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio entre 150 y 200 kDa y una sustitución molecular MS entre 0,4 y 0,5.
22. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 21, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio de 105 kDa y una sustitución molecular MS de 0,4, preferiblemente una MS de 0,42+/-0,05.
- 40 23. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 9 en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio entre 400 y 700 kDa y una sustitución molecular MS entre 0,6 y 0,8.
25. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el HES se provee como una disolución acuosa y se rellena en un envase adecuado para uso clínico, en donde un envase preferido para uso clínico es un frasco o una bolsa o cualquier otro envase de vidrio o de tipos de materiales plásticos autorizados para contener fármacos.
- 45 26. Un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores en donde el tratamiento se caracteriza por inhibir el crecimiento del tumor o reducir las tasas de crecimiento del tumor o el tamaño del tumor.

27. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 26, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en tumores sólidos, que son tumores que se originan en tejidos sólidos.
- 5 29. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 26, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en tipos de cáncer que se originan en la piel o en los tejidos que recubren o cubren los órganos internos, como carcinomas de piel, pulmón, colon, páncreas, ovarios, epitelio, carcinomas de células escamosas y basales, melanomas, papilomas y adenomas.
30. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 26, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer óseo, cáncer de tejido blando, osteosarcoma, sarcoma sinovial, condrosarcoma, liposarcoma, angiosarcoma, rhabdomioma y fibrosarcoma.
- 10 31. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 26, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en tumores de cerebro y médula espinal, gliomas, meningiomas, adenomas pituitarios, schwannomas vestibulares, linfomas primarios del SNC y tumores neuroectodérmicos.
- 15 32. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 26, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer biliar, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer gastrointestinal, melanoma maligno, mesotelioma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de próstata, sarcoma y cáncer de pulmón de células pequeñas.
33. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con la realización 32, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de pulmón de células pequeñas.
- 20 34. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con la realización 32, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de pulmón de células pequeñas.
35. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el cáncer se caracteriza por presentar un tipo de tumor, caracterizado por una mediana del tiempo de duplicación debajo de 6 días, o más preferiblemente de menos o igual a 4 días.
- 25 36. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con la realización 35, en donde el tiempo de duplicación se determina en un modelo de ratón adecuado para determinar las tasas de crecimiento del cáncer, preferiblemente en un modelo de ratón como se describe en el ejemplo 6.
- 30 37. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 26, en donde HES es el único componente terapéuticamente activo para el tratamiento del cáncer, caracterizada por reducir la tasa de crecimiento de tumores.
38. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado (HES) de acuerdo con la realización 37, caracterizada porque está contenida en un recipiente adecuado, preferiblemente hecho de material de vidrio o plástico, preferiblemente el HES se provee allí como una disolución acuosa.
- 35 39. Uso de un almidón hidroxietilado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 26 o una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 37 o 38 para la fabricación de un medicamento, en donde HES es el único componente terapéuticamente activo para el tratamiento del cáncer, caracterizado porque reduce la tasa de crecimiento de tumores.
- 40 40. Uso de un almidón hidroxietilado de acuerdo con la realización 39, en donde el cáncer se selecciona del grupo de acuerdo con la realización 27, o del grupo de acuerdo con la realización 28, o del grupo de acuerdo con la realización 29, o de acuerdo con la realización 30, o de acuerdo con la realización 31, o de acuerdo con la realización 32, o del grupo de acuerdo con la realización 33 o de acuerdo con la realización 34, o de acuerdo con la realización 35, o de acuerdo con la realización 36.
- 45 41. Un método para tratar a un sujeto que padece cáncer, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un almidón hidroxietilado de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 26, o una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 37, inhibiendo así la progresión del cáncer, preferiblemente reduciendo la tasa de crecimiento del tumor, o más preferiblemente inhibiendo la tasa de proliferación de las células tumorales, deteniendo el ciclo celular mitótico de la célula tumoral.
- 50 42. El método según la realización 39, en donde el paciente sufre de un cáncer que se selecciona del grupo de acuerdo con la realización 27, o del grupo de acuerdo con la realización 28, o del grupo de acuerdo con la realización 29, o de acuerdo con la realización 30, o de acuerdo con la realización 31, o de acuerdo con la realización 32, o de acuerdo con la realización 33, 34, 35 o 36.
43. Un método para prevenir o tratar cáncer o una enfermedad metastásica en un sujeto, en donde dicho método comprende administrar una cantidad del HES de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 36 o una

composición farmacéutica de acuerdo con la realización 37 por un tiempo y bajo condiciones suficiente para disminuir uno o más efectos adversos del cáncer en un sujeto.

44. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 26 para el tratamiento de distintos tipos de cáncer, en donde dichos tipos de cáncer se caracterizan de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 27 a 36, en donde el tratamiento se caracteriza por ser eficaz por reducir la tasa de crecimiento del tumor, reduciendo o inhibiendo la tasa de proliferación de las células tumorales.

45. Un almidón hidroxietilado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 26 para el tratamiento de distintos tipos de cáncer, en donde dichos tipos de cáncer se caracterizan de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 27 a 36, en donde el tratamiento se caracteriza por ser eficaz para reducir la tasa de crecimiento del tumor, deteniendo el ciclo celular mitótico de las células tumorales.

Descripción de las figuras:

Figura 1:

La Figura 1 muestra el desarrollo del peso corporal de ratones inoculados con células tumorales MT-3 con el transcurso del tiempo, según se observa en el Ejemplo 2. Los valores en el eje Y indican el peso corporal en gramos, los valores en el eje X indican el tiempo en días después de la inoculación de las células tumorales. Las sustancias se indican mediante los siguientes símbolos: El cuadrado pequeño se utiliza cuando se administró disolución salina (NaCl) a los ratones, que se indica como Control. El cuadrado grande se usa cuando se administró docetaxel, un citostático conocido, a los ratones. El símbolo del rombo se usa cuando se administró Voluven® 10% (1000 mg/kg HES 105/0,4) a los ratones, que se indica como HES1. El triángulo se usa cuando se administró HES 100/1,0 (aprox. 735 mg/kg HES 100/1,0) a los ratones, que se indica como HES2.

Figura 2:

La Figura 2 muestra el desarrollo del volumen del tumor en ratones inoculados con células tumorales MT-3 durante el transcurso del tiempo, como se observa en el Ejemplo 2. Los valores en el eje Y indican el peso corporal en gramos, los valores en el eje X indican el tiempo en días después de la inoculación de las células tumorales. Las sustancias se indican mediante los siguientes símbolos: El cuadrado pequeño se usa cuando se administró disolución salina (NaCl) a los ratones, que se indica como Control. El cuadrado grande se usa cuando se administró docetaxel, un citostático conocido, a los ratones. El rombo se usa cuando se administró Voluven® 10% (1000 mg/kg HES 105/0,4) a los ratones, que se indica como HES1. El triángulo se usa cuando se administró HES 100/1,0 (aprox. 735 mg/kg HES 100/1,0) a los ratones, que se indica como HES2.

Figura 3:

La Figura 3 muestra el desarrollo del peso corporal con el transcurso del tiempo de los ratones inoculados con células tumorales MT-3 en el Ejemplo 1. Los valores en el eje Y indican el peso corporal en gramos, los valores en el eje X indican el tiempo en días después de la inoculación de las células tumorales. Las sustancias se indican mediante los siguientes símbolos: El cuadrado pequeño se utiliza cuando se administró disolución salina (NaCl) a los ratones, que se indica como Control. El cuadrado grande se utiliza cuando se administró docetaxel, un citostático conocido, a los ratones. El símbolo del rombo se utiliza cuando se administró Voluven® 10% (1000 mg/kg HES 105/0,4) a los ratones, que se indica como HES1. El triángulo se utiliza cuando se administró HES 100/1,0 (aprox. 735 mg/kg HES 100/1,0) a los ratones, indicado como HES2.

Figura 4:

La Figura 4 muestra el desarrollo del volumen del tumor en los ratones inoculados con células tumorales MT-3 con el transcurso del tiempo, como se observa en el Ejemplo 1. Los valores en el eje Y indican el peso corporal en gramos, los valores en el eje X indican el tiempo en días después de la inoculación de las células tumorales. Las sustancias se indican mediante los siguientes símbolos: El cuadrado pequeño se utiliza cuando se administró disolución salina (NaCl) a los ratones, indicada como Control. El cuadrado grande se utiliza cuando se administró docetaxel, un citostático conocido, a los ratones. El símbolo del rombo se utiliza cuando se administró Voluven® 10% (1000 mg/kg HES 105/0,4) a los ratones, indicado como HES1. El triángulo se utiliza cuando se administró HES 100/1,0 (aprox. 735 mg/kg HES 100/1,0) a los ratones, indicado como HES2.

Figuras 5 y 6 (Ejemplo 4):

La Figura 5 muestra el desarrollo del volumen relativo del tumor de los ratones inoculados con células tumorales PC-3. Los valores en el eje Y indican la mediana del volumen relativo del tumor en porcentaje, los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

La Figura 6 muestra el desarrollo del peso corporal de los ratones inoculados con células tumorales PC-3. Los valores en el eje Y indican el peso corporal medio en gramos \pm desviación típica (SD). Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

Para ambas figuras, 5 y 6, las sustancias ensayadas se indican mediante los siguientes símbolos: "▲" (triángulo negro) se utiliza cuando se administró disolución isotónica al 0,9% (NaCl) a los ratones, indicada como "Control". "■" (cuadrado negro grande) se utiliza cuando se administró Paclitaxel a los ratones, indicado como "Taxol". "◆" (rombo negro) se utiliza cuando se administró "Voluven 10% (2000 mg/kg HES 130/0,4)" a los ratones, indicado como "HES".

Figuras 7 y 8 (Ejemplo 5):

La Figura 7 muestra el desarrollo del volumen relativo del tumor de los ratones inoculados con células tumorales MT-3. Los valores en el eje Y indican la mediana del volumen relativo del tumor en porcentaje. Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento. El volumen del tumor se calculó después de la exclusión de un ratón del grupo de HES 4 ("HES 100/1,0") que fue sacrificado el día 19 por cuestiones éticas.

La Figura 8 muestra el desarrollo del peso corporal de los ratones inoculados con células tumorales MT-3. Los valores en el eje Y indican el peso corporal medio en gramos \pm desviación típica (SD). Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

En ambas figuras, 7 y 8, las sustancias ensayadas se indican mediante los siguientes símbolos: "▲" (triángulo negro) se utiliza cuando se administró disolución salina isotónica al 0,9% (NaCl) a los ratones, indicada como "Control". "■" (cuadrado negro grande) se utiliza cuando se administró Docetaxel (Taxotere®) a los ratones, indicado como "Docetaxel". "◆" (rombo negro) se utiliza cuando se administró "HES 130/0,4" a los ratones, indicado como "HES 1". "◇" (rombo blanco) se utiliza cuando se administró HES 450/0,7 a los ratones, indicado como "HES 2". "●" (círculo negro) se utiliza cuando se administró HES 70/0,6 a los ratones, indicado como "HES 3". "○" (círculo blanco) se utiliza cuando se administró "HES 100/1,0" a los ratones, indicado como "HES 4".

Figuras 9 y 10 (Ejemplo 5):

La Figura 9 muestra el desarrollo del volumen relativo del tumor de los ratones inoculados con células tumorales MT-3. Los valores en el eje Y indican la mediana del volumen relativo del tumor en porcentaje. Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del inicio del tratamiento.

La Figura 10 muestra el desarrollo del peso corporal de los ratones inoculados con células tumorales MT-3. Los valores en el eje Y indican el peso corporal medio en gramos \pm la desviación típica (SD). Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

En ambas figuras, 9 y 10, las sustancias ensayadas se indican con los siguientes símbolos: "▲" (triángulo negro) se utiliza cuando se administró disolución salina isotónica al 0,9 % (NaCl) a los ratones, indicada como "Control". "■" (cuadrado negro grande) se utiliza cuando se administró Docetaxel (Taxotere®) a los ratones, indicado como "Docetaxel". "◆" (rombo negro) se utiliza cuando se administró HES 450/0,7 a los ratones, indicado como "HES 1". "◇" (rombo blanco) se utiliza cuando se administró HES 700/0,7 a los ratones, indicado como "HES 2". "●" (círculo negro) se utiliza cuando se administró HES 700/0,5 a los ratones, indicado como "HES 3". "○" (círculo blanco) se utiliza cuando se administró HES 730/1,3 a los ratones, indicado como "HES 4". "*" (asterisco negro) se utiliza cuando se administró HES 200/0,5 a los ratones, indicado como "HES 5".

Figuras 11 y 12 (Ejemplo 5):

La Figura 11 muestra el desarrollo del volumen relativo del tumor de los ratones inoculados con células tumorales MT-3. Los valores en el eje Y indican la mediana del volumen relativo del tumor en porcentaje. Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del inicio del tratamiento.

La Figura 12 muestra el desarrollo del peso corporal de los ratones inoculados con células tumorales MT-3. Los valores en el eje Y indican el peso corporal medio en gramos \pm la desviación típica (SD). Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

En ambas figuras, 11 y 12, las sustancias ensayadas se indican mediante los siguientes símbolos: "▲" (triángulo negro) se utiliza cuando se administró disolución salina isotónica al 0,9 % (NaCl) a los ratones, indicada como "Control". "■" (cuadrado negro grande) se utiliza cuando se administró Docetaxel (Taxotere®) a los ratones, indicado como "Docetaxel". "◆" (rombo negro) se utiliza cuando se administró HES 100/0,7 a los ratones, indicado como "HES 1". "◇" (rombo blanco) se utiliza cuando se administró "Voluven 10 % (HES 130/0,4)" a los ratones, indicado como "HES 2". "●" (círculo negro) se utiliza cuando se administró HES 900/0,7 a los ratones, indicado como "HES 3". "○" (círculo blanco) se utiliza cuando se administró HES 1300/0,7 a los ratones, indicado como "HES 4". "*" (asterisco negro) se utiliza cuando se administró HES 900/0,4 a los ratones, indicado como "HES 5".

Figuras 13 y 14 (Ejemplo 6.1):

La Figura 13 muestra el desarrollo del volumen relativo del tumor de ratones inoculados con células tumorales LXFL 529. Los valores en el eje Y indican la mediana del volumen relativo del tumor en porcentaje. Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

La Figura 14 muestra el desarrollo del peso corporal relativo de ratones inoculados con células tumorales LXFL 529. Los valores en el eje Y indican la mediana de peso corporal relativo en porcentaje. Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

5 En ambas figuras, 13 y 14, las sustancias ensayadas se indican mediante los siguientes símbolos: "▲" (triángulo negro) se utiliza cuando se administró disolución salina isotónica al 0,9% (NaCl) a los ratones, indicada como "Control". "■" (cuadrado negro grande) se utiliza cuando se administró Everolimus a los ratones. "◆" (rombo negro) se utiliza cuando se administró "Voluven® 10% (2000 mg/kg HES 130/0,4)" a los ratones, indicado como "HES".

Figuras 15 y 16 (Ejemplo 6.2):

10 La Figura 15 muestra el desarrollo del volumen relativo del tumor de ratones inoculados con células tumorales LXFE 397. Los valores en el eje Y indican la mediana del volumen relativo del tumor en porcentaje. Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

15 La Figura 16 muestra el desarrollo del peso corporal relativo de ratones inoculados con células tumorales LXFE 397. Los valores en el eje Y indican la mediana de peso corporal relativo en porcentaje. Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento. Los valores para el día 18 de los grupos "Control" y "Capecitabina" se han excluido debido a que solamente 2 de 5 ratones permanecieron con vida.

20 En ambas figuras, las sustancias ensayadas se indican mediante los siguientes símbolos: "▲" (triángulo negro) se utiliza cuando se administró disolución salina isotónica al 0,9% (NaCl) a los ratones, indicada como "Control". "■" (cuadrado negro grande) se utiliza cuando se administró Capecitabina a los ratones. "◆" (rombo negro) se utiliza cuando se administró Voluven® 10% (2000 mg/kg HES 130/0,4) a los ratones, indicado como "HES". "◇" (rombo blanco) se utiliza cuando se administró una combinación de Voluven® 10% (2000 mg/kg HES 130/0,4) y Capecitabina a los ratones, indicada como "HES/ Capecitabina".

Figuras 17 y 18 (Ejemplo 6.3)

25 La Figura 17 muestra el desarrollo del volumen relativo del tumor de ratones inoculados con células tumorales RXF 2178. Los valores en el eje Y indican la mediana del volumen relativo del tumor en porcentaje. Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

La Figura 18 muestra el desarrollo del peso corporal relativo de ratones inoculados con células tumorales RXF 2178. Los valores en el eje Y indican la mediana de peso corporal relativo en porcentaje. Los valores en el eje X indican el tiempo en días después del comienzo del tratamiento.

30 En ambas figuras, las sustancias ensayadas se indican mediante los siguientes símbolos: "▲" (triángulo negro) se utiliza cuando se administró disolución salina isotónica al 0,9% (NaCl) a los ratones, indicada como "Control". "◆" (rombo negro) se utiliza cuando se administró HES 450/0,7 a los ratones, indicado como "HES".

Ejemplo 1:

35 Resumen: los ratones recibieron tratamiento o bien con una única inyección i.v. de docetaxel (Taxotere®) en una dosis de 25 mg/kg o con el expansor plasmático Voluven® (20 ml/kg) o con "HES 100/1,0" (aprox. 740 mg/kg) disuelto en disolución salina para determinar el crecimiento del tumor y el peso corporal durante el transcurso del experimento.

Sustancias:

40 Se obtuvo Docetaxel (disponible con el nombre Taxotere®) de Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, (Lote CHB D9C895; Berlín, Alemania) y se conservó en la oscuridad a - 20°C hasta su uso. Se obtuvo Voluven® (10% almidón hidroxietilado 105/0,4 en cloruro de sodio al 0,9% para inyección) como un producto listo para usar de Fresenius Kabi Deutschland GmbH y se conservó a temperatura ambiente hasta su uso. Se disolvió "HES 100/1,0" en disolución salina (como se especifica en la tabla 2 anterior).

45 La disolución final de docetaxel se preparó inmediatamente antes de la inyección, mezclando un volumen adecuado de la disolución original provista por Sanofi (20 mg/ml) con disolución salina (0,9% NaCl, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemania) como se indica en la tabla 4 que sigue. La disolución salina se mezcló con etanol absoluto para obtener una disolución aprox. al 6,25%, el vehículo original de Taxotere®. Se usó Voluven® en la formulación original anteriormente descrita. Todas las disoluciones se prepararon e inyectaron bajo condiciones estériles.

50

Tabla 4:

Preparación de disoluciones para inyección						
Sustancia	Dosis	Dosis/Ratón	Disolución madre	Disolución salina (ml)	EtOH (ml)	Volumen total (ml)
Disolución salina/EtOH	10 ml/kg	~250 µl		4,594	0,406	5,000
Docetaxel (Taxotere®)	25 mg/kg	~0.5 mg	0.625 ml	4,375		5,000
Voluven® 10%	20 ml/kg	~500 µl	10.000 ml			10,000
HES 100/1,0	740 mg/kg	~14,8 mg	407,1 mg	5,500		5,500

Ratones

5 Se emplearon ratones hembra adultos NMRI:nu/nu (TACONIC Europe, Lille Skensved, Dinamarca) criados en su propia colonia (EPO) en todo el estudio. Al comienzo del experimento, tenían 6-8 semanas de vida y un peso corporal promedio de aprox. 25 a 30 g.

10 Se mantuvo a todos los ratones bajo condiciones de barrera controladas y estandarizadas. Fueron alojados – máximo cinco ratones por jaula – en jaulas individualmente ventiladas (Macrolon Typ-II, sistema Techniplast, Italia). Los ratones se mantuvieron bajo las siguientes condiciones ambientales: 22±1°C temperatura ambiente, 50±10% humedad relativa y ciclo de luz y oscuridad de 12 horas. Recibieron alimento y lecho mediante autoclave (Ssniff, Soest, Alemania) y agua potable acidificada (pH 4,0) a voluntad.

Los animales fueron asignados en forma aleatoria a grupos. Al inicio del tratamiento, a los animales se les realizaron marcas en las orejas, y cada jaula se etiquetó con el número de jaula, número del estudio y número de animal por jaula.

Resumen de las condiciones del animal	
Sujeto	Condiciones
Animales, género y cepa	ratones hembra NMRI:nu/nu
Edad	6-8 semanas
Peso corporal	Aprox. 25 a 30 g al inicio del tratamiento
Proveedor	EPO
Condiciones ambientales	Condiciones de barrera estrictamente controladas y estandarizadas, Sistema IVC, Techniplast DCC (TECNIPLAST DEUTSCHLAND GMBH)
Jaulas	Macrolon Tipo II, fondo de alambre enrejado
Tipo de alimento	Ssniff NM, Soest, Alemania
Agua potable	Agua corriente mediante autoclave en botellas de agua (acidificadas hasta pH 4 con HCl)
Tiempo de alimentación e	24 horas diarias, a voluntad

Resumen de las condiciones del animal	
Sujeto	Condiciones
hidratación	
Temperatura ambiente	22±1°C
Humedad relativa	50±10%
Periodo de luz	Artificial; ciclo de 12 horas de oscuridad/12 horas de luz (luz 06.00 a 18.00 horas)
Control sanitario	La salud de los ratones se examinó al comienzo del experimento y dos veces por día durante el experimento
Identificación	Marcas en la oreja y etiquetas en las jaulas
Modelo de tumor	MT-3, células de cáncer de mama humano

Modelo de tumor

5 La línea de carcinoma de células de mama humanas MT-3 se utiliza ampliamente para evaluar nuevos fármacos antineoplásicos y nuevas estrategias terapéuticas. Se seleccionó entonces para este estudio. Los xenoinjertos de MT-3 se desarrollan relativamente rápido y en forma uniforme.

10 Se utilizó la línea celular MT-3 para xenotrasplante subcutáneo (s.c.) en ratones hembra inmunodeficientes NMRI:nu/nu. La línea celular de carcinoma de mama MT-3 se obtuvo del banco de tumores del National Cancer Institute de la ex Unión Soviética, WONZ, Moscú (Naundorf H. Rewasowa E. Fichtner I et al. Characterization of two human mammary carcinomas, MT-1 and MT-3, suitable for in vivo testing of ether lipids and their derivatives. Breast Cancer Res Treat. 1992; 23:87-95).

Las células se crio-conservan dentro del banco de tumores EPO. Las células se descongelaron, se expandieron por cultivo *in vitro* y se trasplantaron s.c. como suspensión celular (5×10^6 células tumorales/ratón en 200 μ l).

Diseño del estudio

15 El día 0 del estudio, cada una de 5×10^6 células tumorales fue trasplantada s.c. en el flanco de cada ratón. Se controló en los animales el crecimiento del tumor, y cuando los tumores fueron palpables, en general entre el día 7 y el día 10 después del trasplante, los ratones fueron aleatorizados a los grupos de tratamiento.

Tabla 5

Grupos de tratamiento y resultados								
Grupo	Ratones [n]	Sustancias	Dosis	Ruta/día de administración	Volumen del tumor (medio) el día 34	Volumen del tumor (medio) nadir	Plaquetas $\times 10^6$ el día 10	Recuento total leucocitos $\times 10^6$ el día 10
1	14	Disolución salina + EtOH	10 ml/kg	i.v./7	1,745±1,095	n.a.	1385±151	6,66±2,87
2	14	Docetaxel (Taxotere®)	25 mg/kg	i.v./7	0,930±0,395	0,072±0,047	1418±85	3,09±0,76
3	14	Voluven® 10%	20 ml/kg	i.v./7	1,175±0,525	0,076±0,026	1259±154	6,22±1,57

Grupos de tratamiento y resultados								
Grupo	Ratones [n]	Sustancias	Dosis	Ruta/día de administración	Volumen del tumor (medio) el día 34	Volumen del tumor (medio) nadir	Plaquetas x10 ⁶ el día 10	Recuento total leucocitos x10 ⁶ el día 10
4	14	HES 100/1,0	740 mg/kg	i.v./7	1,249±0,748	0,076±0,020	1098±112	6,52±2,50

El volumen de aplicación fue 10 ml/kg (aprox. 200 µl/20 g ratón) por peso corporal del ratón para el vehículo, HES 100/1,0 y docetaxel, y 20 ml/kg para Voluven®. La ruta de administración fue inyección intravenosa (i.v.) en la vena del rabo.

- 5 Se midieron los diámetros de los tumores individuales dos veces por semana con un calibrador. Los volúmenes de los tumores se calcularon de acuerdo con $V = (\text{longitud} \times (\text{ancho})^2)/2$. Para el cálculo del volumen relativo del tumor (RTV), los volúmenes del tumor en cada día de medición se relacionaron con el día del primer tratamiento. En cada día de medición, se calcularon en porcentaje la mediana del volumen del tumor y el volumen medio del tumor por grupo y también se relacionaron con los valores control (T/C RTV).
- 10 Se determinaron los pesos corporales individuales de los ratones dos veces por semana y el peso corporal medio por grupo de tratamiento.

- Se tomaron muestras de sangre del seno retro-orbital bajo anestesia de isoflurano tres días después del tratamiento. Se tomaron muestras de sangre de 50 – 100 µl en tubos preparados con EDTA para parámetros hematológicos de un subconjunto de cada grupo (en general 30-50%). Se determinaron los siguientes parámetros: recuento total de leucocitos (WBC), recuento de eritrocitos (RBC), hemoglobina (HGB), hematocrito (HCT), volumen corpuscular medio (MCV), hemoglobina corpuscular media (MCH), concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC) y recuento de plaquetas (PLT) usando un instrumento Coulter Counter.
- 15

- Los ratones fueron sacrificados cuando los tumores alcanzaron un tamaño medio por encima de 1 cm³ por grupo. El día de la autopsia, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical e inspeccionados para detectar cambios orgánicos macroscópicos.
- 20

Evaluación estadística

La evaluación estadística se realizó con la prueba de U de Mann y Whitney usando el programa de Windows STATISTICA 6. Se usó un nivel de significación de $p < 0,05$.

Resultados

- 25 Todos los tumores en el grupo control (grupo 1) exhibieron crecimientos progresivos. El tratamiento i.v. individual de ratones que portaban cáncer de mama MT-3 con 25 mg/kg de docetaxel indujo una inhibición significativa del crecimiento del tumor. La administración de HES 100/1,0 y Voluven® resultó en una actividad inhibitoria intermedia, que alcanzó significación estadística ($p < 0,05$) en una serie de puntos de tiempo en comparación con el grupo control no tratado y demostró así un potencial inhibitorio de los almidones etilados sobre la tasa de crecimiento del tumor (ver figura 4).
- 30

- Se observó una pérdida de peso corporal después del tratamiento con docetaxel. La toxicidad general alcanzó el máximo aproximadamente 1 semana después del tratamiento. Posteriormente, los ratones se recuperaron de ese efecto. El tratamiento con Voluven® o HES 100/1,0 no tuvo ningún efecto significativo sobre el desarrollo del peso corporal y por lo tanto ninguna toxicidad obvia relacionada con el tratamiento. La autopsia al final del experimento no reveló cambios orgánicos macroscópicos visibles (ver figura 3).
- 35

Se observó una leve pero significativa leucopenia después del tratamiento con docetaxel. No se observó leucopenia con el tratamiento de Voluven® ni HES 100/1,0 (ver tabla 5).

- HES 100/1,0 causó una leve reducción en el número de plaquetas en comparación con aquella del grupo tratado con disolución salina + EtOH, pero las diferencias observadas no son de relevancia biológica, ya que permanecieron dentro de la variabilidad estándar observada en animales no tratados. Docetaxel y Voluven® no tuvieron efectos significativos sobre los recuentos de plaquetas. Los ratones lampiños libres de tumores tuvieron $7,6 \pm 2,2 \times 10^6/\text{ml}$ leucocitos y $1761 \pm 311 \times 10^6/\text{ml}$ plaquetas. Los valores de referencia expuestos son $5,0 - 13,7 \times 10^6/\text{ml}$ y $600 - 1200 \times 10^6/\text{ml}$ para leucocitos y plaquetas, respectivamente.
- 40

Ejemplo 2

Resumen: los ratones recibieron tratamiento o bien con una única inyección i.v. de docetaxel (Taxotere®) en una dosis de 25 mg/kg o con el expansor plasmático Voluven® (20ml/kg) o con HES 100/1,0 (aprox. 740 mg/kg) disuelto en disolución salina/EtOH para determinar el crecimiento del tumor y el peso corporal durante el transcurso del experimento.

Sustancias:

Se obtuvo Docetaxel (disponible con el nombre Taxotere®) de Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, (Lote CHB D9C895; Berlín, Alemania) y se conservó en la oscuridad a - 20°C hasta su uso. Se obtuvo Voluven® (10% almidón hidroxietilado 105/0,4 en cloruro de sodio al 0,9% para inyección) como un producto listo para usar de Fresenius Kabi Deutschland GmbH y se conservó a temperatura ambiente hasta su uso. Se disolvió HES 100/1,0 (como se especificó en la tabla 2 anterior) en disolución salina/EtOH.

La disolución final de docetaxel se preparó inmediatamente antes de la inyección, mezclando un volumen apropiado de la disolución original provista por Sanofi (20 mg/ml) con disolución salina (0,9% NaCl, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemania) como se indica en la tabla 6 que sigue. La disolución salina se mezcló con etanol absoluto para obtener una disolución aprox. al 6,25%, el vehículo original de Taxotere®. Se usó Voluven® en la formulación original anteriormente descrita. Todas las disoluciones se prepararon e inyectaron bajo condiciones estériles.

Tabla 6:

Preparación de disoluciones para inyección							
Sustancia	Dosis	Dosis/Ratón	Disolución madre	Disolución salina (ml)	EtOH (ml)	Volumen (ml)	total
Disolución salina/EtOH	10 ml/kg	~250 µl		3,975	0,525	4,500	
Docetaxel (Taxotere®)	25 mg/kg	~0,5 mg	0,525 ml	3,675		4,200	
Voluven® 10%	20 ml/kg	~500 µl	8,400 ml			8,400	
HES 100/1,0	735 mg/kg	~14,7 mg	331,2 mg	3,975	0,525	4,500	

Ratones

Se emplearon ratones hembra adultos NMRI:nu/nu (TACONIC Europe, Lille Skensved, Dinamarca) criados en la propia colonia (EPO) durante todo el estudio. Al comienzo del experimento, tenían 6-8 semanas de vida y un peso corporal promedio de aprox. 25 a 30 g.

Se mantuvo a todos los ratones bajo condiciones de barrera controladas y estandarizadas. Fueron alojados – máximo cinco ratones por jaula – en jaulas individualmente ventiladas (Macrolon Typ-II, sistema Techniplast, Italia). Se mantuvo a los ratones bajo las siguientes condiciones ambientales: 22±1°C temperatura ambiente, 50±10% humedad relativa y ciclos de luz y oscuridad de 12 horas. Recibieron alimento y lecho mediante autoclave (Ssniff, Soest, Alemania) y agua potable acidificada (pH 4,0) a voluntad.

Los animales fueron asignados a grupos en forma aleatoria. Al inicio del tratamiento, se les realizaron marcas en la oreja a los animales, y se etiquetó cada jaula con el número de jaula, el número del estudio y el número de animal por jaula. Las condiciones de los animales se pueden describir como en el Ejemplo 1.

Modelo de tumor

La línea de carcinoma celular de cáncer de mama humana MT-3 se utiliza ampliamente para evaluar nuevos fármacos antineoplásicos y nuevas estrategias terapéuticas. Se seleccionó entonces para este estudio. Los xenoinjertos de MT-3 se desarrollan relativamente rápido y en forma uniforme.

Se usó la línea celular MT-3 para xenotrasplante subcutáneo (s.c.) en ratones hembra NMRI:nu/nu inmunodeficientes. La línea celular de carcinoma de mama MT-3 se obtuvo del banco de tumores del National Cancer Institute de la ex Unión Soviética, WONZ, Moscú (Naundorf H. Rewasowa E. Fichtner I et al. Characterization

of two human mammary carcinomas, MT-1 and MT-3, suitable for in vivo testing of ether lipids and their derivatives. Breast Cancer Res Treat. 1992; 23:87-95).

Las células son crio-conservadas dentro del banco de tumores EPO. Las células se descongelan, se expanden por cultivo *in vitro* y se trasplantan s.c. como una suspensión celular (5×10^6 células tumorales/ratón en 200 μ l).

5 Diseño del estudio

El día del estudio 0, cada una de 5×10^6 células tumorales se trasplantaron s.c. al flanco de cada ratón. Se vigiló el crecimiento de los tumores en los animales, y cuando los tumores fueron palpables, alrededor de día 7 después de la inoculación, los ratones fueron aleatorizados en grupos de tratamiento.

Tabla 7

Grupo	Ratones [n]	Sustancias	Dosis	Ruta	Día de administración después de la inoculación	Volumen del tumor (medio) $\text{cm}^3/\text{día 25}$	Plaquetas $\times 10^6$ el día 11	WBC $\times 10^6$ el día 11
1	8	Disolución salina + EtOH	10 ml/kg	i.v.	8	1,16	1367 \pm 175	3,75 \pm 1,53
2	8	Docetaxel (Taxotere®)	25 mg/kg	i.v.	8	0,343	1500 \pm 156	4,80 \pm 0,58
3	8	Voluven® 10%	20 ml/kg	i.v.	8	0,854	1442 \pm 175	9,30 \pm 4,54
4	8	HES 100/1,0	735 mg/kg	i.v.	8	0,788	1382 \pm 102	5,03 \pm 1,02

10

El volumen de aplicación fue 10 ml/kg (aprox. 200 μ l/20 g ratón) por peso corporal del ratón para el vehículo, HES 100/1,0 y docetaxel, y 20 ml/kg para Voluven®. La ruta de administración fue inyección intravenosa (i.v.) en la vena del rabo.

15

Los diámetros de los tumores individuales se midieron dos veces por semana con un calibrador. Los volúmenes de los tumores se calcularon de acuerdo con $V = (\text{longitud} \times (\text{ancho})^2)/2$. Para el cálculo del volumen relativo del tumor (RTV), los volúmenes de los tumores en cada día de medición se relacionaron con el día del primer tratamiento. En cada día de medición, se calcularon la mediana del volumen del tumor y el volumen del tumor medio por grupo, además de los valores de los grupos tratados frente a control (T/C RTV) en porcentaje.

20

Se determinaron los pesos corporales individuales de los ratones dos veces por semana y el peso corporal medio por grupo de tratamiento.

Parámetros de sangre

25

Se tomaron muestras de sangre del seno retro-orbital bajo anestesia de isoflurano tres días después del tratamiento. Las muestras de sangre de 50 – 100 μ l se recogieron en tubos preparados con EDTA para parámetros hematológicos de un subconjunto de cada grupo (en general 30-50%). Se determinaron los siguientes parámetros: recuento total de leucocitos (WBC), recuento de eritrocitos (RBC), hemoglobina (HGB), hematocrito (HCT), volumen corpuscular medio (MCV), hemoglobina corpuscular media (MCH), concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC) y recuento de plaquetas (PLT) usando un instrumento Coulter Counter.

Parámetros químicos clínicos

30

Se tomaron muestras de sangre de 150 - 200 μ l sin EDTA de otro subconjunto (en general 30-50%) de los grupos, y se generó suero por centrifugación. Las muestras de suero se analizaron y se determinaron los siguientes parámetros:

35

Fosfatasa alcalina (AP), oxalacetato transaminasa glutámica (GOT), glutamato piruvat transaminasa (GPT), glutamato deshidrogenasa (GLDH), bilirrubina total (BIL), lactato deshidrogenasa (LDH), creatinina cinasa (CK), colesterol (CHOL), triglicérido (TG), creatinina (CREA), urea, sodio, potasio, magnesio (Mg), fosfato, cociente de calcio/fosfato (cociente Ca/P), glucosa, albúmina, cociente de albúmina/globulina (cociente de Alb/Glob) y proteína total (TP).

Los ratones fueron sacrificados cuando los tumores alcanzaron un tamaño medio por encima de 1 cm³ por grupo. El día de la autopsia, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical y se inspeccionaron los cambios orgánicos macroscópicos.

Evaluación estadística

- 5 La evaluación estadística se realizó con la prueba U de Mann y Whitney usando el programa de Windows STATISTICA 6. Se usó un nivel de significación de $p < 0,05$.

Resultados

Tabla 8

	tamaño del tumor el día 8 [cm ³]	tamaño del tumor el día 10 [cm ³]	tamaño del tumor el día 15 [cm ³]	tamaño del tumor el día 18 [cm ³]	tamaño del tumor el día 22 [cm ³]	tamaño del tumor el día 25 [cm ³]
Control	0,0865	0,1785	0,4765	0,7120	1,0191	1,1600
Docetaxel	0,0866	0,1046	0,1228	0,1995	0,2465	0,3430
Voluven	0,0852	0,1450	0,3806	0,4574	0,7093	0,8545
HES 100/1,0	0,0875	0,1246	0,4270	0,5043	0,7460	0,7886

- 10 Todos los tumores del grupo control (grupo 1) demostraron crecimientos progresivos. El tratamiento individual i.v. de ratones que portaban cáncer de mama MT-3 con 25 mg/kg de docetaxel indujo una inhibición significativa del crecimiento del tumor. La administración de HES 100/1,0 y Voluven® produjo una actividad inhibidora intermedia que alcanzó significancia estadística ($p < 0,05$) en una serie de puntos de tiempo en comparación con el grupo control no tratado y demostrando de este modo un potencial inhibidor de los almidones etilados sobre la tasa de crecimiento de los tumores (ver tabla 8 y figura 2).

15 Se observó pérdida de peso corporal después del tratamiento con docetaxel. La toxicidad general alcanzó el máximo aproximadamente 1 semana después del tratamiento. Posteriormente, los ratones se recuperaron de ese efecto. El tratamiento con Voluven® o HES 100/1,0 no tuvo efecto significativo sobre el desarrollo del peso corporal y por lo tanto ninguna toxicidad obvia relacionada con el tratamiento (ver figura 1).

- 20 La autopsia al final del experimento no reveló cambios orgánicos macroscópicos visibles.

El análisis químico clínico reveló un cambio en diferentes parámetros, pero no se puede detectar una correlación clara con el tratamiento.

Ejemplo 3 (hipotético) eliminado

Ejemplo 4:

- 25 En otro estudio que se realizó en analogía al estudio anteriormente descrito, se ensayó el efecto de "Voluven 10%" en una línea de cáncer diferente, es decir, en la línea celular de cáncer de próstata PC3.

- 30 La línea celular de carcinoma de próstata humana PC-3 se usó como modelo de tumor de xenoinjerto en ratones lampiños para ensayar la eficacia de Voluven® 10% en la reducción de las tasas de crecimiento de los tumores. Se empleó Paclitaxel como control positivo y disolución salina como control negativo. Los resultados demostraron que Voluven® 10% fue eficaz en el modelo de PC-3 como lo indica el volumen relativo del tumor relativo 2 veces inferior en comparación con disolución salina. El control positivo de paclitaxel demostró un tamaño del tumor estable o redujo el volumen del tumor en un periodo de observación de 3 semanas.

Sustancias

Voluven® 10%:

- 35 Proveedor: Fresenius Kabi Deutschland GmbH

Número de lote: 14EC3320

Fecha de vencimiento: marzo de 2014

Estado físico /color: líquido, incoloro

Condiciones de almacenamiento: 15 a 25 °C

Paclitaxel

5 Proveedor: Aurigon Life Science GmbH

Fabricante: Oncotrade

Número de lote: V407 + 12634403

Fecha de vencimiento: febrero de 2013 + mayo de 2013

Estado físico/color: líquido, incoloro a ligeramente amarillo

10 Condiciones de almacenamiento: 15 a 25 °C

Vehículo

Nombre: disolución isotónica al 0,9%

Proveedor: B.Braun Melsungen AG

Estado físico/color: líquido, incoloro

15 Condiciones de almacenamiento: 15 a 25 °C

Ratones

Cepa: NMRI lampiño (homocigoto) -Rj :NMRI-nu

Sexo: hembra

Proveedor: Elevage Janvier, Route des Chènes Secs, 53940 Le Genest St. Isle, Francia

20 Estado de salud: SPF

Edad en la administración: 5-6 semanas

Aclimatación: por lo menos 6 días

25 El ratón es una especie de roedor adecuada para investigaciones antitumorales y está aceptado por las autoridades reguladoras. Como no se esperaban diferencias específicas de género, solamente se utilizaron animales hembra en este estudio. Se eligió la ruta de administración intravenosa, ya que corresponde a la ruta de administración en seres humanos.

30 Se alojó a los animales en jaulas individualmente ventiladas (IVC) Makrolon® de tipo II con un máximo de cinco animales por jaula. La temperatura ambiente se ajustó hasta 22 ± 3 °C y la humedad relativa hasta $50\% \pm 20\%$. Estos parámetros se registraron a diario. Se colocó luz artificial para dar un ciclo de luz y oscuridad de 12 horas (LD 12:12) con la luz encendida a las 6:30 a.m. Se cambió el aire aproximadamente 10 veces por hora en la sala de los animales y aproximadamente 70 veces por hora en las jaulas individualmente ventiladas que se filtraron adecuadamente. Los animales recibieron una dieta a base de gránulos con radiación gama (ssniff R/M-H) producidos por ssniff Spezialdiäten GmbH (Experimental Animal Diets Inc. 59494 Soest, Alemania) a voluntad. Tuvieron a disposición continuamente agua potable esterilizada por autoclave a voluntad en botellas para beber. El lecho utilizado (Lignocel® tipo FS14) fue provisto por ssniff Spezialdiäten GmbH (Soest, Alemania) y se sometió a autoclave antes del uso. Por lo general, se renovó una vez por semana.

35 Modelo de tumor

Nombre: PC-3

Tejido: carcinoma de próstata humano

40 Tipo de células: adherentes

Provisto por: DSMZ

Medio de cultivo: DMEM/HAM's F12 (1:1) enriquecido con suero bovino fetal al 10%

Condiciones de cultivo: 37°C, 5% CO₂

Factor de división: 1:3 a 1:10

Diseño del estudio

5 En total, se inocularon 45 animales por modelo de tumor con las suspensiones celulares PC-3. El día de la inoculación, las células se lavaron una o dos veces con medio de cultivo (RPMI 1640 sin aditivos) y se cosecharon por procedimientos estándar. Las concentraciones celulares finales se ajustaron el día de la inoculación hasta 5x10⁶ células en 70 µl PBS por animal para las células PC-3 para inyección subcutánea en el flanco derecho. Los animales con los tumores más pequeños y más grandes fueron excluidos y eliminados del estudio el día de la formación de los grupos (3x 10 animales por modelo de tumor). Los grupos se formaron con tamaños de tumores medios comparables dentro del modelo (PC-3: 80-100 mm³) y desviaciones estándar para el tamaño del tumor.

10 Medición del tumor: El crecimiento del tumor se midió tres veces por semana (p. ej., lunes, miércoles y viernes) comenzando con el día 3 del estudio (tumor mensurable con un tamaño de aprox. 3 mm de diámetro). Los volúmenes de los tumores se calcularon de acuerdo con $V = (\text{longitud} \times (\text{ancho})^2)/2$. Para el cálculo del volumen relativo del tumor (RTV), los volúmenes de los tumores en cada medición se relacionaron con el día del primer tratamiento.

15 Para preparar la disolución de paclitaxel en una concentración de 2,5 mg/ml, la disolución original de paclitaxel (6 mg/ml) se diluyó con disolución salina isotónica al 0,9%. La formulación se volvió a generar fresca cada día de tratamiento. Cualquier formulación inutilizada se desechó después de la aplicación. La disolución salina y Voluven® 10% fueron provistos como formulaciones listas para usar.

20 Los animales fueron tratados por vía intravenosa mediante administración en bolo lenta en la vena lateral del rabo semanalmente durante tres semanas con disolución salina o paclitaxel (25 mg/kg) o a diario con Voluven® 10% durante 21 días comenzando con el día 0 del estudio. El volumen de administración fue 10 ml/kg.

Los ratones fueron sacrificados después de 21 días y se realizó una autopsia macroscópica (inspección de cambios orgánicos macroscópicos).

25 Evaluación estadística

30 Se efectuaron los análisis estadísticos de datos en cada grupo por separado. Se calcularon las medianas de los grupos para pesos corporales y mediciones del tumor en cada momento de la investigación. Los grupos tratados con el artículo de ensayo se compararon con los grupos de referencia y los grupos vehículo para la línea celular PC-3 en forma independiente. Los pesos corporales y las mediciones del tumor se evaluaron usando ToxData® System (versión 3) con el cálculo estadístico del dispositivo (árbol de decisión). Como un nivel de significación, se aceptó $p < 0,05$. Para la evaluación del tumor, se calcularon volumen/área y valores T/C usando Microsoft Excel 7.0.

Resultados

35 La línea de celular de carcinoma de próstata humano PC-3 fue sensible al paclitaxel de referencia, según lo indicado por una disminución del volumen inicial del tumor durante el periodo de observación de 3 semanas. El grupo control negativo de disolución salina demostró un incremento de aprox. 5 veces en el volumen relativo del tumor dentro de este periodo. La administración del artículo de ensayo "Voluven® 10%" una vez al día durante 3 semanas resultó en crecimientos del tumor claramente reducidos en comparación con el grupo de disolución salina con aprox. 3 veces el volumen inicial del tumor. El desarrollo del peso corporal fue aproximadamente estable con un ligero incremento durante el periodo de observación.

40 El resultado se ilustra en las Figuras 5 (volumen del tumor) y 6 (peso corporal).

Ejemplo 5:

En otro conjunto de tres estudios que se realizaron en analogía a los estudios descritos anteriormente en los Ejemplos 1 y 2, se analizaron más tipos de HES distintos en el mismo ámbito, utilizando el modelo de ratón de la línea celular MT3.

45 Los tipos de HES ensayados en tres estudios diferentes en el mismo modelo fueron los siguientes:

Tabla 11:

Sustancia "Nombre" Mw/Ms/PDI	Figura	Dosis	Dosis/ratón (20 g)	Día de administración
Disolución salina	Control neg. en todas las	20 ml/kg	400 µl	0,7,14

ES 2 698 948 T3

Sustancia "Nombre" Mw/Ms/PDI	Figura	Dosis	Dosis/ratón (20 g)	Día de administración
-	figuras			
Docetaxel (Taxotere®)	Control pos. en todas las figuras	40 mg/kg	800 µg	0,14
-				
"HES 70/0,5"	Fig 7, Fig 8	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
66/0,57/2,3				
"HES 100/0,7/1,3"	Fig 11, Fig 12	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
103/0,7/1,3				
"HES 100/1,0/1,3"	Fig 7, Fig 8	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
78/1,0/1,4				
"HES 130/0,4"	Fig 7, Fig 8	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
105/0,4 (disuelto en disolución salina)				
"Voluven 10% 130/0,4"	Fig 11, Fig 12	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
105/0,4				
"HES 200/0,5"	Fig 9, Fig 10	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
195/0,46				
"HES 450/0,7"	Fig 7, Fig 8	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
420/0,7				
"HES 700/0,5"	Fig 9, Fig 10	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
618/0,5/2,2				
"HES 700/0,7"	Fig 9, Fig 10	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
644/0,7/1,9				
"HES 700/1,3"	Fig 9, Fig 10	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
728/1,3/1,6				
"HES 900/0,4"	Fig 11, Fig 12	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
929/0,4/3,0				

Sustancia "Nombre" Mw/Ms/PDI	Figura	Dosis	Dosis/ratón (20 g)	Día de administración
"HES 900/0,7"	Fig 11, Fig 12	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
1034/0,67/3,0				
"HES 1300/0,7"	Fig 11, Fig 12	20 ml/kg	400 µl	0,7,14
1406/0,7/4,4				

El tipo de HES con el nombre HES 100/1,0/1,3 se caracteriza en más detalle en la tabla 3.

5 Se demuestra en la presente invención que una amplia gama de distintos tipos de HES reduce eficazmente las tasas de crecimiento de tumores *in vivo*, en comparación con la tasa de crecimiento cuando se administra disolución salina como control. Los resultados se exponen en las Figuras 7, 9 y 11 (volumen del tumor) y 8, 10 y 12 (peso corporal).

Sustancias

10 Se obtuvo Docetaxel (Taxotere®) de Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, (Lote CHB D9C895; Berlín, Alemania) y se conservó en la oscuridad a -20 °C hasta su uso. La disolución de inyección se preparó inmediatamente antes de su uso, disolviendo en disolución salina. Se obtuvieron compuestos de almidón hidroxietilado de Fresenius Kabi Deutschland GmbH el 12/07/2012 y se conservaron a temperatura ambiente hasta su uso. Los compuestos se disolvieron cada uno en disolución salina para obtener disoluciones al 10% p/v. La aplicación fue de 400 µl/20 g por peso corporal del ratón para disolución salina y disoluciones de HES, mientras que se administró Docetaxel en un volumen de 10 ml/kg como bolo lento. La ruta de administración fue intravenosa en todos los ratones.

Ratones

15 Se emplearon ratones hembra adultos NMRI:nu/nu (TACONIC Europe, Lille Skensved, Dinamarca) criados en su propia colonia (EPO) durante todo el estudio. Al comienzo del experimento tenían 6-8 semanas de vida.

20 Se mantuvo a todos los ratones bajo condiciones de barrera controladas y estandarizadas. Fueron alojados – máximo cinco ratones por jaula – en jaulas individualmente ventiladas (Macrolon Typ-II, sistema Techniplast, Italia). Se mantuvo a los ratones bajo las siguientes condiciones ambientales: 22 ± 1 °C temperatura ambiente, 50 ± 10% humedad relativa y ciclo de luz y oscuridad de 12 horas. Recibieron alimento y lecho mediante autoclave (Ssniff, Soest, Alemania) y agua potable acidificada (pH 4,0) a voluntad.

Al inicio del tratamiento, a los animales se les efectuaron marcas en las orejas, y cada jaula se etiquetó con el número de jaula, número del estudio y número de animal por jaula.

Las condiciones de los animales fueron las mismas que en los Ejemplos 1 y 2.

25 Los ratones del estudio 1 de esta serie tenían en este momento una mediana de peso corporal de 23,6 g (19,7 – 23,4 g). Las sustancias ensayadas fueron HES 70/0,5, HES 100/1,0, HES 130/0,4 y HES 450/07.

Los ratones del estudio 2 de esta serie tenían en este momento una mediana de peso corporal de 27,1 g (22,1 – 33,2 g). Las sustancias ensayadas en el estudio 2 fueron HES 700/1,3, HES 700/0,5/2,5, HES 700/0,7, HES 450/0,7 y HES 200/0,5.

30 Los ratones del estudio 3 de esta serie tenían en este momento una mediana de peso corporal de 25,04 g (16,9 a 30,4 g). Las sustancias ensayadas fueron HES 100/0,7/1,3, HES 900/0,4, HES 900/0,7, HES 1300/0,7 y Voluven 10%.

Modelo de tumor

35 La línea celular de carcinoma de mama humano MT-3 se utiliza ampliamente para evaluar nuevos antineoplásicos y nuevas estrategias terapéuticas. Por consiguiente, se seleccionó para este estudio. MT-3 es un modelo de tumor de rápido crecimiento y desarrolla nódulos tumorales palpables después de aprox. 7 días. La línea celular MT-3 se usó para xenotrasplante subcutáneo (s.c.) en ratones hembra NMRI:nu/nu inmunodeficientes. La línea celular de carcinoma de mama MT-3 se obtuvo del banco de tumores del National Cancer Institute de la ex Unión Soviética, WONZ, Moscú.

40 Las células son crioconservadas. Las células se descongelan, se expanden por cultivo *in vitro* y se trasplantan s.c. como una suspensión celular a ratones hembra NMRI:nu/nu.

Diseño del estudio

Se trasplantó el número de 5×10^6 células tumorales s.c en el flanco de cada ratón. Se vigiló el crecimiento del tumor en los animales, y cuando los tumores fueron palpables, en general entre el día 7 y el día 10 después del trasplante, los ratones fueron aleatorizados a los grupos de tratamiento de 15 ratones cada uno. El día 0 se define como el día del primer tratamiento.

Medición del tumor

Se midieron los diámetros de los tumores individuales dos veces por semana con un instrumento de tipo calibrador. Se calcularon los volúmenes de los tumores de acuerdo con $V = (\text{longitud} \times (\text{ancho})^2)/2$. En cada día de medición, se determinaron la mediana de los volúmenes relativos por grupo y se exhiben en las figuras 7, 9 y 11. Se calculó el volumen relativo del tumor (RTV) y los valores de los tratados frente al control (T/C RTV) en porcentaje por cada día de medición en relación con los valores V del día 0.

Peso corporal

Se determinaron los pesos corporales individuales de los ratones dos veces por semana y se calcularon los pesos corporales medios por grupo de tratamiento, los cuales se exhiben en las figuras 8, 10 y 12.

15 Final del experimento

En los estudios 1 y 2, los ratones fueron sacrificados cuando los tumores alcanzaron más de 2 cm^3 , la mediana del volumen del tumor aumentó 3-5 veces, cuando se observó una pérdida de peso corporal consistente o rápida de 20% mantenida durante 72 horas o cuando se cumplió el propósito del experimento. En el estudio 3, los ratones fueron sacrificados cuando el tamaño del tumor alcanzó más de $1,5 \text{ cm}^3$, o cuando los tumores se ulceraron. El estudio 3 finalizó cuando el TV medio en la mayoría de los grupos fue mayor que $1,0 \text{ cm}^3$.

El día de la autopsia, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical e inspeccionados para cambios orgánicos macroscópicos.

Resultados

Los ratones fueron tratados con inyección i.v. de Docetaxel (Taxotere®) los días 0 y 14 con una dosis de 40 mg/kg y con los compuestos de almidón hidroxietilado (20 ml/kg) una vez por semana.

En el estudio 1, todos los ratones desarrollaron tumores después del trasplante s.c. de 5×10^6 células MT-3 hasta un tamaño de $0,046 \pm 0,015 \text{ cm}^3$ dentro de los 7 días. Los ratones fueron tratados por vía intravenosa con una dosis de 40 mg/kg Docetaxel (Taxotere®) en los días 0 y 14, mientras que se inyectaron cuatro especificaciones HES diferentes en disolución salina (que contenían cada una 10% p/v), en un volumen de 20 ml/kg i.v. semanalmente (días 0, 7, 14). Se inyectó disolución salina una vez por semana (20 ml/kg). Todos los grupos fueron tratados durante todo el periodo experimental de manera acorde al esquema planificado. El tumor de los ratones control en el estudio 1 creció hasta un volumen de $1,1 \pm 0,6 \text{ cm}^3$.

En el estudio 2, todos los ratones desarrollaron tumores después del trasplante s.c. de 5×10^6 células MT-3 hasta un tamaño de $0,081 \pm 0,033 \text{ cm}^3$ en un plazo de 9 días. Los ratones recibieron tratamiento por vía intravenosa con una dosis de 40 mg/kg docetaxel en los días 0 y 14, mientras que se inyectaron cuatro especificaciones de HES diferentes en disolución salina (que contenían cada una 10% p/v) en un volumen de 20 ml/kg i.v. semanalmente (días 0, 7, 14). Se inyectó disolución salina una vez por semana (20 ml/kg). Todos los grupos fueron tratados durante todo el periodo experimental de manera acorde al esquema planificado. El tumor de los ratones control creció hasta el día 18 hasta un volumen de $1,48 \pm 1,04 \text{ cm}^3$.

En el estudio 3, todos los ratones desarrollaron tumores después de del trasplante s.c. de 5×10^6 células MT-3 hasta un tamaño de $0,059 \pm 0,018 \text{ cm}^3$ en un plazo de 7 días. Los ratones fueron tratados por vía intravenosa con una dosis de 40 mg/kg docetaxel en los días 0 y 14, mientras que se inyectaron cinco especificaciones de HES distintas (incluido Voluven®) en disolución salina (que contenían cada una 10% p/v) en un volumen de 20 ml/kg i.v. semanalmente (d0, 7 y 14). Se inyectó disolución salina una vez por semana (20 ml/kg). Todos los grupos fueron tratados durante todo el periodo experimental de manera acorde al esquema planificado. El tumor de los ratones control en el estudio 3 creció hasta el día 14 hasta un volumen de $0,805 \pm 0,547 \text{ cm}^3$

Docetaxel fue un control positivo bien escogido. Tuvo un fuerte efecto inhibitor sobre el crecimiento del tumor con una inhibición de más de 85% (14,4% RTV T/C) en el estudio 1; 83% (16,9% RTV T/C) en el estudio 2 y 91% (8,8% RTV T/C) el día 7 en el estudio 3.

Sorprendentemente, el tratamiento con todas las especificaciones de HES ensayadas también resultó en un efecto de inhibición del tumor, como se puede observar en las figuras 7, 9 y 11. En el estudio 1 se observaron efectos especialmente significativos para HES 450/0,7 con valores RTV T/C de 34,4% y HES 100/1,0 con un valor RTV T/C de 56,9%. El compuesto más activo fue HES 450/0,7, que indujo una inhibición importante desde el día 4 hasta el

final del experimento. En el estudio 2, se observaron efectos especialmente significativos para HES 200/0,5 con un valor RTV T/C de 60,5 % y HES 700/0,7 con un valor RTV TC de 76,3%. El compuesto más activo fue HES 200/0,5.

- 5 En el estudio 3, se observaron efectos especialmente significativos para HES 100/0,7/1,3 que resultaron en una inhibición del crecimiento del tumor con valores RTV T/C entre 55,8% y HES130/0,4, Voluven® 10% con un valor RTV T/C de 89,1%. El compuesto más activo fue HES 100/0,7/1,3

Toxicidad general

No se observó toxicidad relacionada con el fármaco durante el estudio 1. Todos los tratamientos fueron bien tolerados sin pérdida de peso corporal. Solamente se observó una demora del crecimiento del peso corporal transitoria en días específicos durante el periodo experimental.

- 10 En el estudio 2, Docetaxel administrado i.v. el día 0 y el día 14 causó apatía. Después del primer tratamiento con Docetaxel, se observó una fuerte pérdida de peso corporal el día 6.

En el estudio 3, Docetaxel administrado i.v. causó una pérdida de peso corporal moderada. Se observó el máximo de 6,5% el día 7 después del primer tratamiento.

- 15 Todos los tratamientos con especificaciones de HES fueron bien tolerados sin ningún cambio en el peso corporal en los tres estudios. (Fig 8, 10 y 12).

La autopsia al final del experimento no reveló cambios orgánicos macroscópicos.

Ejemplo 6:

En otro estudio, se analizó si este efecto podría observarse en un número de tipos de tumores diferentes. Este estudio se realizó con el "Modelo Oncotest", que se explica a continuación:

- 20 En estos estudios, se usó o bien el tipo de HES comercialmente disponible con el nombre Voluven 10%, un "HES 130/04" descrito en detalle previamente, o un "HES 450/0,7", descrito en detalle en la especificación con un Mw de 420 kDa medido de acuerdo con la Farmacopea Europea, con un valor Dn/dc de 0,147 y una Ms de 0,7.

- 25 Los modelos de tumores derivados del paciente (xenoinjertos) utilizados por Oncotest derivaron de muestras quirúrgicas de pacientes. Las células de este tejido tumoral no se transfieren al cultivo celular. En cambio, las células tumorales pasan del paciente humano a un ratón (pasaje 1) y luego de un ratón a otro en forma del tejido tumoral. Este ámbito tiene la ventaja de asemejarse más al 'comportamiento' real de un tumor comparado con una línea celular que se amplió *in vitro* durante muchos años.

- 30 En síntesis, después de su implante primario en ratones lampiños (pasaje 1, P1), los xenoinjertos de tumor se sometieron a pasaje (de un ratón al ratón siguiente) hasta el establecimiento de patrones de crecimiento estables. Se congelaron disoluciones madre de xenoinjertos de pasajes tempranos en nitrógeno líquido. Usualmente, solamente los números de pasajes inferiores a 30, si hubiese disponibles preferiblemente inferiores a 20, se usaron para ensayar el compuesto.

- 35 Los animales y los implantes de tumor se vigilaron a diario hasta que el número máximo de implantes demostró signos claros del comienzo del crecimiento de tumores sólidos. En la aleatorización de los animales, por ejemplo en diferentes jaulas, el volumen de los tumores en crecimiento se determinó inicialmente. Si no se especifica en otra parte, los animales que portan por lo menos un tumor de un volumen de 50 - 250 mm³, preferiblemente 80 - 200 mm³, se distribuyeron en grupos experimentales de acuerdo con el protocolo del estudio, considerando una mediana y un volumen medio del tumor del grupo comparable. El día de la aleatorización se designó como el día 0 de un experimento y también como el primer día de la administración.

- 40 El tiempo de duplicación del volumen del tumor (DT), definido como el intervalo de tiempo (en días) requerido para que un grupo de ratones alcanzara una mediana de RTV (volumen relativo del tumor) de 200% del volumen del tumor inicial (normalmente de 100-200 mm³), se registra habitualmente en los grupos control de los experimentos no tratados o tratados con vehículo, y se calcula una mediana de DT para propósitos de caracterización.

Modelo de tumor	Mediana del tiempo de duplicación (DT)	Características de crecimiento
LXFL 529	4-6	Rápido crecimiento intermedio
LXFE 397	1-4	Rápido crecimiento
RXF 2178	1-4	Rápido crecimiento

El volumen del tumor se determinó mediante una medición bidimensional con calibradores en el día de la aleatorización (Día 0) y luego una o dos veces por semana. Los volúmenes de los tumores se calcularon de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Vol Tumor [mm}^3] = a [\text{mm}] \times b^2 [\text{mm}^2] \times 0,5$$

- 5 en donde "a" es el diámetro mayor y "b" es el diámetro perpendicular del tumor que representa un elipsoide idealizado.

El volumen relativo de un tumor individual el día X (RTV_x) se calculó dividiendo el volumen absoluto [mm³] del tumor respectivo el día X (T_x) por el volumen absoluto del mismo tumor el día de la aleatorización, es decir, el día 0 (T₀), multiplicado por 100, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$10 \quad \text{RTV}_x [\%] = \frac{T_x}{T_0} \times 100$$

Se calculó la mediana grupal (alternativamente media geométrica +/- SD) de los RTV, considerando solamente los tumores de animales que estaban vivos el día en cuestión (para la mediana). La mediana grupal (media geométrica) de los RTV se usa para trazar las curvas de crecimiento de los tumores.

- 15 Comenzando el día 0, se pesa a los animales una o dos veces por semana. Se calculan los pesos corporales relativos (RBW) de los animales individuales dividiendo el peso corporal individual absoluto el día X (BW_x) por el peso corporal individual el día de la aleatorización, es decir, el día 0 (BW₀), se multiplica por 100, como se expone en la siguiente ecuación:

$$\text{RBW}_x [\%] = \frac{\text{BW}_x [\text{g}]}{\text{BW}_0 [\text{g}]} \times 100$$

- 20 Se calculó la mediana grupal (alternativamente media aritmética +/- SD) de los pesos corporales relativos, considerando solamente los pesos de los animales que estaban vivos el día en cuestión (para la mediana).

Se aplicaron los siguientes criterios de finalización para animales individuales, independientemente del estado experimental:

- volumen del tumor > 2000 mm³ (unilateral)
- animales que presentaban tumores ulcerativos, penetrantes en la piel
- 25 • pérdida de peso corporal > 30%
- pérdida de peso corporal continua > 20% durante más de 7 días
- deterioro severo del estado general (apatía, dolor, reducción destacada de la ingesta de alimento y agua, disnea, hábitos o conductas anormales)
- Todos los grupos finalizarán si quedan con menos de 3 animales.

30 6.1 LXFL 529

Los ratones fueron tratados con Everolimus en una dosis de 10 mg/kg por vía oral (p.o.) o con el expansor plasmático "Voluven 10%" en una dosis de 20 ml/kg por vía intravenosa (i.v.) o con disolución salina (20 ml/kg) i.v. en los días 0, 3, 7, 10, 14 y 17. Se determinaron el crecimiento del tumor y el peso corporal durante el curso del experimento.

- 35 Everolimus (Fresenius Kabi, lote: 1101012750e) se conservó a ≤ -18 °C hasta su uso. Voluven® 10% (lote: 14EC3320) se obtuvo como un producto listo para usar de Fresenius Kabi Deutschland GmbH y se conservó a temperatura ambiente hasta su uso. La disolución salina (0,9% NaCl) se obtuvo de AlleMan Pharma.

- 40 La disolución final de Everolimus se preparó mezclando cantidades iguales de mg del compuesto y ml de vehículo (N-metilpirrolidona, Sigma Aldrich, lote: STBB6784 / PEG300, FLUKA, lote: BCBJ0244V; 1:9) inmediatamente antes de la inyección. Se usaron disolución salina y Voluven en la formulación original. Todas las disoluciones se prepararon e inyectaron bajo condiciones estériles.

- 45 Implantes de tumores del xenoinjerto de tumor humano, LXFL 529/32N24 (cáncer de pulmón de células no pequeñas, células grandes), que derivaron de un tumor primario en el pulmón, deficientemente diferenciados, se implantaron subcutáneamente (s.c.) en el flanco izquierdo de ratones hembra NMRI nu/nu inmunodeficientes bajo anestesia de isoflurano. Este xenoinjerto de tumor posee una mediana del tiempo de duplicación registrada de 4-6 días.

Tabla 12

Grupos de tratamiento				
Grupo	Ratones [n]	Sustancias	Dosis	Día de administración
1	5	Disolución salina	20 ml/kg	0,3,7,10,14,17
2	5	Everolimus	10 mg/kg	0,3,7,10,14,17
3	5	Voluven® 10%	20 ml/kg	0,3,7,10,14,17

5 El volumen de aplicación fue 20 ml/kg por peso corporal del ratón para disolución salina y Voluven® 10% y 10 ml/kg de la disolución de 1 mg/ml para Everolimus (dosis final administrada 10 mg/kg). La ruta de administración fue inyección i.v. en la vena del rabo para disolución salina y Voluven® 10%. Se administraron 10 mg/kg de peso corporal de Everolimus p.o.

Resultados

10 Como se ilustra en la Figura 13, después del tratamiento con Voluven, el tamaño del tumor de los ratones tratados se redujo comparado con el tamaño del tumor después del mismo tiempo en ratones tratados con disolución salina solamente. Al final de la fase de tratamiento, el día 21, el tamaño del tumor fue incluso más pequeño que en el grupo de tratamiento que recibió Everolimus, el fármaco "estándar de atención médica". En la Figura 14, se ilustra que el peso corporal de los animales tratados no se redujo debido al tratamiento con Voluven, mientras que ocurrió una ligera reducción en los animales que recibieron Everolimus.

6.2. LXFE 397

15 Los ratones recibieron tratamiento con Capecitabina en una dosis de 100 mg/kg por vía oral (p.o.), con el expansor plasmático Voluven® 10% en una dosis de 20 ml/kg por vía intravenosa (i.v.), o con disolución salina (20 ml/kg) i.v. en los días 0, 4, 7, 11, 14 y 18. El crecimiento del tumor y el peso corporal se determinaron durante el curso del experimento.

20 La Capecitabina (Xeloda®, Roche, lote: X9062B01) se conservó a temperatura ambiente hasta su uso. Voluven® 10% (lote: 14EC3320) se obtuvo como un producto listo para usar de Fresenius Kabi Deutschland GmbH y se conservó a temperatura ambiente hasta su uso. La disolución salina (0,9% NaCl) se obtuvo de AlleMan Pharma.

25 La disolución final de Capecitabina se preparó disolviendo 60 mg del compuesto en 6 ml de agua ad iniectionem (AlleMan Pharma) para obtener una disolución con una concentración de 10 mg/ml inmediatamente antes de la inyección. Se usaron disolución salina y Voluven® en la formulación original. Todas las disoluciones se prepararon e inyectaron bajo condiciones estériles.

30 Los implantes de tumores del xenoinjerto de tumores humanos, LXFE 397/26N17 (cáncer de pulmón de células no pequeñas, histológicamente caracterizados como carcinoma de células escamosas), derivados de un tumor primario en el pulmón, deficientemente diferenciados, se implantaron por la vía subcutánea (s.c.) en el flanco izquierdo de ratones hembra NMRI nu/nu inmunodeficientes bajo anestesia de isoflurano. Este xenoinjerto de tumor tiene un tiempo de duplicación registrado de 1-4 días.

Tabla 13

Grupos de tratamiento				
Grupo	Ratones [n]	Sustancias	Dosis	Días de administración
1	5	Disolución salina	20 ml/kg	0,4,7,11,14,18
2	5	Capecitabina	100 mg/kg	0,4,7,11,14,18
3	5	Voluven® 10%	20 ml/kg	0,4,7,11,14,18

El volumen de aplicación fue 20 ml/kg por peso corporal del ratón para disolución salina y Voluven® 10% (i.v.) y 100 mg/kg para Capecitabina (p.o.).

Resultados

- 5 Después del tratamiento con Voluven, el tamaño del tumor de los ratones tratados se redujo en comparación con el tamaño del tumor después del mismo tiempo en ratones tratados con disolución salina solamente. El día 14, el tamaño del tumor fue incluso más pequeño que en el grupo de tratamiento que recibió Capecitabina, el fármaco de "estándar de atención médica", como se ilustra en la Figura 15. En la Figura 16 se ilustra que el peso corporal de los animales tratados no se redujo debido al tratamiento con Voluven, ni cuando se trataron con Capecitabina.

6.3. RXF 2178

- 10 Los ratones fueron tratados con un almidón hidroxietilado (HES 450/0,7) en una dosis de 20 ml/kg de una disolución al 10% i.v., o con disolución salina (20 ml/kg) i.v. en los días 0, 2, 4, 7, 9, 11, 14. HES 450/0,7, caracterizado en la tabla 14, se obtuvo de Fresenius Kabi Austria (Linz) y se conservó a temperatura ambiente hasta su uso. La disolución salina (0,9% NaCl) se obtuvo de AlleMan Pharma.

Tabla 14

Parámetro de prueba	Propiedades medidas de "HES 450/07"
Aspecto	polvo
Color	blanco a blanco amarillento
Absorción 420 nm/1cm	0,012
Mw	419,488 kDa
Mw de 10% de la fracción más pequeña	25,857 kDa
Mw de 10% de la fracción más grande	1771,766 kDa
MS	0,70

- 15 Los implantes de los tumores del xenoinjerto del tumor humano, RXF 2178 (cáncer renal, histología: cáncer de células renales de células claras; que derivaron de un tejido renal metastásico se implantaron por vía subcutánea (s.c.) en el flanco izquierdo de ratones hembra NMRI nu/nu inmunodeficientes bajo anestesia de isoflurano. Este xenoinjerto de tumor tiene una mediana del tiempo de duplicación de 1-4 días.

20 Tabla 15:

Tratamiento					
Grupo	Ratones [n]	Sustancias	Dosis	Ruta	Días de administración
1	5	Disolución salina	20 ml/kg	i.v.	0,2,4,7,9,11
2	5	HES (450/0,7)	20 ml/kg	i.v.	0,2,4,7,9,11

El volumen de aplicación fue 20 ml/kg por peso corporal del ratón para disolución salina, y 20 ml/kg por peso corporal del ratón para una disolución al 10% p/v de HES 450/0,7 (i.v.).

El crecimiento del tumor y el peso corporal se determinaron durante el curso del experimento.

- 25 Resultados

Durante todo el curso del tratamiento, el tamaño del tumor de los ratones tratados con HES 450/0,7 se redujo claramente en comparación con el tamaño del tumor en ratones tratados con disolución salina solamente, como se ilustra en la Figura 17. En la Figura 18, se ilustra que el peso corporal de los animales tratados no se redujo significativamente debido al tratamiento con HES 450/0,7.

5

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende almidón hidroxietilado (HES), en donde HES es el único compuesto terapéuticamente activo para uso en el tratamiento del cáncer, en donde el tratamiento se caracteriza por una reducción de la tasa de crecimiento del tumor.
- 5 2. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado (HES) según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento del cáncer según la reivindicación 1, en donde el cáncer se selecciona del grupo de tumores sólidos, que son tumores que se originan en tejidos sólidos.
- 10 3. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado (HES) según las reivindicaciones 1 o 2, para uso en el tratamiento del cáncer según la reivindicación 1, en donde el cáncer se selecciona del grupo de carcinoma.
- 15 4. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso en el tratamiento del cáncer según la reivindicación 1, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en los tipos de cáncer que se originan en la piel o en los tejidos que recubren o cubren los órganos internos, como piel, pulmón, colon, páncreas, ovario, epitelio, carcinomas de células escamosas o basales, melanomas, papilomas y adenomas.
- 20 5. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para uso en el tratamiento del cáncer según la reivindicación 1, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en carcinoma de mama, carcinoma de pulmón, carcinoma de próstata y carcinoma renal.
- 25 6. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado según la reivindicación 1 o 2, para uso en el tratamiento del cáncer según la reivindicación 1, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer óseo, cáncer de tejidos blandos, osteosarcoma, sinoviosarcoma, condrosarcoma, liposarcoma, angiosarcoma, rhabdomyosarcoma y fibrosarcoma.
- 30 7. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado según la reivindicación 1 o 2, para uso en el tratamiento del cáncer según la reivindicación 1, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer biliar, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervicouterino, cáncer colorrectal, cáncer gastrointestinal, melanoma maligno, mesotelioma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de próstata, sarcoma y cáncer de pulmón de células pequeñas.
- 35 8. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso en el tratamiento del cáncer según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el cáncer se caracteriza por presentar un tipo de tumor, caracterizado por una mediana del tiempo de duplicación de menos de 6 días, preferiblemente de 4 días o menos.
- 40 9. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado según la reivindicación 8, para uso en el tratamiento del cáncer según la reivindicación 8, caracterizada porque el tiempo de duplicación se determina en un modelo de ratón adecuado para determinar las tasas de crecimiento del cáncer.
- 45 10. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado (HES) según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso en el tratamiento del cáncer según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w entre 20 y 1300 kDa determinado de acuerdo con el método de calibración descrito en la Farmacopea Europea 7.0, 01/2011:1785, pág. 984, con un valor dn/dc de 0,147+/-0,001.
- 50 11. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado (HES) según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso en el tratamiento del cáncer según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el almidón hidroxietilado tiene un peso molecular medio M_w entre 65 y 1300 kDa.
12. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado (HES) según cualquiera de las reivindicaciones precedentes para uso en el tratamiento del cáncer según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el tratamiento comprende inhibir o desacelerar la proliferación de una célula tumoral, sin afectar a una célula de crecimiento normal.
13. Una composición farmacéutica que comprende un almidón hidroxietilado (HES) según cualquiera de las reivindicaciones precedentes para uso en el tratamiento del cáncer según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el tratamiento comprende detener el ciclo mitótico de la célula tumoral.

Figura 1:

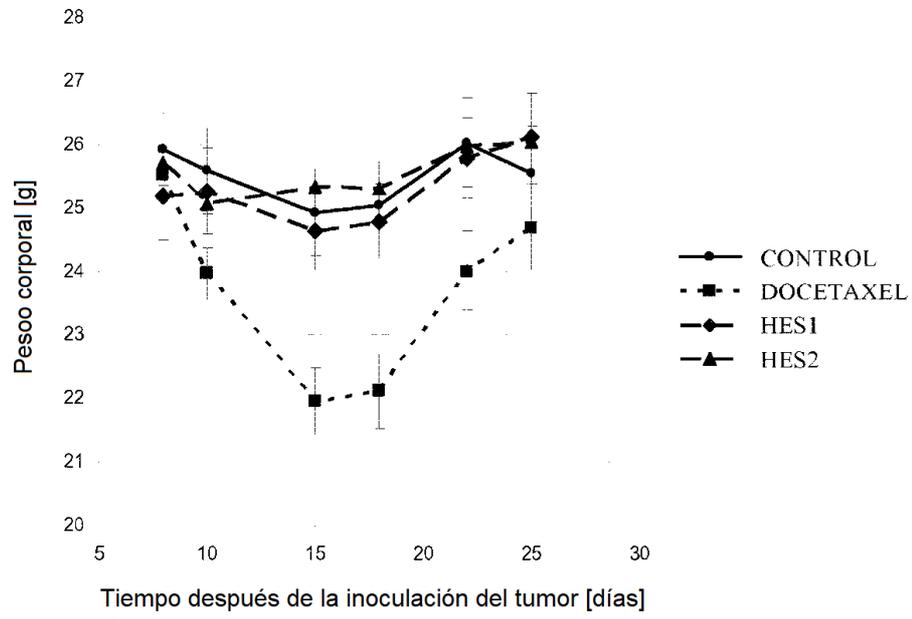


Figura 2:

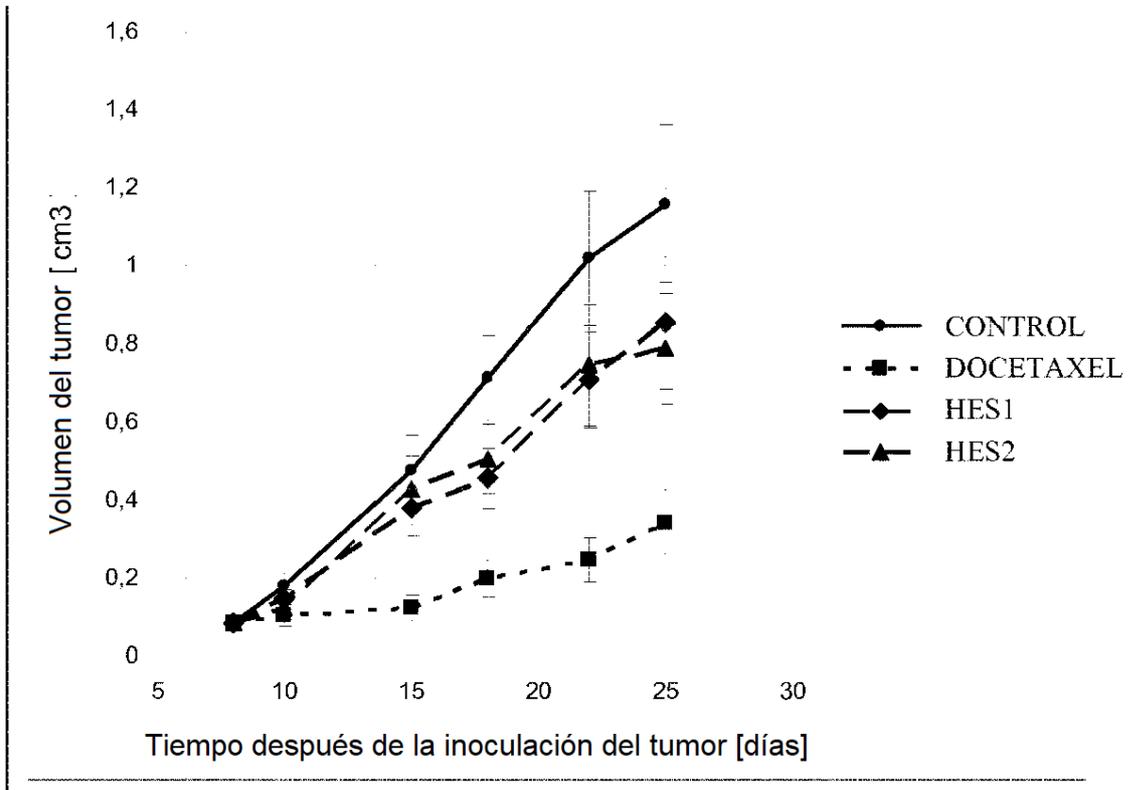


Figura 3:

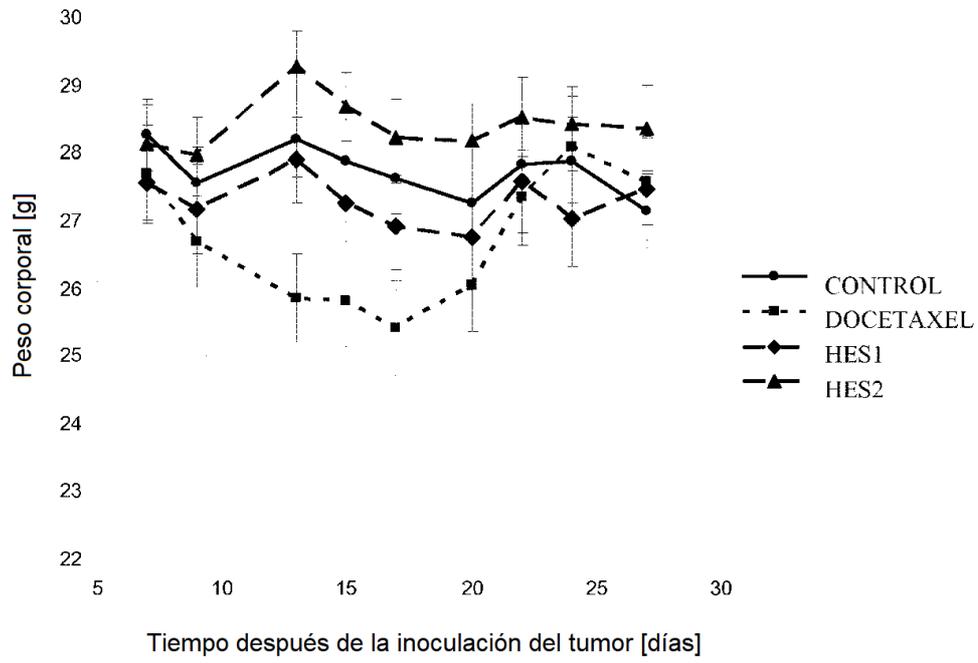


Figura 4:

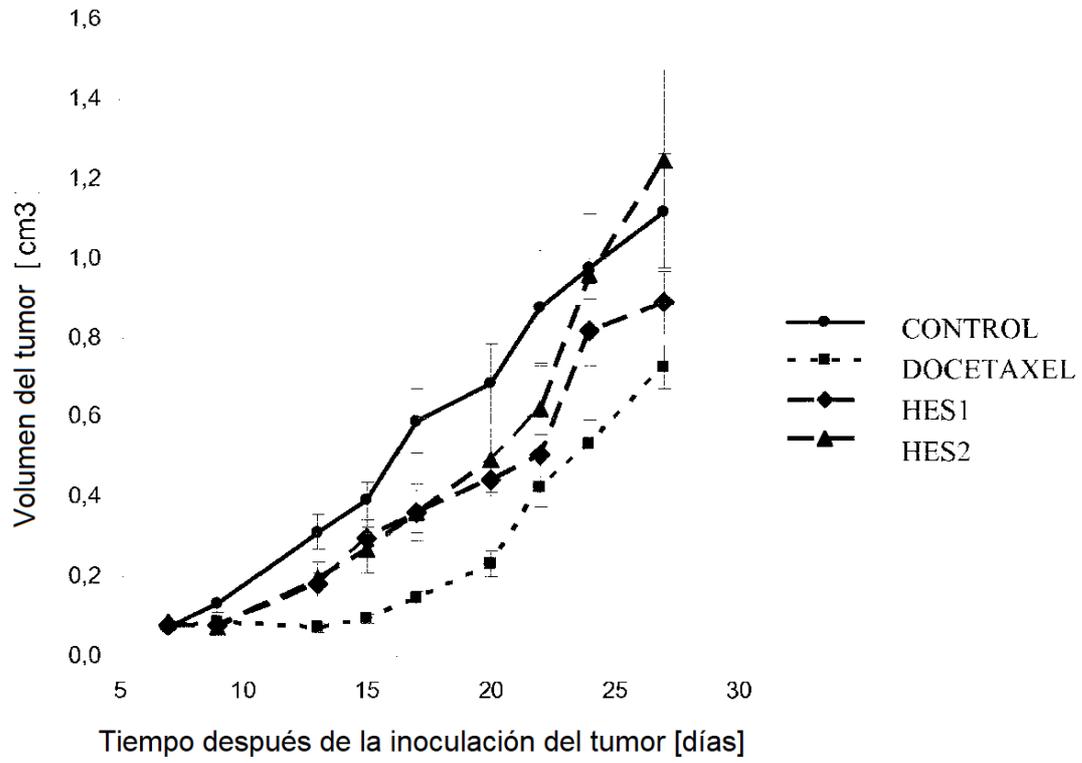


Figura 5

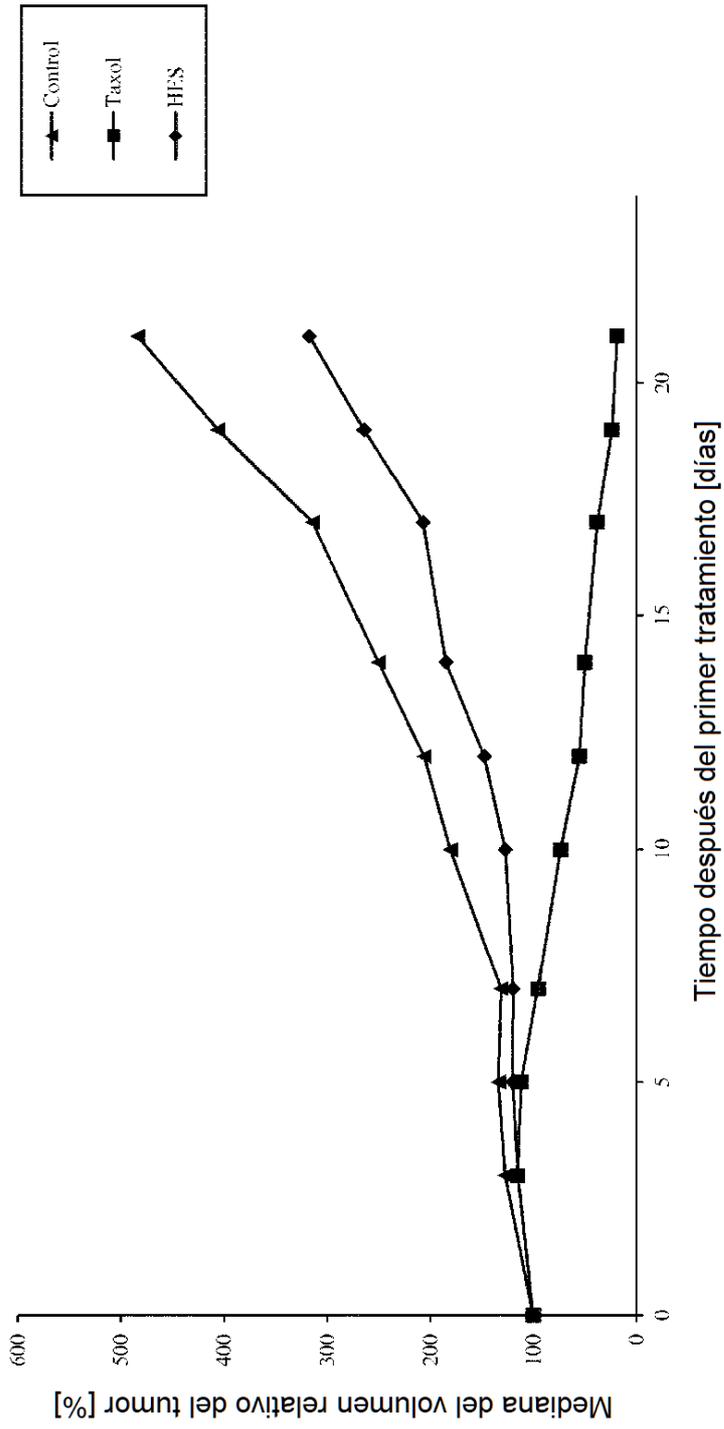


Figura 6

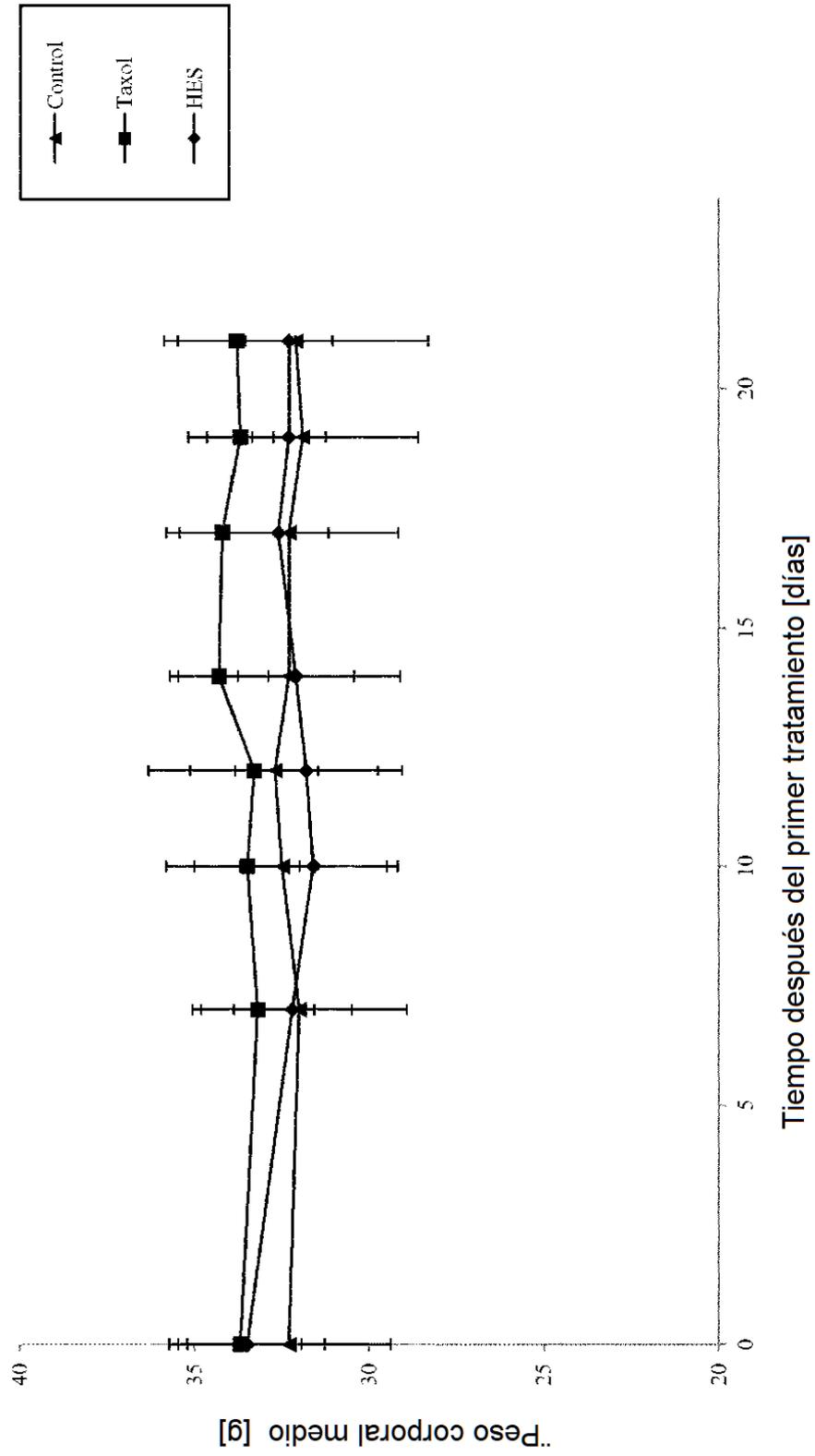


Figura 7

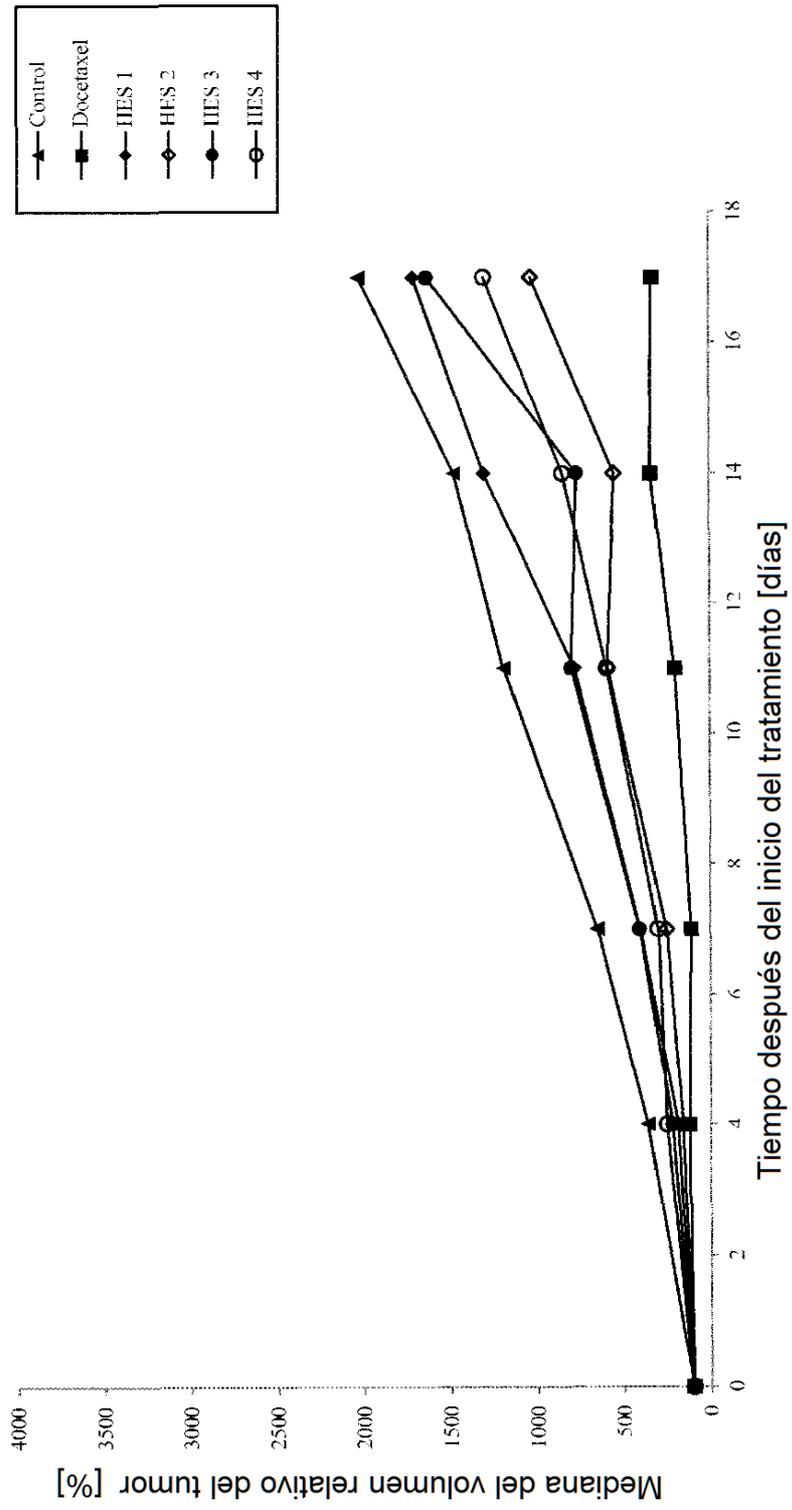


Figura 8

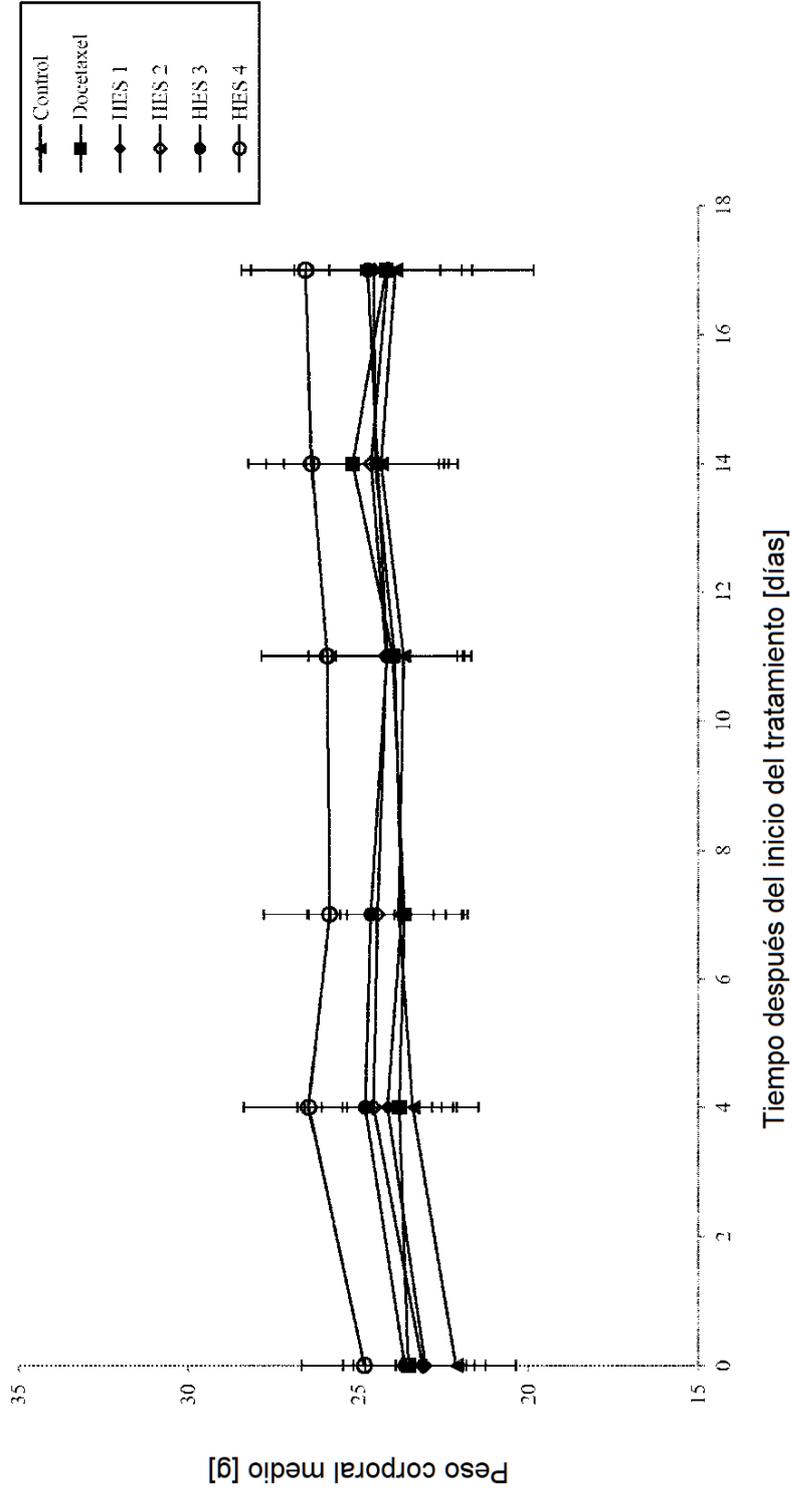


Figura 9

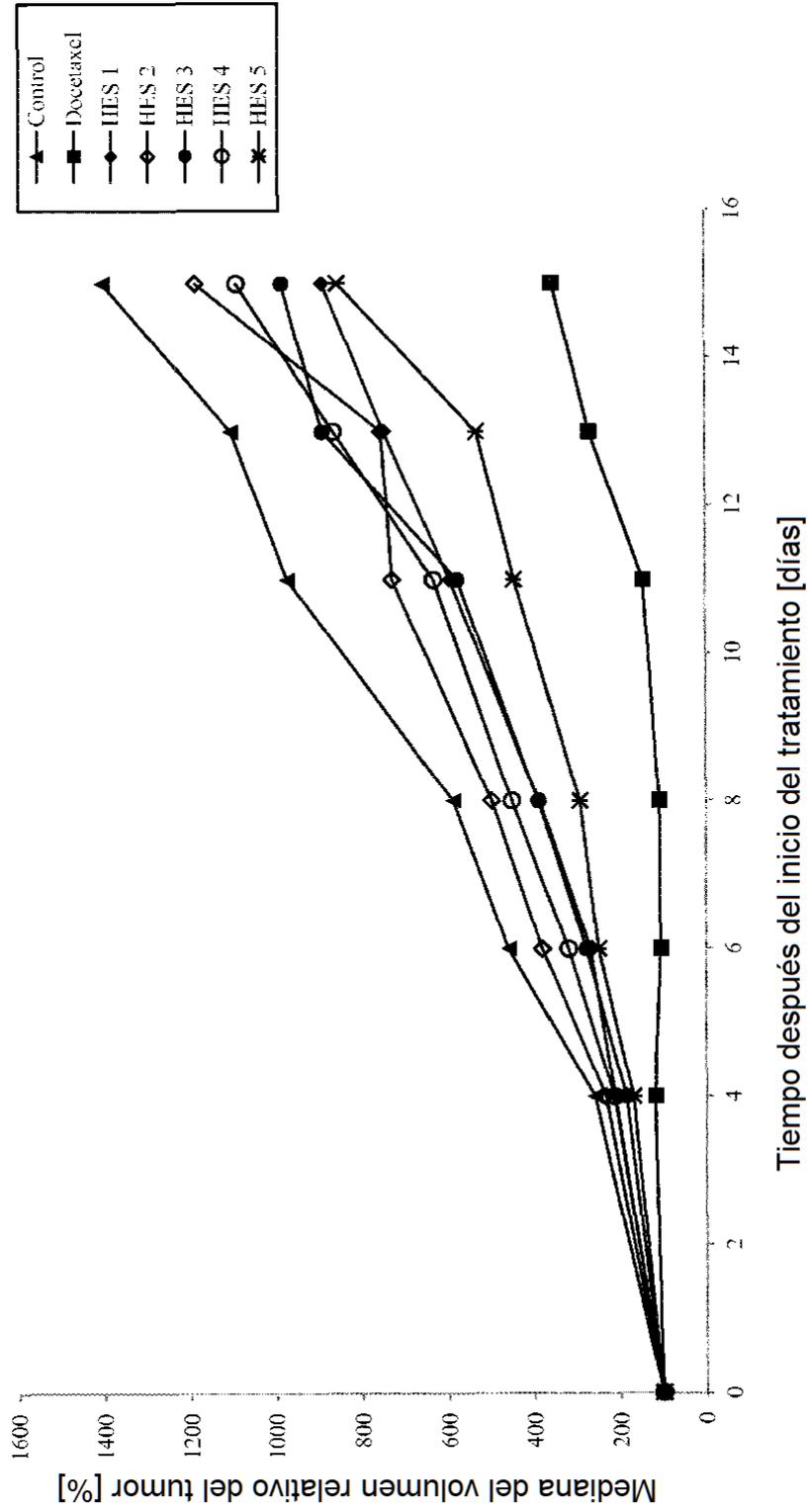


Figura 10

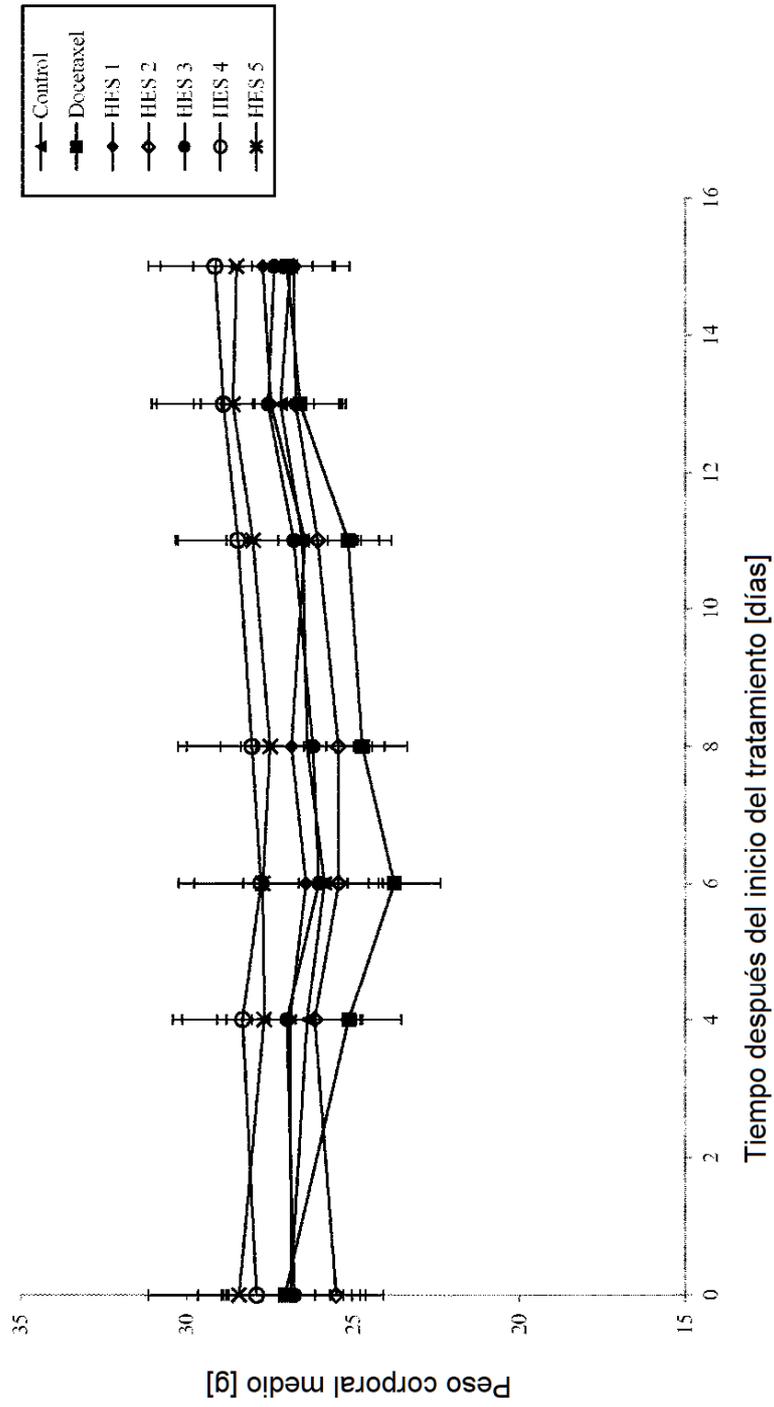
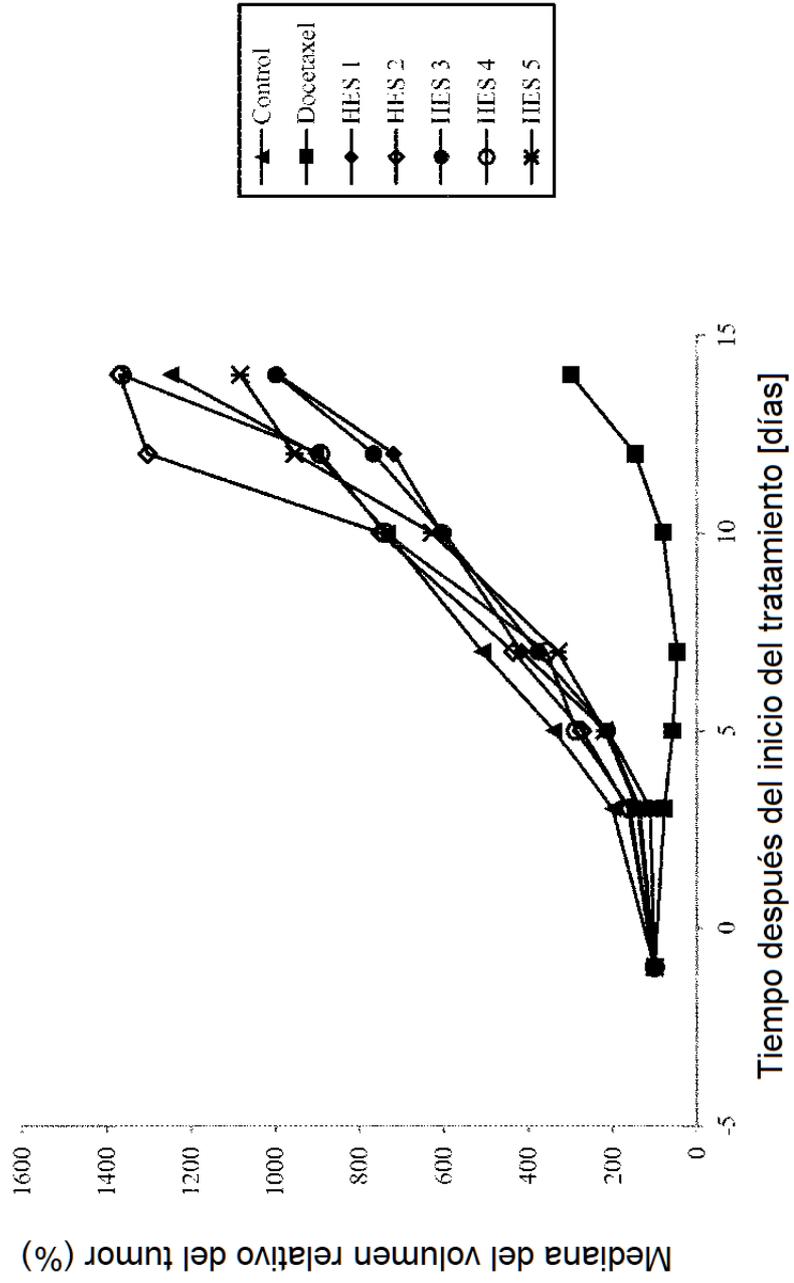


Figura 11



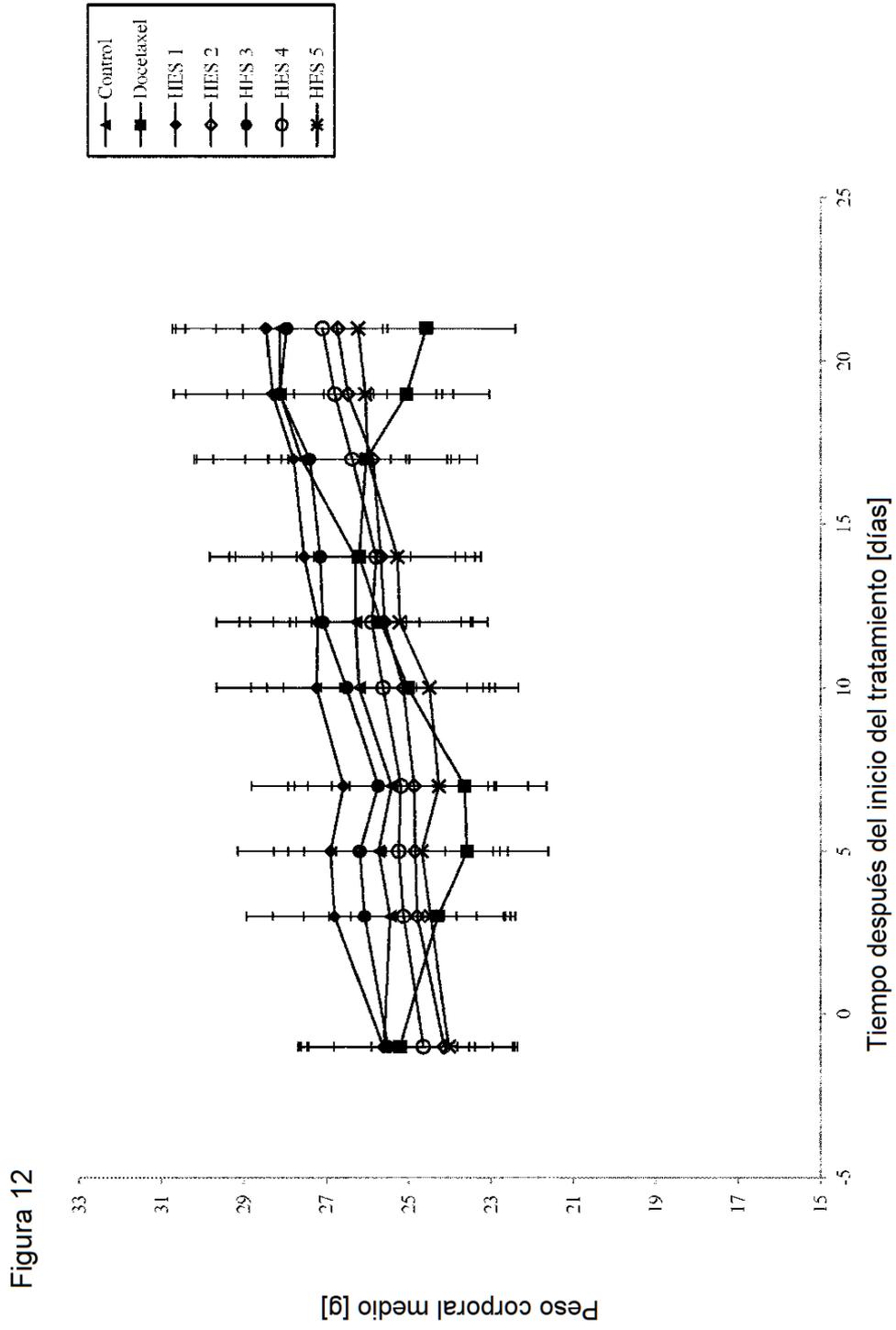


Figura 13

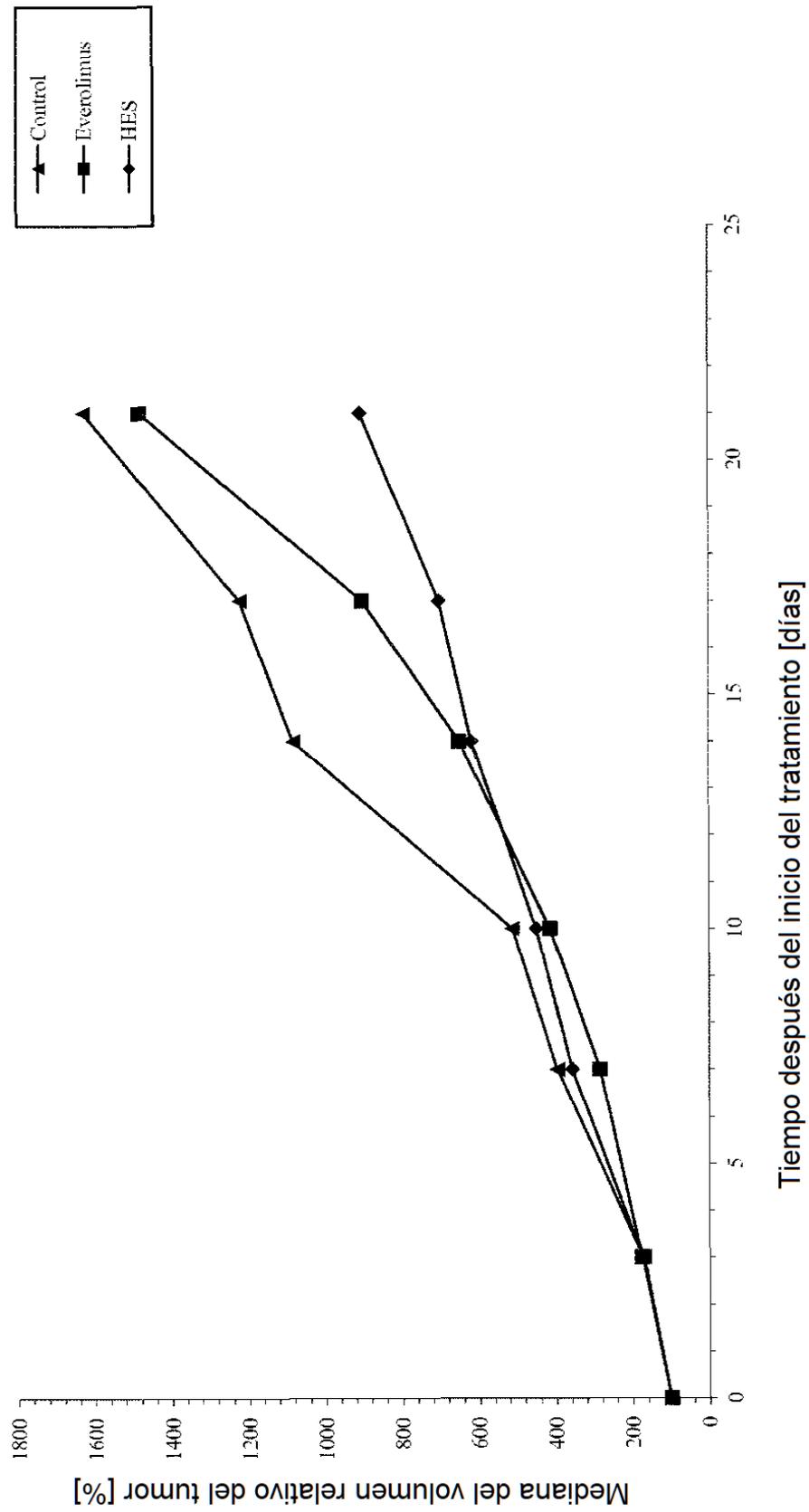


Figura 14

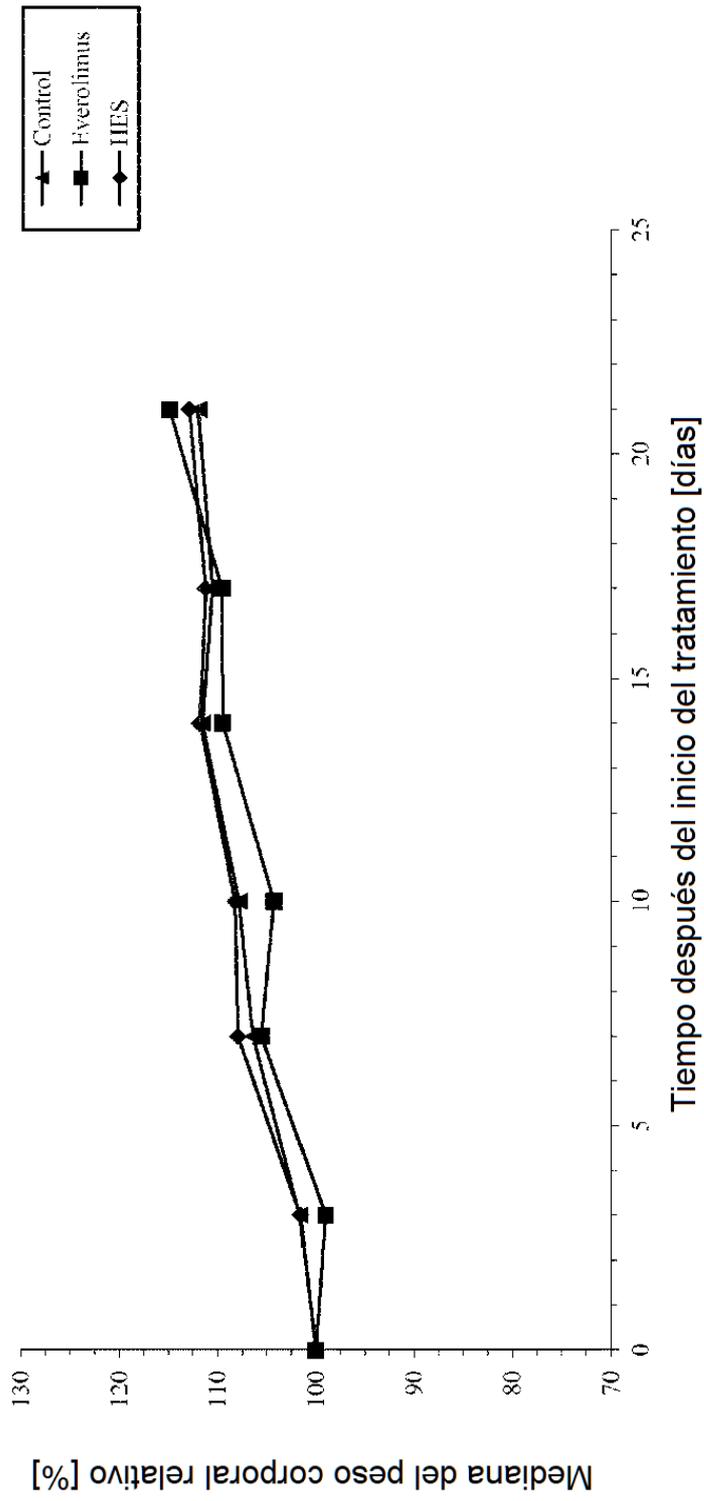


Figura 15

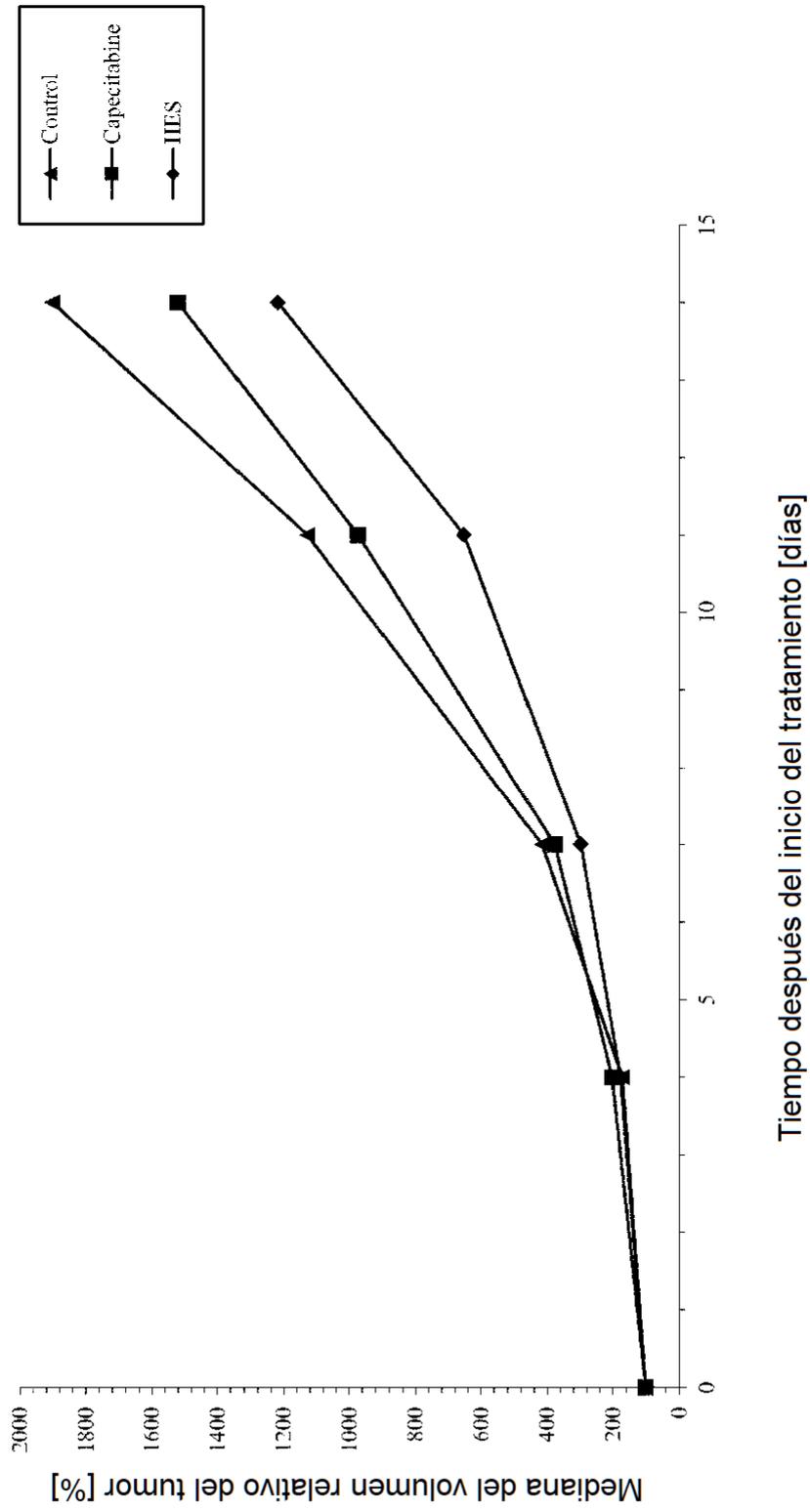


Figura 16

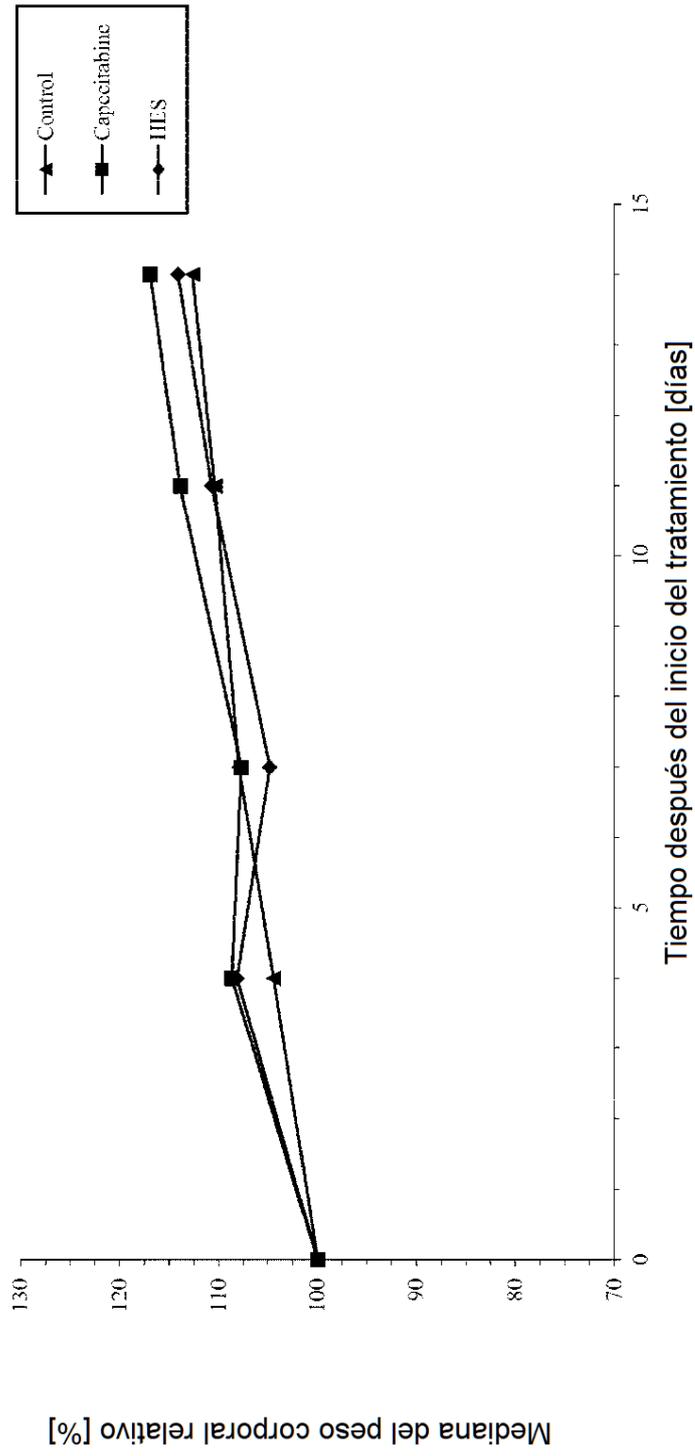


Figura 17

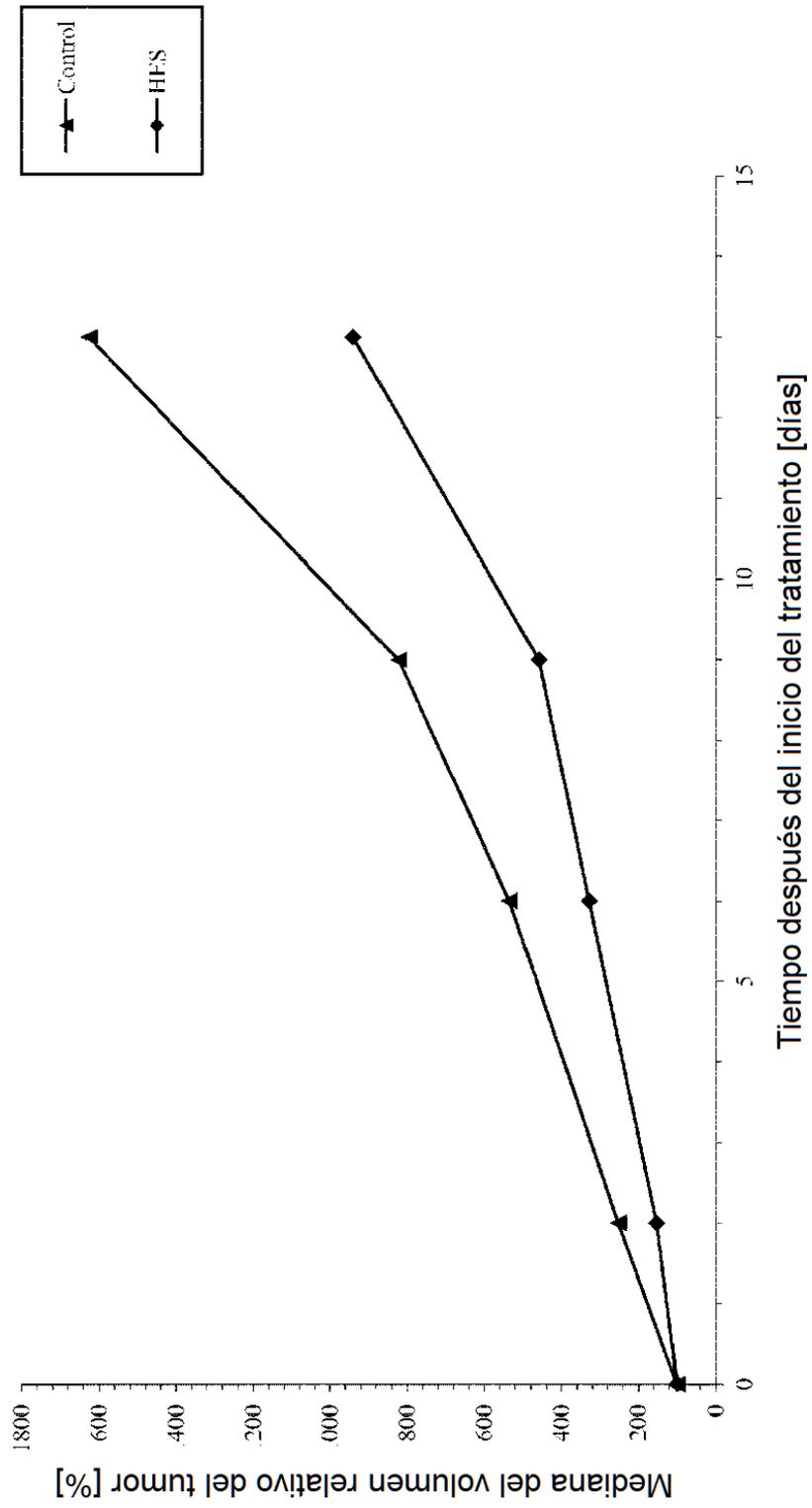


Figura 18

