



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 355 038**

(51) Int. Cl.:

**A61K 49/22** (2006.01)

**A61K 9/127** (2006.01)

**A61K 31/685** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61K 41/00** (2006.01)

(12)

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **05781799 .1**

(96) Fecha de presentación : **02.09.2005**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1839677**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **03.10.2007**

(54) Título: **Adyuvante de emulsión fluorocarbonada para terapia de HIFU y su uso.**

(30) Prioridad: **10.01.2005 CN 2005 1 0000343**

(73) Titular/es:

**Chongqing Haifu (HIFU) Technology Co., Ltd.  
1 Qingsong Road Renhe Town Yubei District  
Chongqing 401121, CN**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**22.03.2011**

(72) Inventor/es: **Wang, Zhibiao;  
Li, Faqi;  
Xiao, Ziwen;  
Xiao, Yanbing;  
Liu, Liping y  
Wang, Zhilong**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**22.03.2011**

(74) Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 355 038 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

Adyuvante de emulsión fluorocarbonada para terapia de HIFU y su uso.

### 5 Campo de la presente invención

La presente invención se refiere a los campos de medicina y tratamiento médico, específicamente al campo del tratamiento con ultrasonido, y más particularmente a un agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU, que puede incrementar la deposición de energía acústica en la localización diana durante el 10 tratamiento con HIFU, y a su uso.

### Antecedentes de la presente invención

El ultrasonido focalizado de alta intensidad (HIFU) como técnica nueva para tratar tumores y otras enfermedades 15 ya ha sido reconocido en aplicaciones clínicas. HIFU emplea ultrasonido focalizado, que proporciona energía de ultrasonidos de alta intensidad, continua, en el foco dando como resultado efectos térmicos instantáneos (65-100°C), efectos de cavitación, efectos mecánicos y efectos sonoquímicos, para provocar selectivamente la necrosis coagulativa en el foco, y evitar la proliferación, invasión y metástasis de los tumores.

20 Xiaojuan Ji *et al.* describe el uso de agentes de contraste de ultrasonidos en el tratamiento con HIFU, en el que los agentes de contraste son microburbujas ("The use of ultrasound contrast-agent in HIFU against tumors", China J. Ultrasonogr., vol. 12, nº 12, diciembre 2003, páginas 748-750).

25 C. J. Harvey *et al.* también dan a conocer la aplicación de gas que contiene microburbujas para la terapia con HIFU, y sus interacciones complejas con ondas de ultrasonidos ("Advances in ultrasound", Clinical Radiology, Livingstone, Harlow, GB, vol. 57, nº 3, marzo 2003, páginas 155-157, XP009071168,ISSN 0009-9260).

30 Se demostró que la energía acústica se atenuaba exponencialmente a medida que aumenta la distancia de transmisión durante la transmisión de ultrasonidos en el cuerpo (Baoqin Liu *et al.*, Chinese Journal of Ultrasound in Medicine, 2002, 18(8):565-568). Además, la energía durante la transmisión de ultrasonidos en tejidos blandos se atenuó debido a la absorción, dispersión, refracción, difracción y similar de los tejidos, entre los cuales la absorción y dispersión de los tejidos son principalmente responsables de la pérdida de energía (Ruo Feng y Zhibiao Wang como editores en jefe, Practical Ultrasound Therapeutics, Science and Technology Reference Publisher of China, Pekín, 2002.14). Por lo tanto, cuando el tratamiento con HIFU se usa para tratar tumores profundamente asentados y de gran tamaño, la 35 energía acústica transmitida a la diana sería relativamente baja. De este modo, disminuiría la eficacia terapéutica y el tiempo de tratamiento se prolongaría debido a la atenuación de la energía acústica.

40 Por supuesto, aunque el poder de transmisión del transductor terapéutico se puede incrementar a fin de mejorar la eficacia terapéutica, es muy probable que el tejido normal a lo largo del recorrido de la transmisión de ultrasonidos se queme en un entorno de ultrasonidos de alta intensidad.

45 Además, actualmente, cuando la técnica de HIFU se aplica clínicamente a un tumor hepático que está bloqueado por las costillas en el recorrido de la transmisión de ultrasonidos, las costillas se retiran actualmente a fin de incrementar la deposición de energía en la localización diana, acortar el tiempo de tratamiento y mejorar los efectos terapéuticos. De este modo, no se puede asegurar la no invasividad del tratamiento con HIFU, lo que es indeseable para los pacientes y médicos.

50 Los problemas anteriores han limitado desventajosamente el uso del tratamiento con HIFU como una técnica para la práctica clínica. Por lo tanto, los problemas técnicos con respecto a incrementar la deposición de energía en la localización diana, tratando eficazmente los tumores profundamente asentados sin dañar el tejido normal circundante en el recorrido acústico, y tratando un tumor hepático que está bloqueado por las costillas sin eliminar las costillas, necesitan ser resueltos urgentemente.

### Sumario de la invención

55 Un objetivo de la presente invención es proporcionar un agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU, que puede potenciar la deposición de energía acústica en el tejido diana durante el tratamiento con HIFU.

60 Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un método para potenciar la deposición de energía acústica en la localización diana durante el tratamiento con HIFU usando el agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada de la presente invención para el tratamiento con HIFU.

65 Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar el uso de un agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU para potenciar la eficacia del tratamiento con HIFU.

A fin de lograr los objetivos anteriores, en una realización, la presente invención proporciona un agente potenciador para el tratamiento con HIFU. El agente potenciador de la presente invención es una sustancia que puede potenciar la

absorción de energía acústica en la localización diana a tratar con HIFU tras su administración a un cuerpo biológico, es decir, una sustancia que se puede usar para reducir la energía acústica necesaria para provocar lesiones de un tejido diana (tejido tumoral y tejido no tumoral) por unidad de volumen del tejido durante el tratamiento con HIFU. En la presente invención, los tipos de las sustancias usadas como los agentes potenciadores para el tratamiento con HIFU 5 no están particularmente limitados, en tanto que las sustancias sean emulsiones fluorocarbonadas y puedan cambiar el entorno acústico del tejido diana y promover la absorción y deposición de energía acústica terapéutica en el tejido diana.

Como se usa aquí, el término “lesión” se refiere al cambio sustancial en el estado fisiológico de un tejido tumoral 10 o tejido normal; generalmente se refiere a la necrosis coagulativa de un tejido tumoral o tejido normal. El factor de eficacia energética (EEF) se puede usar para cuantificar la energía acústica necesaria para provocar lesiones de un tejido diana por unidad de volumen del tejido. El EEF se presenta mediante la expresión  $EEF = \eta Pt/V$  (unidad: J/mm<sup>3</sup>), y se refiere a la energía acústica necesaria para provocar lesiones de un tejido tumoral o un tejido normal por unidad 15 de volumen del tejido, en la que  $\eta$  se refiere al coeficiente de focalización de un transductor de HIFU, que refleja la capacidad focalizadora de la energía de ultrasonidos del transductor, aquí  $\eta = 0,7$ ; P se refiere al poder acústico total de una fuente de HIFU (unidad: W), t se refiere al tiempo total de tratamiento con HIFU (unidad: s); y V se refiere al volumen de las lesiones inducidas por HIFU (unidad: mm<sup>3</sup>). Una sustancia que disminuye enormemente el EEF del tejido diana tras su administración es más adecuada para ser usada como el agente potenciador para el tratamiento con HIFU 20 según la presente invención.

El agente potenciador para el tratamiento con HIFU disminuye enormemente el EEF del tejido diana tras su administración. Como resultado, la relación entre el EEF del tejido diana medido antes de la administración del agente potenciador (es decir,  $EEF_{(base)}$ ) y el EEF del tejido diana medido tras la administración del agente potenciador (es decir,  $EEF_{(medición)}$ ) es mayor que 1, preferiblemente mayor que 2, y más preferiblemente alrededor de 4. El límite 25 superior de la relación no está particularmente limitado, y se prefiere una relación más elevada.

Especificamente, el agente potenciador para el tratamiento con HIFU de la presente invención comprende una fase discontinua comprendida por un núcleo encapsulado por un material formador de membrana, y una fase continua que comprende un medio acuoso. La fase discontinua está dispersa uniformemente en la fase continua, y el tamaño de 30 partículas de la fase discontinua oscila desde 0,1-1  $\mu\text{m}$ ; la cantidad del material formador de membrana en el agente potenciador es 0,1-100 g/l, preferiblemente 1-50 g/l, y más preferiblemente 5-20 g/l; el núcleo comprende un líquido que sufre una transición de fase líquido-gas a 38-100°C (a saber, el líquido puede pasar al estado gaseoso en el cuerpo animal o en el cuerpo humano durante el tratamiento con HIFU), y la cantidad del material del núcleo en el agente 35 potenciador es 5-200 ml/l, preferiblemente 10-100 ml/l, y más preferiblemente 20-80 ml/l.

En la realización anterior de la presente invención, el material formador de membrana incluye: lípidos, tales como 3-sn-fosfatidilcolina, sal sódica de 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidilglicerol, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfatidicolina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidato de sodio, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina, fosfatidilserrina y fosfatidilserrina hidrogenada, colesterol, y glucolípido; sacáridos, incluyendo, por ejemplo, glucosa, fructosa, 40 sacarosa, almidón y sus productos de degradación; proteínas, tales como albúmina, globulina, fibrinógeno, fibrina, hemoglobina, y los productos de degradación de proteínas vegetales y similares.

El material formador de membrana del agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento 45 con HIFU según la presente invención es preferiblemente un biomaterial biocompatible y degradable, tal como un lípido, de forma que el agente potenciador se puede inyectar intravenosamente, se puede transportar fácilmente a través de la circulación sanguínea, y después puede ser fagocitado rápidamente por los tejidos del cuerpo humano, que están llenos de células reticuloendoteliales. Por lo tanto, se puede depositar una masa de agente potenciador en los tejidos del cuerpo humano en un cierto tiempo, cambiando significativamente el entorno acústico del tejido diana. De este modo, la capacidad de absorción de ultrasonidos del tejido se puede potenciar significativamente, la deposición de 50 energía acústica en el tejido diana durante el tratamiento con HIFU se puede incrementar, y eventualmente la eficacia con la cual el tratamiento con HIFU clínico puede extirpar células tumorales mejorará enormemente.

En la realización anterior de la presente invención, el líquido que sufre una transición de fase de líquido-gas a 38-100°C incluye alcanos de C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>, tales como n-pentano, e i-pentano, y fluorohidrocarbonos de C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>, y similares 55 (véanse las páginas 65-70 de la patente china nº ZL94191564 (Solicitud nº CN1068230C)).

En la realización anterior de la presente invención, el medio acuoso es agua destilada, disolución salina fisiológica o disolución de glucosa. La concentración de la disolución de glucosa puede ser hasta 50% (p/v). Pero la disolución de glucosa no se puede usar como el medio acuoso para el agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para 60 el tratamiento con HIFU en pacientes diabéticos.

En una realización preferida, el agente potenciador puede contener un emulsionante. El emulsionante se selecciona típicamente de un grupo que consiste en monoésteres de ácidos grasos de C<sub>16-18</sub> con etilenglicol, monoésteres de ácidos 65 grasos de C<sub>16-18</sub> con dietilenglicol, diésteres de ácidos grasos de C<sub>16-18</sub> con dietilenglicol, monoésteres de ácidos grasos de C<sub>16-18</sub> con trietilenglicol, emulsionantes de éster de ácido graso con sorbitán (tipo Span), emulsionantes de polisorbato (tipo Tween), emulsionantes a base de monolaurato de polietilenglicol, emulsionantes a base de laurato de polioxietileno, 3-sn-fosfatidilcolina (lecitina), ácido cólico, y similares. La cantidad del emulsionante en el agente potenciador es 5-150 g/l. Además, el agente potenciador también puede contener un agente estabilizante, tal como

carboximetilcelulosa sódica (CMC-Na), carboximetilcelulosa potásica, carboxietilcelulosa sódica, carboxietilcelulosa potásica, carboxipropilcelulosa sódica, carboxipropilcelulosa potásica, glicerina, y similares. La cantidad de la CMC-Na contenida en el agente potenciador es 0,01-10 g/l, preferiblemente 0,05-0,6 g/l, y más preferiblemente 0,1-0,3 g/l. La cantidad de la glicerina contenida en el agente potenciador es 5-100 g/l.

En una realización más preferida, a fin de incrementar la estabilidad del agente potenciador, el agente potenciador se ajusta hasta pH 7,0-9,0, preferiblemente 7,5-8,5. Se pueden usar ácidos o bases inorgánicos u orgánicos para ajustar el valor del pH del agente potenciador.

Adicionalmente, a fin de hacer que el agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU según la presente invención se dirija a un tejido o foco tumoral específico, se pueden añadir al agente potenciador sustancias que tengan afinidad específica por el tejido tumoral o por el foco, tal como un anticuerpo específico para el tumor.

Los agentes de contraste de ultrasonidos de tipo emulsión fluorocarbonada que se usan ampliamente en formación de imágenes mediante ultrasonidos se pueden usar como el agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU de la presente invención. De este modo, en otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de agente de contraste de ultrasonidos de tipo emulsión fluorocarbonada para preparar el agente potenciador para el tratamiento con HIFU.

En otra realización, la presente invención proporciona un método para preparar el agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU. El método comprende:

- (1) pesar y mezclar un material formador de membrana y un material del núcleo para obtener 0,1-100 g/l de material formador de membrana y 5-200 g/l de material del núcleo, añadir un medio acuoso a la mezcla hasta un volumen predeterminado, y agitar la mezcla para formar una emulsión con grandes gotitas;
- (2) emulsionar la emulsión con grandes gotitas preparada en la etapa (1) en un homogeneizador de alta presión (véase el Ejemplo 19 descrito en la patente china nº CN1068230C). Preferiblemente, la emulsión con grandes gotitas se emulsiona dos veces.

En el método para preparar el agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU de la presente invención, la mezcla se agita y dispersa preferiblemente en un baño de hielo en la etapa (1) mencionada anteriormente, y más preferiblemente se puede añadir a la mezcla un emulsionante y/o agente estabilizante cuando se mezclan el material formador de membrana y el material del núcleo.

La presente invención se refiere además a un método para incrementar la deposición de energía en la localización diana durante el tratamiento con HIFU, en el que el método comprende administrar una dosis eficaz del agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada de la presente invención intravenosamente vía instilación IV continua y rápida o inyección de bolo a un paciente a 0-30 minutos antes de aplicar el tratamiento con HIFU a un paciente. La dosis eficaz mencionada anteriormente varía con el tipo de tumor, peso del paciente, localización del tumor, volumen del tumor. Sin embargo, un doctor o farmacéutico puede determinar fácilmente la dosis adecuada para diferentes pacientes. Por ejemplo, la dosis se puede seleccionar del intervalo de 0,005-0,1 ml/kg, preferiblemente 0,01-0,05 ml/kg.

#### 45 Descripción detallada de la invención

##### Ejemplo 1

Los siguientes materiales se mezclaron hasta un volumen final de 1000 ml: 3% (p/v) de emulsionante Pluronic F-68 (adquirido de Sigma Company), 0,5% (p/v) de lecitina de yema de huevo (adquirida de Shanghai Chemical Reagent Company), 5% (v/v) de pentafluoropentano (adquirido de Sigma Company), y agua destilada. La mezcla se incubó en hielo y se cizalló y dispersó a 10000 rpm durante 5 minutos para obtener una emulsión con grandes gotitas. La emulsión con grandes gotitas se emulsionó dos veces en un homogeneizador de alta presión a 4°C. La emulsión resultante con un tamaño de partículas menor que 1 µm se obtuvo filtrando a través de un filtro de membrana de 1 µm. La emulsión final se dividió y se colocó en viales de 15 ml, y después se irradió mediante Co<sub>60</sub> a 20 KGY durante 10 horas. La emulsión tuvo una concentración de partículas de 10<sup>9</sup>/ml, y se refrigeró durante el almacenamiento.

##### Ejemplo 2

Los siguientes materiales se mezclaron hasta un volumen final de 1000 ml: 6% (p/v) de emulsionante Pluronic F-68 (adquirido de Sigma Company), 1% (p/v) de lecitina de yema de huevo (adquirida de Shanghai Chemical Reagent Company), 10% (v/v) de pentafluoropentano (adquirido de Sigma Company), y disolución salina fisiológica. La mezcla se incubó en hielo y se cizalló y dispersó a 10000 rpm durante 5 minutos para obtener una emulsión con grandes gotitas. La emulsión con grandes gotitas se emulsionó dos veces en un homogeneizador de alta presión a 4°C. La emulsión resultante con un tamaño de partículas menor que 1 µm se obtuvo filtrando a través de un filtro de membrana de 1 µm. La emulsión final se dividió y se colocó en viales de 15 ml, y después se irradió mediante Co<sub>60</sub> a 20 KGY durante 10 horas. La emulsión tuvo una concentración de partículas de 10<sup>9</sup>/ml, y se refrigeró durante el almacenamiento.

# ES 2 355 038 T3

## Ejemplo 3-6

Los agentes potenciadores de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU de la presente invención se prepararon según el mismo método y procedimientos descritos en el Ejemplo 1 con los materiales y las cantidades 5 de los mismos expuestos en la Tabla 1. En la Tabla 1 se muestran los parámetros de los productos.

TABLA 1

	Ejemplo 3	Ejemplo 4	Ejemplo 5	Ejemplo 6
Material del núcleo	2% (v/v) Perfluoropentano	5% (v/v) Perfluorohexano	10% (v/v) Perfluorohexano	10% (v/v) Dihidrodecafluoropentano
Lecitina	1% (p/v)	2% (p/v)	2% (p/v)	2% (p/v)
Glicerina	1% (p/v)	1% (p/v)	1% (p/v)	1% (p/v)
Pluronic F-68	5% (p/v)	3% (p/v)	5% (p/v)	5% (p/v)
Volumen final después de añadir agua destilada	1000 ml	1000 ml	1000 ml	1000 ml
pH (c.a.)	6,98	7,01	6,99	7,00
Tamaño de partículas de la fase discontinua	0,5-2 μm	0,5-2 μm	0,1-2 μm	1-2 μm

Los efectos del agente potenciador para el tratamiento con HIFU de la presente invención se demuestran a continuación mediante el uso combinado del agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU según se prepara en el Ejemplo 1 y el Modelo JC del HIFU Tumor Therapeutic System.

## Ensayo 1 con animales

### *Estudio sobre lesiones de hígado de conejo blanco de Nueva Zelanda*

Se usaron veinte conejos blancos de Nueva Zelanda que pesan  $2,1 \pm 0,56$  kg, que fueron proporcionados por el Laboratory Animals Center de la Universidad de Chongqing de Ciencias Médicas. A estos conejos se les afeitó en el pecho inferior y en la sección media en el día antes del estudio. Para irradiar a estos conejos, se usó un modelo JC del High-intensity Focused Ultrasound Tumor Therapeutic System fabricado por Chongqing Haifu (HIFU) Technology Co. Ltd. El modelo JC del High-intensity Focused Ultrasound Tumor Therapeutic System estaba compuesto de un generador de potencia ajustable, un sistema de monitorización de ultrasonidos modo B, un transductor terapéutico, un sistema de control de movimiento mecánico, una cama de tratamiento y un dispositivo de acoplamiento acústico. El transductor terapéutico del Sistema, con una frecuencia de trabajo de 1 MHz, diámetro de 150 mm, y distancia focal de 150 mm, que usa agua desgasificada circulante estándar con un contenido gaseoso menor o igual a 3 ppm, puede producir una región focal de 2,3 x 2,4 x 26 mm, y puede suministrar una intensidad acústica media de 5500 W/cm<sup>2</sup>. El transductor usado en este estudio tenía 150 mm de diámetro, y tuvo una distancia focal de 135 mm, una frecuencia de trabajo de 1,0 MHz y una potencia acústica de 200 W. La profundidad de exposición fue 20 mm, y se aplicó la exposición de un solo pulso discontinuo con una duración de la exposición de 3 s y un intervalo de 5 s. A cada conejo se le administró rápidamente la disolución salina fisiológica (0,02 ml/kg) vía la vena del borde de la oreja del conejo, y el hígado del conejo se expuso a HIFU usando una exposición de un solo pulso 60 segundos más tarde en el lado del control. A cada conejo se le administró rápidamente el agente potenciador para el tratamiento con HIFU según se prepara en el Ejemplo 1 (0,02 ml/kg) vía la vena del borde de la oreja del conejo, y el otro plano del mismo hígado

# ES 2 355 038 T3

de conejo del lado del control se expuso a HIFU 60 segundos más tarde para el lado experimental. Las exposiciones a ultrasonidos acabaron cuando se produjeron cambios en la escala de grises en la localización diana. Si no se observa ningún cambio en la escala de grises, la duración total de la exposición no debería ser mayor que 20 s. Tres días después de la exposición a ultrasonidos, los conejos se sacrificaron partiendo los cuellos, y se disecaron. Se midió

5 el volumen (V) de la necrosis coagulativa del hígado de conejo. El EEF se calculó según la expresión  $EEF = \eta Pt/V$ , en la que t se refiere al tiempo de exposición y  $\eta = 0,7$ . La mediana de los EEF fue 6,0160 en el lado del control, y 1,2505 en el lado experimental. La prueba de la suma de rangos con signo de Wilcoxon mostró  $Z = -2,485$ , y  $P = 0,013$ . Los resultados de este estudio muestran que la emulsión fluorocarbonada incrementa la eficacia de HIFU para provocar lesiones de hígados de conejo. De hecho, la media del EEF en el lado del control es 4,81 veces la media del EEF en el lado experimental.

## Ensayo 2 con animales

### 15 Estudio sobre lesiones de hígado de cabra

Se usaron veinte cabras amarillas de Nanjiang que pesan  $22,25 \pm 4,51$  kg. A las cabras se les afeitó el pecho derecho y el abdomen derecho en el día del estudio. Para irradiar a estas cabras amarillas, se usó el modelo JC del High-intensity Focused Ultrasound Tumor Therapeutic System fabricado por Chongqing Haifu (HIFU) Technology Co. Ltd. El transductor usado en este estudio tenía 150 mm de diámetro, y tuvo una distancia focal de 135 mm, una frecuencia de trabajo de 0,8 MHz y una potencia acústica de 220 W. La profundidad de exposición fue 30 mm, y se aplicó una exposición de un solo pulso discontinuo con una duración de exposición de 3 s y un intervalo de 5 s. Las costillas de todas las cabras no se retiraron. Se llevó a cabo un barrido previo antes de la exposición a HIFU, y se seleccionaron las áreas para la exposición que incluyen 4 planos. En cada plano se introdujo un punto de exposición, y se usó ultrasonido bidimensional para monitorizar el espacio libre de las costillas. A cada cabra se le administró rápidamente de forma intravenosa vía el borde de la oreja la disolución salina fisiológica (0,02 ml/kg), y el hígado de las cabras se expuso a HIFU 60 segundos más tarde y se introdujeron dos puntos de exposición en cada cabra en el lado del control. A cada cabra se le administró rápidamente de forma intravenosa vía el borde de la oreja el agente potenciador para el tratamiento con HIFU según se prepara en el Ejemplo 1 (0,02 ml/kg), y el hígado de las cabras se expuso a HIFU 60 segundos más tarde y se introdujeron dos puntos de exposición en cada cabra en el lado experimental. Cuando se produjeron cambios en la escala de grises en la localización diana, las exposiciones se repitieron otras 4 ó 5 veces. Si no se observa ningún cambio en la escala de grises, la duración total de exposición no debería ser mayor que 200 s. Tres días después de la exposición a ultrasonidos, las cabras se sacrificaron y se disecaron. Se midió el volumen (V) de necrosis coagulativa del hígado de las cabras. El EEF se calculó según la expresión  $EEF = \eta Pt/V$ , en la que t se refiere al tiempo de exposición, y  $\eta = 0,7$ . La mediana de los EEF fue infinita para el lado del control, y 5,1904 para el lado experimental que usa la combinación de HIFU y la emulsión fluorocarbonada. La prueba de la suma de rangos con signo de Wilcoxon mostró  $P = 0,004$ . Este estudio muestra que la emulsión fluorocarbonada incrementa significativamente la capacidad de HIFU para crear lesiones en los hígados de las cabras sin retirar las costillas de las cabras.

40

## Ensayo 3 con animales

### 45 Estudio sobre lesiones de riñón de cabra

Se usaron veinte cabras amarillas de Nanjiang que pesan  $22,25 \pm 4,51$  kg. A estas cabras se les afeitó el pecho derecho y el abdomen derecho en el día del estudio. Para irradiar a estas cabras amarillas, se usó el modelo JC del High-intensity Focused Ultrasound Tumor Therapeutic System fabricado por Chongqing Haifu (HIFU) Technology Co. Ltd. El transductor usado en este estudio tenía 150 mm de diámetro, y tuvo una distancia focal de 135 mm, una frecuencia de trabajo de 0,8 MHz y una potencia acústica de 220 W. La profundidad de exposición fue 20 mm, y se aplicó una exposición de un solo pulso discontinuo con una duración de exposición de 3 s y un intervalo de 5 s. Las costillas de todas las cabras no se retiraron. Se llevó a cabo un barrido previo antes de la exposición a HIFU, y se seleccionaron las áreas para la exposición que incluyen un plano en el polo superior del riñón y un plano en el polo inferior del riñón, respectivamente. En cada plano se introdujo un punto de exposición, y para la observación se usó ultrasonido bidimensional. Las costillas derechas se evitan si se convierten en obstáculos. A cada cabra se le administró rápidamente de forma intravenosa vía el borde de la oreja la disolución salina fisiológica (0,02 ml/kg), y el hígado de las cabras se expuso a HIFU bajo una exposición de un solo pulso 30 segundos más tarde en el lado del control. A cada cabra se le administró rápidamente de forma intravenosa vía el borde de la oreja el agente potenciador para el tratamiento con HIFU según se prepara en el Ejemplo 1 (0,02 ml/kg), y el hígado de las cabras se expuso a HIFU 60 segundos más tarde para el lado experimental. Cuando se produjeron cambios en la escala de grises en la localización diana, las exposiciones se repitieron otras 3 ó 4 veces. Si no se observa ningún cambio en la escala de grises, la duración total de exposición no debería ser mayor que 150 s. Tres días después de la exposición a ultrasonido, las cabras se sacrificaron y se disecaron. Se midió el volumen (V) de necrosis coagulativa del hígado de las cabras. El EEF se calculó según la expresión  $EEF = \eta Pt/V$ , en la que t se refiere al tiempo de exposición, y  $\eta = 0,7$ . Los EEF fueron 10,58 ± 3,95 para el lado experimental, y 486,37 ± 215,41 para el lado del control. La prueba de la suma de rangos con signo de Wilcoxon mostró  $P = 0,008$ . Los resultados de este estudio indican que la emulsión fluorocarbonada incrementa enormemente la capacidad de HIFU para crear lesiones en los hígados de las cabras normales. De hecho, la media del EEF en el lado del control es más de 40 veces la media del EEF en el lado experimental.

# ES 2 355 038 T3

## **Aplicabilidad industrial**

El agente potenciador de tipo emulsión fluorocarbonada para el tratamiento con HIFU de la presente invención puede cambiar enormemente el entorno acústico de la localización diana, y puede reducir la energía acústica necesaria para provocar lesiones de un tejido diana (tejido tumoral y tejido no tumoral) por unidad de volumen del tejido durante el tratamiento con HIFU. En consecuencia, los tumores profundamente asentados y de gran tamaño se pueden tratar con un tratamiento con HIFU de forma más eficaz bajo una cierta potencia acústica sin dañar el tejido normal a lo largo del recorrido acústico. Es posible usar el agente potenciador para el tratamiento con HIFU de la presente invención para tratar eficazmente a pacientes con tumores hepáticos que están bloqueados por las costillas, sin retirar las costillas.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

## REIVINDICACIONES

1. Un agente potenciador para uso en el tratamiento con ultrasonido focalizado de alta intensidad (HIFU), en el que el agente potenciador comprende una fase discontinua que comprende un material del núcleo encapsulado por un material formador de membrana, y una fase continua que comprende un medio acuoso, la fase discontinua está dispersa uniformemente en la fase continua, y el tamaño de partículas de la fase discontinua oscila desde 0,1-1  $\mu\text{m}$ ; la cantidad del material formador de membrana en el agente potenciador es 0,1-100 g/l; el material del núcleo comprende un líquido que sufre una transición de fase líquido-gas a 38-100°C, y la cantidad del material del núcleo en el agente potenciador es 5-200 ml/l.
2. El agente potenciador según la reivindicación 1, en el que la fase discontinua tiene un tamaño de partículas que oscila desde 0,1-0,5  $\mu\text{m}$ .
3. El agente potenciador según la reivindicación 1, en el que el material formador de membrana es una o más sustancias seleccionadas de un grupo que consiste en fosfolípido, colesterol y glucolípido.
4. El agente potenciador según la reivindicación 3, en el que el material formador de membrana comprende fosfolípido seleccionado de un grupo que consiste en 3-sn-fosfatidilcolina, sal sódica de 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidilglicerol, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidato de sodio, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina, fosfatidilserina y fosfatidilserina hidrogenada.
5. El agente potenciador según la reivindicación 1, en el que la cantidad del material formador de membrana en el agente potenciador es 1-50 g/l.
6. El agente potenciador según la reivindicación 5, en el que la cantidad del material formador de membrana en el agente potenciador es 5-20 g/l.
7. El agente potenciador según la reivindicación 1, en el que el material del núcleo es una o más sustancias seleccionadas del grupo que consiste en alcanos de C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub> y fluorohidrocarbonos de C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>.
8. El agente potenciador según la reivindicación 7, en el que el material del núcleo es dihidrodecafluoropentano.
9. El agente potenciador según la reivindicación 1, en el que la cantidad del material del núcleo en el agente potenciador es 10-100 ml/l.
10. El agente potenciador según la reivindicación 9, en el que la cantidad del material del núcleo en el agente potenciador es 20-80 ml/l.
11. El agente potenciador según la reivindicación 1, en el que el medio acuoso comprende agua destilada, disolución salina fisiológica o disolución de glucosa.
12. El agente potenciador según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el agente potenciador contiene un emulsionante en una cantidad de 5-150 g/l, seleccionándose el emulsionante de un grupo que consiste en monoésteres de ácidos grasos de C<sub>16-18</sub> con etilenglicol, monoésteres de ácidos grasos de C<sub>16-18</sub> con dietilenglicol, diésteres de ácidos grasos de C<sub>16-18</sub> con dietilenglicol, monoésteres de ácidos grasos de C<sub>16-18</sub> con trietilenglicol, ésteres de ácidos grasos con sorbitán, polisorbato, monolaurato de polietilenglicol, laurato de polioxietileno, 3-sn-fosfatidicolina, copolímero de bloques no iónico de poliÓxido de etileno/poliÓxido de propileno/etilenglicol, fluorotensionactivo, y ácido cólico.
13. El agente potenciador según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el agente potenciador contiene un agente estabilizante que comprende carboximetilcelulosa sódica; la cantidad de carboximetilcelulosa sódica en el agente potenciador es 0,01-10 g/l.
14. El agente potenciador según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el agente potenciador contiene un agente estabilizante que comprende glicerina; la cantidad de la glicerina en el agente potenciador es 5-100 g/l.
15. Uso de un agente de contraste ultrasónico de tipo emulsión fluorocarbonada según una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, para la preparación de un medicamento para el tratamiento con HIFU.