



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 289 090**

(51) Int. Cl.:
A61K 31/66 (2006.01)
A61P 39/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **02713473 .3**
(86) Fecha de presentación : **04.02.2002**
(87) Número de publicación de la solicitud: **1368038**
(87) Fecha de publicación de la solicitud: **10.12.2003**

(54) Título: **Medicamento para la administración de amifostina y compuestos relacionados.**

(30) Prioridad: **05.02.2001 US 775540**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.02.2008

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.02.2008

(73) Titular/es: **Medimmune Oncology, Inc.**
One Tower Bridge, 100 Front Street
West Conshohocken, Pennsylvania 19428, US

(72) Inventor/es: **Stogniew, Martin**

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Medicamento para la administración de amifostina y compuestos relacionados.

- 5 La presente invención se refiere a medicamentos para administrar a un sujeto compuestos de fosforotioato de aminoalquilo y/o aminoalquilthiol de modo que reduce o disminuye los efectos secundarios indeseables de los compuestos.

Fundamento de la invención

- 10 Se ha indicado que la amifostina, conocida también como WR-2721), es útil como protector de radiaciones en pacientes aquejados de cáncer que reciben terapia de radiación (Constine *et al.*, 1986, "Protection by WR-2721 of Human Bone Marrow Function Following Irradiation", *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 12:1505-8; Liu *et al.*, 1992, "Use of Radiation with or without WR-2721 in Advanced Rectal Cancer", *Cancer* 69(11):2820-5; Wadler *et al.*, 1993, "Pilot Trial of Cisplatin, Radiation and WR-2721 in Carcinoma of the Uterine Cervix: A New York Gynecologic Oncology Group Study", *J. Clin. Oncol.* 11(8):1511-6; Büntzel *et al.*, 1996, "Selective Cytoprotection with Amifostine in Simultaneous Radiochemotherapy of Head Neck Cancer", *Ann. Oncol.* 7(Suppl. 5):81 (381P)). La amifostina es un pro-fármaco que es desfosforilado en el tejido por la fosfatasa alcalina dando lugar al tiol libre, que es el metabolito activo (conocido también como WR-1065). Una vez en el interior de la célula, el tiol libre activo puede proteger contra las toxicidades asociadas con la radiación actuando como captador de radicales libres oxigenados que son producidos por la radiación ionizante (Yuhás, 1977, "On the Potential Application of Radioprotective Drugs in Solid Tumor Radiotherapy," *In: Radiation-Drug Interactions in Cancer Management*, páginas 303-52; Yuhás, 1973, "Radiotherapy of Experimental Lung Tumors in the Presence and Absence of a Radioprotective Drug s-2-(3-Aminopropylamino) thylphosphorothioc Acid (WT-2721)" *J. Natl. Cancer Inst.* 50:69-78; Philips *et al.*, 1984, "Promise of Radiosensitizers and Radioprotectors in the Treatment of Human Cancer" *Cancer Treat. Rep.* 68: 291-302).

- 25 La capacidad de la amifostina para proteger selectivamente los tejidos normales está basada en la diferencia de metabolismo y de absorción de la amifostina en los tejidos normales frente a la de los tejidos tumorales. La amifostina es absorbida rápidamente y retenida en los tejidos normales. Se ha indicado que las diferencias de capilaridad y de concentración de fosfatasa alcalina unida a la membrana, así como de pH entre los tejidos normales y los tejidos tumorales, favorecen la conversión del pro-fármaco y la absorción de la forma activa de la amifostina, el tiol libre, en los tejidos normales. Asociado al hecho de que las células normales concentran el tiol libre con una velocidad mayor que los tumores y le retienen durante períodos de tiempo más largos, la amifostina es capaz de proteger selectivamente los tejidos normales contra las toxicidades asociadas con la radiación sin afectar negativamente a la respuesta antitumoral. Las diferencias acusadas de absorción y retención en los tejidos existentes entre los tejidos normales y los tejidos tumorales, produce un estado temporal de resistencia adquirida al fármaco en los tejidos normales, análogo al producido mediante un exceso de glutatión endógeno.

- 40 Para que un citoprotector sea útil en la terapia de radiación, el compuesto debe ser tolerado en una base diaria, hasta 4 ó 5 días por semana, durante varias semanas, antes de la administración de dosis convencionales de radiación. McDonald *et al.*, (McDonald, 1994, "Preliminary Results of a Pilot Study Using WR-2721 Before Fractionated Irradiation of Head and Neck to Reduce Salivary Gland Dysfunction", *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 29(4): 747-54; McDonald *et al.*, 1995, "Amifostine Preserves the Salivary Gland Function During Irradiation of the Head and Neck", *Eur. J. Cancer* 31A (Supp. 5) 41) han llevado a cabo un estudio de escalonamiento de dosis de amifostina y radiación en pacientes con cáncer de cabeza y cuello. Los resultados obtenidos sugieren que la administración diaria de amifostina (200 mg/m² por medio de una infusión intravenosa de 6 minutos) antes de la radiación, protege a las glándulas salivales contra las toxicidades de la radiación.

- 50 Se ha indicado también que la amifostina estimula el crecimiento de la médula ósea, y se encuentra actualmente en ensayos clínicos de Fase II como un estimulante de la médula ósea, en pacientes aquejados de síndrome mielodisplásico (List *et al.*, 1996, "Amifostine Promotes Multilineage Hematopoiesis in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS): Results of a Phase I/II Clinical Trial", *Am. J. Hem.* 1 (Resumen); List *et al.*, 1996, "Amifostine Promotes *in vitro* and *in vivo* Hematopoiesis in Myelodysplastic Syndromes" *Chem. Found Sympos.* (Resumen); List *et al.*, 1996, "Amifostine Promotes Multilineage Hematopoiesis in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS): Results of a Phase I/II Clinical Trial" (Resumen), 8ª reunión anual, Sociedad Americana de Hematología, Orlando, FL). En este estudio, la amifostina se administra por medio de infusión intravenosa.

- 60 La administración intravenosa de amifostina adolece de varios inconvenientes graves. En primer lugar, la administración de compuestos por vía intravenosa es sumamente inconveniente, en particular cuando es necesario un plan diario de administración durante varias semanas o, potencialmente, varios meses en el caso de MDS, requiriéndose para administrar las dosis un facultativo experto. En segundo lugar, cuando se administra por vía intravenosa, los pacientes se ven aquejados de efectos secundarios indeseables dependientes de las dosis, tales como náuseas, vómitos, emesis e hipotensión, así como también rubor o sensación de calor, escalofríos o sensación de frialdad, vértigo, somnolencia, hipo y estornudos. La disminución de la concentración de calcio en el suero es un efecto farmacológico conocido de la administración de amifostina por vía intravenosa. Reacciones alérgicas que van desde erupciones leves de la piel hasta rigor, han ocurrido también en raras ocasiones en conjunción con la administración de amifostina por vía intravenosa. En la actualidad, no existen otros métodos conocidos más que la administración conjunta de agentes tales como antieméticos, para reducir o evitar estos efectos secundarios indeseables. En tercer lugar, están los costos inherentes a la administración intravenosa que incluyen gastos de personal, equipo y médicos para atenuar los efectos secundarios.

El perfil farmacocinético humano de la amifostina ha sido investigado en pacientes cancerosos después de administrar una dosis única en forma de un bolo intravenoso (150 mg/kg) (Shaw *et al.*, 1986, "Human Pharmacokinetics of WR-2721" *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 12:1501-4), una infusión única intravenosa de 15 minutos (hasta 910 mg/m²) (Shaw *et al.*, 1988, "Pharmacokinetics of WR-2721", *Pharmac. Ther.* 39:195-201; Shaw *et al.*, 1994, "Pharmacokinetics of Amifostine in Cancer Patients: Evidence for Saturable Metabolism", *Proc. Amer. Cos. Clin. Oncol.* 13:144; U.S. Bioscience, 1994, "Pharmacokinetics of Single Dose Amifostine (WR-2721); Ethiol" ETH PK 3), e infusiones repetidas (hasta 910 mg/m² por dosis) ((U.S. Bioscience, 1994, "Pharmacokinetics of Double Dose Amifostine (WR-2721; Ethiol) with Corresponding Measurements of WR-1065 in Plasma and Bone Marrow Cells" ETH PK 4). Estos estudios han indicado que la amifostina desaparecía rápidamente desde el plasma con una semivida de distribución de menos de 1 minuto y una semivida de eliminación de aproximadamente 9 minutos. Menos del 10% de la amifostina permanecía en el plasma 6 minutos después de la administración intravenosa. No se han llevado a cabo estudios farmacocinéticos clínicos en seres humanos utilizando amifostina administrada por vía oral o por vía subcutánea.

Tabachnik ha indicado que la administración oral de amifostina reducía la viscosidad de los esputos en pacientes aquejados de fibrosis quística (Tabachnik *et al.*, 1980, "Studies on the Reduction of Sputum Viscosity in Cystic Fibrosis Using an Orally Absorbed Protected Thiol". *J. Pharm. Exp. Ther.* 214:246-9; Tabachnik *et al.*, 1982, "Protein Binding of N-2-Mercaptoethyl-1 3-Diaminopropane via Mixed Disulfide Formation after Oral Administration of WR-2721", *J. Pharm. Exp. Ther.* 220:243-6). Sin embargo, estos estudios no han demostrado que este modo de administración redujera los efectos secundarios adversos asociados comúnmente con la amifostina administrada por vía intravenosa.. Además, no fue llevado a cabo en estos pacientes un estudio del perfil farmacocinético de los compuestos administrados.

El documento US 6.127.351 enseña que la administración subcutánea de amifostina o de su metabolito activo WR-1065, reduce o evita los efectos secundarios asociados rutinariamente con la administración intravenosa de estos compuestos. Describe también que la amifostina puede ser usada para proteger a pacientes que reciben terapia de radiación de los efectos secundarios producidos por radiaciones ionizantes y que esta protección tiene exactamente la misma eficacia cuando el compuesto se administra por vía subcutánea aproximadamente 20 a 90 minutos antes de la administración de la terapia de radiación.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona medicamentos para administrar compuestos de fosforotioato de aminoalquilo y/o aminoalquiltiol, a un sujeto, incluyendo seres humanos, de un modo que disminuye o reduce los efectos secundarios indeseables de los compuestos

En un aspecto de la invención, se proporciona en uso de una cantidad eficaz de un compuesto que tiene la fórmula:



o una de sus sales o hidratos farmacéuticamente aceptables, en cuya fórmula:

R_1 es hidrógeno, arilo de C₆-C₇, acilo de C₂-C₇ o alquilo de C₁-C₇;

R_2 es hidrógeno o PO₃H₂;

n es un número entero desde 2 a 6; y

m es un número entero desde 2 a 6,

para fabricar un medicamento para proteger contra la incidencia de xerostomía o mucositis o reducir la incidencia de las mismas, en un paciente que recibe terapia de radiación, en el que el medicamento es administrado a un paciente por vía subcutánea aproximadamente 3 horas antes de exposición a la terapia de radiación.

Realizaciones preferidas de la invención en cualquiera de sus diversos aspectos son como se describe más adelante o como se define en las reivindicaciones.

La invención se refiere a medicamentos para administrar a un paciente un compuesto de fosforotioato de aminoalquilo y/o aminoalquiltiol de un modo tal que se obtiene un perfil farmacocinético característico. El perfil farmacocinético está caracterizado, en general, por una primera región en la que la concentración en el plasma y/o en la sangre total del compuesto administrado, uno de sus metabolitos activo, o ambos, aumenta gradualmente hasta una concentración máxima, una segunda región en la que la concentración máxima en el plasma y/o en la sangre total se mantiene sustancialmente, es una meseta, y una tercera región en la que la concentración en el plasma y/o en la sangre total disminuye gradualmente hasta los niveles de la línea de base. La velocidad a la que la concentración en el plasma y/o en la sangre total del compuesto administrado/(y/o uno de sus metabolitos activos) aumenta hasta el nivel máximo, es marcadamente más lenta que la conseguida con la administración intravenosa convencional.

La administración de los medicamentos de la invención reduce o disminuye sensiblemente los efectos secundarios adversos o indeseables sufridos por los pacientes en comparación con la administración intravenosa convencional, sin afectar sustancialmente a la eficacia de las dosis aplicadas. Por tanto, los medicamentos de la invención pueden ser utilizados ventajosamente en conjunción con estrategias de tratamiento para suministrar a pacientes compuestos de fosforotioato de aminoalquilo y/o de aminoalquiltiol sin inducir los vómitos, náuseas, emesis, hipotensión u otros efectos secundarios indeseables, incluyendo pero no limitados, a rubor o sensación de calor, escalofríos o sensación de frialdad, vértigo, somnolencia, hipo, estornudos, niveles de calcio sérico disminuidos y reacciones alérgicas, que se experimentan comúnmente con la administración intravenosa convencional.

Descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una gráfica de las curvas de concentración media en sangre total frente al tiempo, de la amifostina (fármaco parental WR-2721, más metabolito activo, WR-1065) después de una inyección subcutánea de 500 mg, una solución oral de 500 mg y una infusión intravenosa de 200 mg/m² (a lo largo de 7,5 minutos) a 12 sujetos, 0 a 240 minutos después de la administración de fármaco (— iv; ---- sc; — — oral).

La Fig. 2 es una gráfica de las curvas de concentración media en el plasma frente al tiempo, de la amifostina (fármaco parental WR-2721) después de una inyección subcutánea de 500 mg, y una infusión intravenosa de 200 mg/m² (a lo largo de 7,5 minutos) a 12 sujetos, 0 a 240 minutos después de la administración del fármaco (— iv; --- sc).

La Fig. 3 es una gráfica de las curvas de concentración media en el suero del metabolito activo (WR-1065) después de una inyección subcutánea de 500 mg, una solución oral de 500 mg y una infusión intravenosa de 200 mg/m² (a lo largo de 7,5 minutos) a 12 sujetos, 0 a 240 minutos después de la administración del fármaco (— iv; --- sc; — — oral).

Las Fig. 4A y 4B son dos gráficas del peso de animales tratados con amifostina o solución salina y una dosis única de irradiación de 16,5 Gy. La amifostina y la solución salina fueron administradas por las vías i.p. y s.c. Los animales testigo recibieron solución salina sin irradiación. La amifostina se disolvió en la cantidad de 500 mg, en 9,7 ml de solución de NaCl al 0,9% consiguiendo una concentración final de 50 mg/ml. Aproximadamente 0,1-0,2 ml de amifostina fueron inyectados en cada uno de los animales en base al peso del cuerpo. La amifostina se administró en una dosis de 400 mg/kg de peso (Fig. 4A) y en una dosis de 200 mg/kg de peso (Fig. 4B).

Las Fig. 5A y 5B son dos gráficas de las calificaciones del eritema mucosal de animales tratados con amifostina o solución salina y una dosis única de irradiación de 16,5 Gy. La amifostina y la solución salina fueron administradas por vía i.p. y vía s.c. Los animales testigo recibieron solución salina sin irradiación. La amifostina se disolvió en la cantidad de 500 mg en 9,7 ml de solución al 0,9% de NaCl consiguiendo una concentración final de 50 mg/ml. Aproximadamente 0,1-0,2 ml de amifostina fueron inyectados en cada uno de los animales, basándose en el peso corporal. La amifostina se administró en una dosis de 400 mg/kg de peso (Fig. 5A) y en una dosis de 299 mg/kg de peso (Fig. 5B).

Las Fig. 6A y 6B son dos gráficas de las calificaciones del edema mucosal de animales tratados con amifostina o solución salina y una sola dosis de irradiación de 16,5 Gy. La amifostina y la solución salina fueron administradas por vía i.p. y por vía s.c. Los animales testigo recibieron solución salina sin irradiación. La amifostina se disolvió en cantidad de 500 mg, en 9,7 ml de solución al 0,9% de NaCl, consiguiendo una concentración final de 50 mg/ml. Aproximadamente 0,1-0,2 ml de amifostina se inyectaron en cada animal, basándose en el peso corporal. La amifostina se administró en una dosis de 400 mg/kg de peso (Fig. 6A) y en una dosis de 200 mg/kg de peso (Fig. 6B).

Las Fig. 7A-7C son tres gráficas de formación de colonias por células progenitoras de médula ósea, obtenidas de pacientes con MDS después de recibir amifostina por vía subcutánea. La Fig. 7A muestra la formación de colonias de CFU-GEMM, la Fig. 7B muestra la formación de colonias de BFU-E y la Fig. 7C muestra la formación de colonias de CFU-GM.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona medicamentos para administrar a pacientes compuestos de fosforotioato de aminoalquilo y/o aminoalquiltiol de un modo que hace disminuir los efectos secundarios indeseables de los compuestos en comparación con la administración convencional por vía intravenosa. La invención está basada, en parte, en el descubrimiento bastante inesperado, de que los pacientes humanos que recibieron amifostina administrada por vía subcutánea experimentaron incidencias sensiblemente menores de náuseas, vómitos, dolor de cabeza, hipotensión, aturdimiento, somnolencia y otros efectos secundarios indeseables asociados comúnmente con la administración convencional de amifostina por vía intravenosa, que los pacientes que habían recibido amifostina mediante infusión intravenosa convencional. Estos efectos secundarios coinciden con la fase de "pico" (spike) o "arrancada repentina" (burst) del perfil farmacocinético del fármaco administrado por vía intravenosa.

La invención está basada, además, en parte, en la observación de que los perfiles farmacocinéticos de la amifostina y de su metabolito activo WR-1065 para la amifostina administrada por vía intravenosa y por vía subcutánea, son sensiblemente diferentes. Mientras que las concentraciones en sangre total de ambos compuestos, amifostina y su metabolito activo WR-1065 alcanzaron el máximo y decayeron rápidamente dentro de los primeros 10 minutos

que siguen a la administración de amifostina por vía intravenosa, las concentraciones en sangre total de ambos de estos compuestos aumentaron a una velocidad marcadamente más lenta después de la administración subcutánea de amifostina, alcanzando una concentración máxima y sostenida aproximadamente 15-45 minutos después de la administración.

Aun cuando no se pretende estar sujeto a teoría alguna, se opina que la disminución de los efectos secundarios indeseables observados para la amifostina administrada por vía subcutánea en comparación con la amifostina administrada por vía intravenosa, es debida, en parte, al perfil farmacocinético característico asociado con la administración subcutánea. Por tanto, en la invención se administra a un paciente una cantidad eficaz desde el punto de vista terapéutico, de un compuesto de fosforotioato de aminoalquilo y/o aminoalquiltiol, de un modo tal que se obtiene un perfil farmacocinético característico para el compuesto administrados y/o su metabolito activo, reduciéndose sensiblemente con ello, los efectos secundarios indeseables que aquejan a los pacientes que reciben tal terapia, en comparación con la administración convencional por vía intravenosa.

Los compuestos que pueden ser administrados ventajosamente según el método descrito en esta memoria, son compuestos de fosforotioato de aminoalquilo o aminoalquiltiol que ponen de manifiesto radioprotección o quimioprotección de los tejidos normales, y/o actividades de estimulación o curación de la médula ósea, y que son adecuados para uso humano con toxicidad mínima. Tales compuestos de fosforotioato de aminoalquilo o aminoalquiltiol, así como sus sales y/o hidratos farmacéuticamente aceptables, o bien son conocidos por los expertos en la técnica o bien pueden ser identificados sin experimentación indebida usando ensayos establecidos empleados rutinariamente en la técnica.

En una realización ilustrativa, los compuestos que pueden ser administrados ventajosamente mediante los métodos de la invención son compuestos que poseen la fórmula:



o sus sales de adición o sus hidratos farmacéuticamente aceptables, en cuya fórmula:

R_1 es hidrógeno, arilo de C_6-C_7 , acilo de C_1-C_7 o alquilo de C_1-C_7 ;

R_2 es hidrógeno o PO_3H_2 ;

n es un número entero desde 2 a 6; y

m es un número entero desde 2 a 6.

Todos los compuestos de fórmula (I) pueden ser preparados mediante métodos conocidos en la técnica (véanse, por ejemplo, Cortese, 1943, *Organic Synthesis*, páginas 91-93, Vol. Colectivo. II, Blatt, compilador, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, NY; Akerfeldt, 1960, *Acta Chem. Scand.* 14:1980; Piper *et al.*, 1966, *Chem. Ind.* (Londres):2010). Ciertos compuestos de fosforotioato de aminoalquilo según la fórmula (I), así como métodos de síntesis de tales compuestos, están descritos con detalle en la patente de EE.UU. No. 3.892.824 y en el documento WO 96/25045.

Los compuestos de fosforotioato de aminoalquilo y/o aminoalquiltiol útiles en la invención, pueden tener la forma de ácidos libres, de bases libres o de sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Tales sales pueden prepararse con facilidad tratando un compuesto de fosforotioato de aminoalquilo o aminoalquiltiol, con un ácido apropiado. Tales ácidos incluyen, a título de ejemplo y no de limitación, ácidos inorgánicos tales como hidrácidos (clorhídrico, bromhídrico, fluorhídrico, etc), ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, etc., y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propanoico, ácido 2-hidroxiacético, ácido 2-hidroxiopropanoico, ácido 2-oxopropanoico, ácido propanodioico, ácido butanodioico, etc. Al revés, la sal puede convertirse en la forma de base libre por tratamiento con un álcali.

Los compuestos de fosforotioato de aminoalquilo y/o aminoalquiltiol, útiles en la invención, así como sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, pueden estar en forma hidratada o sin hidratar. Los métodos de preparación de tales formas son evidentes para los expertos en la técnica de la química orgánica.

En una realización preferida de la invención, los compuestos son los de fórmula (I), o sus sales de adición o hidratos, farmacéuticamente aceptables, en los que:

R_1 es hidrógeno o metilo;

R_2 es hidrógeno o PO_3H_2 ;

n es 3; y

m es 2 ó 3.

En una realización de la invención particularmente preferida, el compuesto es el dihidrogenofosforotioato de S-2-(3-aminopropil)etilo, $N_2H(CH_2)_3NH(CH_2)_2-SPO_3H_2$ (amifostina ó WR-2721), en particular sus mono- y tri-hidratos; 2-[3-aminopropilamino]etanotiol, $N_2H(CH_2)_3NH(CH_2)_2SH$ (el metabolito activo de la amifostina ó WR-1065); el dihidrogenofosforotioato de S-3-(3-metilaminopropilamino)propilo, $CH_3NH(CH_2)_3NH(CH_2)_3SPO_3H_2$ (WR-151327);
 5 ó el S-3-(3-metilaminopropilaminopropanotiol, $CH_3NH(CH_2)_3NH(CH_2)_3SH$ (WR-151326).

El análisis de los perfiles farmacocinéticos de la amifostina y de su metabolito activo WR-1065 que siguen a la administración intravenosa y a la administración subcutánea de amifostina, revela varias diferencias sorprendentes. Con referencia ahora a las Figs. 1-3, los perfiles farmacocinéticos de la amifostina (Fig. 2), de un metabolito activo
 10 de la amifostina (WR-1065) (Fig. 3) y de la amifostina y el WR-1065 combinados (Fig. 1), obtenidos después de la administración intravenosa de amifostina (200 mg/m² del fármaco infundidos a lo largo de 7,5 minutos) están caracterizados por una concentración plasmática inicial “pico” o “arrancada repentina” dentro de los primeros 20 minutos que siguen a la administración, una estructura del tiempo que coincide con el efecto secundario observado clínicamente: el fármaco infundido y/o su metabolito activo es absorbido rápidamente dentro de los primeros minutos
 15 que siguen a la administración, alcanzando una concentración máxima en sangre total, aproximadamente 8-10 minutos después de la administración, seguido de una disminución rápida de la concentración (5-10 veces, aproximadamente) 10-20 minutos, aproximadamente, después de la administración. Después de esta concentración inicial “punta” o “arrancada repentina”, los niveles en sangre disminuyen gradualmente hasta cero.

Perfiles farmacocinéticos similares fueron observados con amifostina en pacientes aquejados de cáncer después de una dosis única en forma de un bolo intravenoso (150 mg/m²) (Shaw *et al.*, 1986, “Human Pharmacokinetics of WR-2721”, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 12:1501-); una infusión intravenosa única de 15 minutos (hasta 910 mg/m²) (Shaw *et al.*, 1988, “Pharmacokinetics of WR-2721”, *Pharmac. Ther.* 39:195-201; Shaw *et al.*, 1994, “Pharmacokinetics of Amifostine in Cancer Patients: Evidence for Saturable Metabolism” *Proc. Amer. Cos. Clin. Oncol.* 13:144; U.S. Bioscience, 1994, “Pharmacokinetics of Single Dose Amifostine (WR-2721); Ethylol” ETH Pk 3) e infusiones repetidas (hasta 910 mg/m² por dosis) (U.S. Bioscience, 1994, “Pharmacokinetics of Double Dose Amifostine (WR-2721; Ethylol) with Corresponding Measurements of WR-1065 in Plasma and Bone Marrow Cells” ETH PK 4). En estos estudios la amifostina desapareció rápidamente desde la sangre, poniendo de manifiesto una semivida de distribución de menos de 1 minuto y una semivida de eliminación de aproximadamente 9 minutos.
 30

Los perfiles farmacocinéticos de la amifostina, el metabolito activo WR-1065 y la amifostina y el WR-1065 combinados, después de la administración de amifostina por vía subcutánea (dosis de 500 mg), difieren sensiblemente de los obtenidos con la administración por vía intravenosa. En primer lugar, haciendo referencia ahora a las Figs. 1 y 2, las concentraciones máximas en sangre total no se alcanzan por medio de una punta o arrancada repentina de la concentración inicial. En vez de ello, las concentraciones en sangre se elevan con una velocidad sensiblemente más lenta, alcanzando un máximo en aproximadamente 5-60 minutos, preferiblemente 10-40 minutos, después de la administración. Los niveles máximos estabilizados se mantienen durante aproximadamente 10 a 130 minutos, preferiblemente 15 a 120 minutos aproximadamente, antes de descender gradualmente hasta los niveles de la línea de base.
 35

Adicionalmente, las concentraciones máximas en sangre total tanto de la amifostina como del WR-1065, eran sensiblemente más bajas después de la administración por vía subcutánea que las de la administración por vía intravenosa. Por ejemplo, para la administración intravenosa, los niveles máximos de amifostina y de WR-1065 eran, aproximadamente, 100 μM y, aproximadamente, 23 μM , respectivamente. Para la administración subcutánea, los niveles máximos en sangre de amifostina y WR-1065 eran, aproximadamente, 12 μM y 4 μM respectivamente. Estas concentraciones son biológicamente eficaces, tanto como agente citoprotector, como en el MDS (Dorr *et al.*, 1995, *Eur. J. Cancer* 31a (suplemento 5): 570; List *et al.*, 1995, *Blood* 86 (10) Suplemento. 1:1327 (Resumen).
 40 45

Por tanto, los perfiles farmacocinéticos ventajosos de la invención están caracterizados, en general, por tres facetas principales:
 50

(i) una primera región en la que la concentración en el plasma y/o en la sangre total del compuesto administrado (y/o uno de sus metabolitos activos) se eleva lentamente hasta alcanzar un nivel máximo; (ii) una segunda región en la que la concentración máxima en el plasma y/o en la sangre total del compuesto administrado (y/o uno de sus metabolitos activos) se estabiliza (meseta); y (iii) una tercera región en la que la concentración máxima en el plasma y/o en la sangre total del compuesto administrado (y/o uno de sus metabolitos activos) disminuye lentamente hasta los niveles de la línea de base.
 55

En la primera región del perfil farmacocinético, la concentración en el plasma y/o en la sangre aumenta habitualmente con una velocidad de aproximadamente 0,1 μM /min hasta 40 μM /min, de preferencia aproximadamente 0,3 μM /min, y lo más preferible, aproximadamente 0,5 μM /min hasta 10 μM /min. Este aumento hacia la concentración máxima ocurre, habitualmente, a lo largo de un periodo de 1 minuto a 60 minutos, aproximadamente, comúnmente a lo largo de un periodo de 5 minutos a 25 minutos, aproximadamente, típicamente a lo largo de un periodo de 10 minutos a 20 minutos, aproximadamente, y, de preferencia, a lo largo de un periodo de 15 minutos, aproximadamente. La concentración máxima en el plasma y/o en la sangre total se alcanza, habitualmente, en 5 a 60 minutos, aproximadamente, después de la administración, y se alcanza, de preferencia, aproximadamente 12 minutos a 18 minutos después de la administración. El aumento de las concentraciones en el plasma y/o en la sangre total en esta primera región, es habitualmente de orden cero, es decir, la velocidad de aumento es sustancialmente constante durante el período de ascenso.
 60 65

La concentración máxima en el plasma y/o en la sangre del compuesto administrado (y/o uno de sus metabolitos activos) alcanzada al final de la primera región, permanece relativamente constante, es decir, estabilizada (meseta), en la segunda región del perfil farmacocinético. Preferiblemente, la concentración en el plasma y/o en la sangre no fluctúa en más de aproximadamente $\pm 75\%$. Más preferiblemente, la concentración en el plasma y/o en la sangre no fluctúa en más de $\pm 35\%$. La meseta se mantiene habitualmente, durante 10 minutos a 130 minutos, aproximadamente, de preferencia 15 minutos a 120 minutos, aproximadamente, y ocurre aproximadamente 15 minutos a 60 minutos después de la administración.

En la tercera región, la concentración en el plasma y/o en la sangre del compuesto administrado (y/o uno de sus metabolitos activos), disminuye lentamente hacia los niveles de la línea de base. La velocidad de disminución de la concentración en el plasma y/o en la sangre viene regulada, típicamente, por el metabolismo del sujeto, y no se considera que sea una característica crítica con respecto a efectuar una reducción o disminución de los efectos secundarios indeseables que siguen a la administración. Aun cuando la velocidad real de disminución de la concentración en el plasma y/o en la sangre del compuesto administrado (o uno de sus metabolitos activos) varía de unos sujetos a otros, la concentración disminuye habitualmente con una velocidad de aproximadamente $0,001 \mu\text{M}/\text{min}$ a $0,2 \mu\text{M}/\text{min}$, a lo largo de un período de 30 minutos a 220 minutos, aproximadamente. La tercera región ocurre habitualmente, 60 minutos a 180 minutos, aproximadamente, después de la administración.

Si bien no se pretende estar sujeto a una teoría particular, se opina que la reducción o disminución de efectos secundarios adversos que siguen a la administración, se debe a las características descritas del perfil farmacocinético. La velocidad lenta a la que la concentración en el plasma y/o en la sangre del compuesto administrado (y/o uno de sus metabolitos activos) aumenta hasta el máximo, así como el mantenimiento del nivel máximo durante un período de tiempo, se piensa que tienen una importancia particular. Por tanto, se opina que los perfiles farmacocinéticos de la invención hacen disminuir o reducen los efectos secundarios adversos de los compuestos al eliminar la “punta” o “arrancada repentina” de las concentraciones en el plasma y/o en la sangre del compuesto y/o su metabolito, que están asociadas con la administración convencional por vía intravenosa y que, probablemente, son innecesarias desde el punto de vista de la eficacia.

Se piensa que la concentración máxima real en el plasma y/o en la sangre del compuesto administrado (y/o uno de sus metabolitos activos) no es de importancia crítica para reducir o disminuir los efectos secundarios adversos. En tanto los compuestos sean administrados de conformidad con los perfiles farmacocinéticos descritos en esta memoria, debe observarse una reducción o disminución de los efectos secundarios indeseables, con independencia de la concentración máxima real alcanzada en el plasma y/o en la sangre. Por consiguiente, como se discute con mayor detalle en una sección posterior, virtualmente cualquier cantidad de compuesto que dé lugar a una concentración en el plasma y/o en la sangre total del compuesto administrado y/o uno de sus metabolitos activos, que sea eficaz desde el punto de vista terapéutico, puede ser administrada ventajosamente conforme a los perfiles farmacocinéticos descritos en esta memoria. La concentración máxima en el plasma y/o en la sangre varía, habitualmente, desde $1 \mu\text{M}$ a $40 \mu\text{M}$, aproximadamente.

Los medicamentos de la invención pueden ser usados para administrar eficazmente a pacientes los compuestos aquí descritos, para tratar virtualmente cualquier trastorno conocido en la actualidad o que sea descubierto con posterioridad, capaz de ser tratado con tales compuestos.

Por ejemplo, como los compuestos que se describen en esta memoria son capaces de proteger selectivamente a los tejidos normales contra las toxicidades asociadas con las radiaciones ionizantes sin afectar adversamente a la respuesta tumoral (Constine *et al.*, 1986, “Protection by WR-2721 of Human Bone Marrow Function Following Irradiation” *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 12:1505-8; Liu *et al.*, 1992, “Use of Radiation with or without WR-2721 in Advanced Rectal Cancer” *Cancer* 69(11):2820-5; Wadler *et al.*, 1993, “Pilot Trial of Cisplatin, Radiation and WR-2721 in Carcinoma of the Uterine Cervix: A New York Gynecologic Oncology Group Study” *J. Clin. Oncol.* 11(8):1511-6; Büntzel *et al.*, 1996, “Ethyol (Amifostine) Provides Multilineage heatprotection and Protection Against Nonhematologic Toxicities Reduced by Radiochemotherapy (RCT) of Head and Neck Cancer”, *Blood* 88(10) Suplemento 1:448a [1781] (Resumen), los medicamentos aquí descritos pueden ser usados para administrar los compuestos a pacientes aquejados de cáncer que reciben terapia de radiación. La administración de los compuestos de la invención a pacientes que reciben terapia de radiación, puede proteger a los pacientes contra las toxicidades asociadas con la exposición a la terapia de radiación. Estas toxicidades incluyen, aún cuando no se limita a ellas, neurotoxicidad, nefrotoxicidad, ototoxicidad, cardiotoxicidad, alopecia, mucositis, e incluyen xerostomía, infertilidad, toxicidad pulmonar y fallo renal que pueden ocurrir en casos graves. Los compuestos de la invención son particularmente eficaces para prevenir la mucositis y la xerostomía. Los compuestos de la invención son eficaces también para tratar la xerostomía aguda y la xerostomía tardía y la mucositis aguda y la mucositis tardía. En particular los medicamentos descritos en esta memoria pueden ser usados para administrar los compuestos de la invención a pacientes que reciben terapia de radiación para el cáncer de cabeza y cuello.

El término “xerostomía”, tal como se usa en esta memoria, significa sequedad de la boca debido a una disfunción de las glándulas salivales inducida por la radiación. La expresión “xerostomía aguda”, tal como se usa en esta memoria, significa xerostomía que ocurre dentro de los 90 días que siguen a la iniciación del tratamiento, que se caracteriza por sequedad de la boca con saliva espesa, pegajosa, sabor alterado, o necrosis aguda de las glándulas salivales. La expresión “xerostomía tardía”, tal como se usa en esta memoria, significa xerostomía que ocurre entre 90 días y 2 años después de la iniciación del tratamiento, caracterizada por sequedad, mala producción de saliva, o fibrosis de las glándulas salivales.

El término “mucositis”, tal como se usa en esta memoria, significa inflamación de membranas mucosas inducida por la radiación o por quimioterapia. La expresión “mucositis aguda”, tal como se usa en esta memoria, significa mucositis que ocurre dentro de los 90 días que siguen a la iniciación del tratamiento, caracterizada por pseudomembranas resacas o confluentes, ulceración o necrosis. La expresión “mucositis tardía”, tal como se usa en esta memoria, significa mucositis, que ocurre entre 90 días y 2 años después de la iniciación del tratamiento, caracterizada por atrofia mucosal, sequedad, telangiectasia o ulceración.

Los compuestos aquí descrito son capaces también de proteger selectivamente a los tejidos normales de las toxicidades asociadas con agentes quimioterápicos del cáncer, incluyendo, pero no limitándose a ellos, agentes de alquilación, agentes de platino, antraciclinas y taxanos (Kemp *et al.*, 1996, “Amifostine Pretreatment for Protection Against Cyclophosphamide-and Cisplatin-Induced Toxicities: Results of a Randomized Control Trial in Patients with Advanced Ovarian Cancer” *J. Clin. Oncol.* 14:2101-12; Wasserman *et al.*, 1981 “Differential Protection Against Cytotoxic Chemotherapeutic Effects on Bone Marrow CFUs by WR-2721” *Cancer Clin. Trials* 4:3-6; Glover *et al.*, 1986, “WR-2721 Protects Against the Hematologic Toxicity of Cyclophosphamide: A Controlled Phase II Trial” *J. Clin. Oncol.* 4:584-8; Schiller *et al.*, 1996, “Amifostine, Cisplatin and Vinblastine in Metastatic Nonsmall Cell Lung Cancer: A Report of High Response Rates and Prolonged Survival”, *J. Clin. Oncol.* 14:1913-21; Dorr *et al.*, 1995, “Selective Cardioprotection of Rat Heart Myocytes Exposed to DNA Zulerclating Agentes Using Amifostine (AMI) and It’s Dephosphorylated Metabolite, WR-1065”, *Eur. J. Cancer* 31a (Suplemento 5): 579; Betticher *et al.*, 1995, “Carboplatin Combined with Amifostine, a Bone Marrow Protectant, in the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer: A Radomised Phase II Study” *Br. J. Cancer* 5; DiPaola *et al.*, 1996, “A Phase I Study of Amifostine and Paclitaxel in Patients with Advanced Malignancies” *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.* 15:488 (1556) Resumen). Así pues, los medicamentos de la invención pueden ser usados también para administrar ventajosamente los compuestos descritos en esta memoria a pacientes aquejados de cáncer que reciben quimioterapia.

Los compuestos aquí descritos son capaces, asimismo, de estimular el crecimiento de la médula ósea (documento WO 96/25045) y hacer que la función de la médula ósea se recupere más rápidamente después de la quimioterapia (List *et al.*, “Amifostine Stimulated Formation of Multipotent Progenitor and Generated Macroscopic Colonies in Normal and Myelodysplastic Bone Marrow”, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 15:449 [1403] [Resumen]; List *et al.*, 1996, “Amifostine Protects Primitive Hematopoietic Progenitors Against Chemotherapy Cytotoxicity”, *Semin. Oncol.* 23 (4) Supl. 8:58-63). Por tanto, los medicamentos de la invención proporcionan, además, medios útiles para administrar estos compuestos a pacientes aquejados de enfermedades que requieren crecimiento de la médula ósea, tales como el síndrome mielodisplástico (MDS), y a pacientes cuya médula ósea ha estado expuesta a quimioterapia. Además, los medicamentos de la invención proporcionan también medios útiles para administrar los compuestos a pacientes aquejados de cáncer e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana.

La administración, según la invención, de compuestos de fosforotioato de aminoalquilo y/o aminoalquiltiol a pacientes, proporciona gran número de ventajas sobre los modos de administración intravenosa de que se dispone actualmente. Una ventaja importante es la reducción o disminución de los efectos secundarios indeseables que afectan a los pacientes que reciben el tratamiento terapéutico. Adicionalmente, dado que los medicamentos no requieren inyección intravenosa, que es el modo de administración que más disgusta a los pacientes, los métodos descritos en esta memoria proporcionan, en general, una mejor aceptación por los pacientes. Además, los medicamentos de la invención no requieren necesariamente su administración por facultativos experimentados, haciendo la terapia más convenientes para los pacientes.

Los compuestos aquí descritos o sus sales de adición o hidratos farmacéuticamente aceptables, pueden ser administrados a un paciente, según la invención, para evitar o reducir efectos secundarios indeseables, usando una amplia variedad de vías o modos de administración. El único requisito es que el compuesto, y/o uno de sus metabolitos activos, sea distribuido de conformidad con los perfiles farmacocinéticos aquí descritos. Las vías de administración adecuadas incluyen, aun cuando no están limitadas a ellas, inhalación, transdérmica, oral, rectal, transmucosal, intestinal y administración parenteral, incluyendo inyecciones intramuscular, subcutánea e intravenosa.

Para cualquier modo de administración, la cantidad real de compuesto suministrado, así como el plan de dosificación necesario para conseguir los perfiles farmacocinéticos ventajosos descritos en esta memoria, dependerá, en parte, de factores tales como la biodisponibilidad del compuesto (y/o uno de sus metabolitos activos), la enfermedad a ser tratada, la dosis terapéutica deseada, y otros factores que serán evidentes para los expertos en la técnica. La cantidad real administrada y el plan de administración pueden determinarse con facilidad por los expertos sin experimentación indebida, monitorizando los niveles en el plasma sanguíneo del compuesto administrado y/o uno de sus metabolitos activos, y ajustando la dosis o el plan de administración según sea necesario para conseguir el perfil farmacocinético deseado.

Por ejemplo, para administrar por vía intravenosa los perfiles ventajosos de la invención pueden ser obtenidos utilizando una velocidad de infusión sensiblemente más lenta que la que se usa convencionalmente, o usando una bomba ambulatoria. Los métodos de obtención de los perfiles farmacocinéticos deseados mediante otros modos de administración serán evidentes para los expertos en la técnica, en especial a la luz de la descripción detallada que se proporciona en esta memoria.

Los compuestos aquí descritos o sus sales y/o hidratos farmacéuticamente aceptables, pueden ser administrados de modo aislado, en combinación con otros compuestos de la invención, y/o en combinación con otros agentes terapéu-

5 ticos, con inclusión de otros agentes quimioterápicos. El compuesto o compuestos activos pueden ser administrados solos o en forma de una composición farmacéutica, en la que el compuesto o compuestos activos están mezclados con uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas para usar según la presente invención pueden ser formuladas de un modo convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables, que comprenden excipientes y materiales auxiliares que facilitan el tratamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden ser usadas farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración escogida.

10 Para inyección, los agentes de la invención pueden ser formulados en soluciones acuosas, preferiblemente en soluciones tampón fisiológicamente compatibles tales como solución de Hanks, solución de Ringer o solución salina fisiológica tamponada. Para su administración transmucosal, se usan en la formulación agentes de penetración apropiados para la barrera que ha de ser atravesada. Tales agentes de penetración son conocidos, en general, en la técnica.

15 Para administración por vía oral, los compuestos pueden ser formulados fácilmente mezclando el compuesto o compuestos activos con excipientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales excipientes permiten que los compuestos de la invención sean formulados como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones y semejantes, para ingestión por vía oral por el paciente que ha de ser tratado. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden ser obtenidas con excipientes sólidos, moliendo opcionalmente la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos después de añadir materiales auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados son, en particular, materiales de carga tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse agentes de desintegración, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una de sus sales tal como el alginato sódico.

20 Los núcleos de grageas se proporcionan con revestimientos adecuados. Para este fin, pueden usarse soluciones concentradas de azúcar, que pueden contener, opcionalmente, goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de lacas, y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes orgánicos adecuados. Pueden añadirse a los comprimidos o revestimientos de grageas colorantes o pigmentos para su identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

25 Las preparaciones farmacéuticas que pueden ser usadas por vía oral incluyen, cápsulas duras de gelatina de dos piezas, así como cápsulas blandas de gelatina y un plastificante, tal como glicerina o sorbitol, herméticamente cerradas. Las cápsulas duras de dos piezas pueden contener los ingredientes activos en mezcla con un material de carga tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato magnésico y, opcionalmente, agentes estabilizantes. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, pueden añadirse agentes estabilizantes. Todas las formulaciones para administración oral deben tener las dosis adecuadas para tal administración.

30 Para administración bucal, las composiciones pueden tener la forma de comprimidos o trociscos formulados de modo convencional.

35 Para administrar por inhalación, los compuestos para usar según la presente invención son suministrados convenientemente en forma de una presentación de pulverización en aerosol desde envases puestos bajo presión o un nebulizador, con el uso de un agente propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado la unidad de dosis puede ser determinada disponiendo una válvula que suministre una cantidad medida. Las cápsulas o cartuchos de, por ejemplo, gelatina para usar en un inhalador o insuflador, pueden formularse conteniendo una mezcla en polvo del compuesto y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

40 Los compuestos pueden ser formulados para administración parenteral por inyección, por ejemplo, por inyección de bolo o infusión continua. Se prefiere que los compuestos sean administrados mediante infusión continua por vía subcutánea a lo largo de un periodo de 15 minutos a 24 horas. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en una forma farmacéutica unitaria, por ejemplo, en ampollas, o en recipientes multidosis, con un agente conservante añadido. Las composiciones pueden tener la forma de suspensiones, soluciones o emulsiones en el seno de vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes formuladores tales como agentes de suspensión, de estabilización y/o agentes dispersantes.

45 Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma hidrosoluble. Adicionalmente, pueden prepararse suspensiones de los compuestos activos en forma de suspensiones inyectables oleosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumenten la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también agentes estabilizantes adecuados o agentes que aumentan la solubilidad del compuesto permitiendo la preparación de soluciones de alta concentración.

Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para reconstitución antes de uso con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril apirógena.

Los compuestos pueden formularse también en composiciones para aplicación rectal tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, conteniendo bases convencionales de supositorios tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Además de las formulaciones anteriormente descritas, los compuestos pueden formularse también como preparaciones “depot”. Tales formulaciones de acción prolongada pueden ser administradas mediante implantación (por ejemplo subcutánea o intramuscularmente) o mediante inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los compuestos pueden ser formulados con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo en forma de una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados escasamente solubles, por ejemplo como una sal escasamente soluble.

Las composiciones pueden comprender también vehículos o excipientes adecuados en fase sólida o en fase de gel. Ejemplos de tales vehículos o excipientes incluyen, aun cuando no está limitado a ellos, carbonato cálcico, fosfato cálcico, azúcares diversos, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para usar con la presente invención, incluyen composiciones en las que el ingrediente activo está contenido en una cantidad eficaz desde el punto de vista terapéutico, es decir, una cantidad eficaz para conseguir su finalidad pretendida. Como es lógico, la cantidad real de ingrediente activo dependerá, entre otros factores, de la finalidad pretendida. Por ejemplo, cuando se administra a pacientes cancerosos como citoprotector, en conjunción con tratamientos de radiación o quimioterapia, tales composiciones contendrán una cantidad de ingrediente activo eficaz para, entre otras cosas, mejorar los efectos dañinos para los tejidos normales de las radiaciones ionizantes o de los agentes quimioterápicos. Cuando se administra a pacientes aquejados de enfermedades que requieren crecimiento de la médula ósea, tales como el MDS, o una recuperación más rápida de la función de la médula ósea después de quimioterapia, tales composiciones contendrán una cantidad de ingrediente activo eficaz para estimular la producción o la función de la médula ósea, evitar el desarrollo de los síntomas existentes del paciente que está siendo tratado o aliviar los mismo, o prolongar la supervivencia del paciente. La determinación de la cantidad eficaz está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica, en especial a la luz de la descripción detallada que aquí figura.

Para cualquiera de los compuestos descritos en esta memoria, la cantidad terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivos celulares. Por ejemplo, una dosis puede ser formulada en modelos de animales consiguiendo un intervalo de concentraciones en circulación, del compuesto y/o de uno de sus ingredientes activos, que incluye una concentración eficaz tal como la determinada en un cultivo celular. Tal información puede ser usada para determinar con mayor exactitud las dosis útiles para los seres humanos. Véase, por ejemplo, la publicación de Washburn *et al.*, 1976, “Prediction of the Effective Radioprotective Dose of WR-2721 in Humans Through an Interspecies Tissue Distribution Study” *Radiat. Res.* 66:100-5.

Las cantidades terapéuticamente eficaces para usar en seres humanos pueden estimarse también a partir de modelos de animales. Por ejemplo, una dosis para seres humanos puede ser formulada para conseguir una concentración de circulación encontrada como eficaz en animales.

Una dosis eficaz desde el punto de vista terapéutico puede estimarse también a partir de datos farmacocinéticos de seres humanos. Aun cuando no se pretende quedar sujetos por teoría particular alguna, se opina que la eficacia está relacionada con la exposición total de un sujeto a la dosis aplicada del fármaco administrado, y/o uno de sus metabolitos activos, determinada midiendo la superficie situada por debajo de la curva de concentración sanguínea frente al tiempo (AUC). Por tanto, una dosis administrada según los métodos de la invención que tenga una AUC de compuesto administrado (y/o de uno de sus metabolitos activos) dentro de aproximadamente el 50% de la AUC de una dosis que se sabe que es eficaz para la indicación que se está tratando, es de esperar que sea eficaz. Una dosis que tenga una AUC de compuesto administrado (y/o de uno de sus metabolitos activos) dentro de aproximadamente, 70%, 80% o incluso 90% o más de la AUC de una dosis que se sabe que es eficaz, es preferida. El ajuste de la dosis para conseguir la máxima eficacia en seres humanos basándose en los métodos descritos, en particular sobre la concentración en sangre y la duración del compuesto administrado y/o sus metabolitos activos, está dentro de la capacidad de los técnicos ordinariamente experimentados.

Para emplear como citoprotector para proteger selectivamente contra las toxicidades de radiaciones ionizantes o de agentes quimioterápicos, se espera que ha de ser eficaz una concentración en circulación de compuesto administrado (y/o de uno de sus metabolitos activos) de aproximadamente 2 μM a 100 μM , prefiriéndose que sea, aproximadamente, de 5 μM a 50 μM . Alternativamente, o además, es de esperar que sea eficaz una concentración en los tejidos de compuesto administrado (y/o de uno de sus metabolitos activos) de aproximadamente 4 μM a 700 μM , prefiriéndose una concentración de aproximadamente 20 μM a 350 μM .

Las dosis de administración habituales a pacientes, de amifostina y/o su metabolito activo WR-1065, varían habitualmente desde aproximadamente 50 mg/día a 6000 mg/día, comúnmente desde aproximadamente 100 mg/día a 4000 mg/día y, típicamente, desde aproximadamente 200 mg/día a 3500 mg/día. Establecido en términos de peso del paciente, las dosis habituales varían desde aproximadamente 0,6 a 100 mg/kg/día, comúnmente desde aproximadamente

ES 2 289 090 T3

1,1 a 66 mg/kg/día y, típicamente, desde aproximadamente 2,2 a 58 mg/kg/día. Establecido en términos de superficies específicas del cuerpo del paciente, las dosis habituales varían desde aproximadamente 23 a 4000 mg/m²/día, por lo común desde aproximadamente 45 a 2666 mg/m²/día y, típicamente, desde 90 a 2333 mg/m²/día, aproximadamente.

- 5 Para la administración de amifostina y/o su metabolito activo WR-1065 por vía subcutánea, las dosis para los pacientes varían habitualmente desde aproximadamente 50 mg/día a 1500 mg/día, comúnmente desde aproximadamente 100 mg/día a 1000 mg/día y, típicamente, desde aproximadamente 200 mg/día a 750 mg/día. Establecido en términos de peso del paciente, las dosis habituales varían desde 0,5 mg/kg/día a 25 mg/kg/día, comúnmente desde aproximadamente 1 mg/kg/día a 16 mg/kg/día y, típicamente, desde 3,3 mg/kg/día a 12,5 mg/kg/día, aproximadamente.
- 10 Establecido en términos de superficie específica del cuerpo del paciente, las dosis habituales varían desde aproximadamente 22 mg/m²/día a 1000 mg/m²/día, comúnmente desde aproximadamente 45 mg/m²/día a 666 mg/m²/día y, típicamente, desde 133 mg/m²/día a 500 mg/m²/día, aproximadamente.

- 15 Para emplear como radioprotector contra las toxicidades de las radiaciones ionizantes o como quimioprotector contra las toxicidades de los tratamientos terapéuticos del cáncer, la dosis debe ser administrada con antelación suficiente a la exposición a la radiación o a la quimioterapia, para proporcionar efecto. Para administrar por vía i.v., la dosis se administra preferiblemente dentro de los 30 minutos anteriores a la administración de la radiación o la quimioterapia. Para administrar por vía subcutánea, la dosis se administra, de preferencia, aproximadamente 3 horas antes de la administración de la terapia de radiación.

- 20 La administración de los compuestos de la invención es particularmente útil para tratar las toxicidades asociadas con las radiaciones ionizantes en especial en pacientes con cáncer de cabeza y cuello. En estos casos es preferible la administración subcutánea y es de la máxima eficacia para reducir los efectos secundarios.

- 25 Para usar para el tratamiento de enfermedades que requieren crecimiento de la médula ósea, tales como el MDS, o la recuperación de la función de la médula ósea, es de esperar que sea eficaz una concentración en circulación de compuesto administrado (y/o de uno de sus metabolitos activos), de aproximadamente 2 µM a 100 µM. Alternativamente, o además, es de esperar que una concentración en los tejidos del compuesto administrado (y/o de uno de sus metabolitos activos) de aproximadamente 0,1 µM a 1000 µM, sea eficaz, prefiriéndose una concentración de 10 µM a
- 30 1000 µM, aproximadamente.

- Las dosis habituales en pacientes para la administración de amifostina y/o su metabolito activo WR-1065, varían habitualmente desde aproximadamente 50 mg/día a 1000 mg/día, comúnmente desde aproximadamente 100 mg/día a 900 mg/día y, típicamente, desde 200 mg/día a 800 mg/día, aproximadamente. Establecido en términos del peso del paciente, las dosis habituales varían desde aproximadamente 0,5 a 16 mg/kg/día, comúnmente desde aproximadamente 1,1 a 15 mg/kg/día y, típicamente, desde 2,2 a 13,5 mg/kg/día, aproximadamente. Establecido en términos de superficie específica del cuerpo del paciente, las dosis habituales varían desde aproximadamente 22 a 666 mg/m²/día, comúnmente desde aproximadamente 45 a 600 mg/m²/día y, típicamente, desde 90 a 540 mg/m²/día, aproximadamente.

- 40 Para la administración subcutánea de amifostina y/o su metabolito activo WR-1065, las dosis para el paciente varían habitualmente desde aproximadamente 50 mg/día a 1200 mg/día, comúnmente desde aproximadamente 100 mg/día a 1100 mg/día y, típicamente, desde 200 mg/día a 1000 mg/día, aproximadamente. Establecido en términos de peso del paciente, las dosis habituales varían desde 0,5 mg/kg/día a 20 mg/kg/día, comúnmente desde aproximadamente 1,1 mg/kg/día a 18 mg/kg/día y, típicamente, desde 2,2 mg/kg/día a 16,2 mg/kg/día. Establecido en términos de superficie específica del cuerpo del paciente, las dosis habituales varían desde aproximadamente 22 mg/m²/día a 800 mg/m²/día, comúnmente desde aproximadamente 45 mg/m²/día a 720 mg/m²/día y, típicamente, desde 90 mg/m²/día a 650 mg/m²/día, aproximadamente.

- 50 Para usar como radioprotector contra las toxicidades de las radiaciones ionizantes, la dosis es preferiblemente de aproximadamente 500 mg al menos, de preferencia aproximadamente 500 mg a 1500 mg administrados por vía subcutánea. Preferiblemente, la dosis se administra en forma de dos inyecciones subcutáneas.

- 55 Para otros modos de administración, la dosis y el intervalo de dosis pueden ajustarse individualmente para proporcionar niveles eficaces del compuesto administrado y/o uno de sus metabolitos activos en el plasma y/o en tejidos, conforme a los perfiles farmacocinéticos descritos en esta memoria, según se ha descrito anteriormente.

- 60 La cantidad real de composición administrada, como es lógico, dependerá del sujeto que está siendo tratado, del peso del sujeto, de la gravedad de la afección, del modo de administración y del criterio del médico que establece la prescripción.

Ejemplo

- 65 *La administración subcutánea de amifostina reduce las toxicidades in vivo*

Los efectos ventajosos de la administración a pacientes de amifostina por vía subcutánea, fueron demostrados en un estudio cruzado, de tres vías, realizado de modo aleatorio. El estudio se llevó a cabo en un lugar de los Estados Unidos.

Sujetos normales fueron distribuidos al azar recibiendo amifostina durante tres días sucesivos en forma de una infusión intravenosa (200 mg/m²), una formulación oral (500 mg) y una inyección subcutánea (500 mg), según se describe en la Tabla 1. En el estudio fueron tratados un total de 12 sujetos.

TABLA 1

Esquema de tratamiento
(Diseño cruzado de tres vías de administración)

	Día 1	Día 2	Día 3
Secuencia 1	A	B	C
Secuencia 2	B	C	A
Secuencia 3	C	A	B

Tratamiento A: Amifostina (200 mg/m²) en forma de infusión por vía intravenosa continua durante 7,5 minutos.

Tratamiento B: Amifostina (500 mg) en una formulación líquida como una dosis única por vía oral.

Tratamiento C: Amifostina (500 mg) en forma de dos inyecciones simultáneas por vía subcutánea.

Todos los sujetos fueron retenidos en el lugar del estudio desde la tarde anterior a la administración de la primera dosis del fármaco en estudio, hasta que se obtuvo la muestra final de sangre total. Las muestras de sangre total fueron recogidas hasta 4 horas después de cada dosis de amifostina.

Los sujetos elegibles incluían voluntarios normales, varones, sanos, de edades entre 18 y 35 años (inclusive). Todos los sujetos que tomaron parte en el estudio tenían valores anteriores al tratamiento de recuentos sanguíneos completos (CBC), características químicas del suero y análisis de orina dentro de $\pm 10\%$ del intervalo normal para el laboratorio de referencia, valores que fueron considerados insignificantes desde el punto de vista clínico por los inventores. Adicionalmente, todos los sujetos tenían antes del tratamiento un electrocardiograma (ECG) normal.

Los sujetos que se sabía que eran seropositivos respecto al virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), propensos al abuso de sustancias activas o fumadores (por lo menos durante los pasados 6 meses), fueron excluidos. También fueron excluidos los sujetos con pretratamiento de hipertensión (presión sanguínea sistólica > 140 mm de Hg), los sujetos con enfermedades cardiovasculares conocidas, los sujetos con estados generales o psicológicos que pudieran impedirles completar el estudio o firmar el consentimiento de informado, y sujetos que fueran renuentes o incapaces de abstenerse de bebidas alcohólicas y de todas las medicaciones, incluyendo fármacos y vitaminas de prescripción facultativa o sin receta., durante 7 días antes de entrar en el estudio y durante 3 días mientras estaban participando en el estudio.

Preparación de amifostina intravenosa

Para infusión por vía intravenosa, cada vial de amifostina (500 mg por vial, U.S. Bioscience, lote No. C3017C) se reconstituyó con 9,7 ml de Inyección de Cloruro de Sodio al 0,9%, (Farmacopea de los Estados Unidos). La dosis apropiada de amifostina (200 mg/m²) fue diluida luego con Inyección de Cloruro de Sodio al 0,9%, FEU, produciendo un volumen de 50 ml para su administración.

Preparación de amifostina oral

Para administrar por vía oral, cada vial de amifostina (500 mg por vial, U.S. Bioscience, lote No. C3017C) fue reconstituido con 5 ml de solución salina normal. La solución reconstituida fue aspirada en una jeringuilla de 10 ml para su administración.

Preparación de amifostina subcutánea

Para inyección por vía subcutánea, cada vial de amifostina (500 mg por vial, U.S. Bioscience, lote No. C3017C) fue reconstituido con 2,5 ml de solución salina normal. Esta solución se dividió entre dos jeringuillas (1,25 ml por jeringuilla) para su administración.

Administración de amifostina intravenosa

Los sujetos recibieron amifostina por vía intravenosa en una dosis de 200 mg/m² en forma de una infusión de 7,5 minutos (mediante una bomba de infusión) comenzando a las 8:00 AM. Durante la infusión los sujetos fueron mantenidos en posición supina. Después de la administración de amifostina se permitió a todos los sujetos que tomaran un desayuno estándar. Además, se dio a todos los sujetos un almuerzo estándar a mediodía, una cena estándar a las 6:00 PM y un tentempié estándar a las 10:00 PM.

Se midieron la presión sanguínea sistólica y el pulso, de la línea de base, inmediatamente antes de la infusión de amifostina, cada 2,5 minutos durante la infusión y 5 minutos después de la infusión. La infusión de amifostina fue interrumpida si la presión sanguínea sistólica había disminuido como se indica en la Tabla 2, ó si el sujeto desarrollaba síntomas relacionados con el descenso de la presión sanguínea (desvanecimiento, diaforesis o dolor en el pecho).

Si tenía lugar hipotensión, el sujeto recibía una infusión rápida de solución salina normal y se le mantenía en posición supina o en la posición de Trendelenburg hasta que la presión sanguínea volvía al valor de la línea de base. Durante este tiempo, la presión sanguínea se monitorizó cada 3 minutos.

Si la presión sanguínea volvía al valor estipulado en la Tabla 2 dentro de los 5 minutos siguientes a la interrupción de la infusión de amifostina y, por otra parte, el sujeto era asintomático, la infusión de amifostina podía restablecerse con monitorización frecuente de la presión sanguínea. Si ocurría algún otro episodio adicional de hipotensión, volvían a aplicarse las pautas anteriores. Si la presión sanguínea de un sujeto no volvía al valor umbral para restablecer la infusión de amifostina dentro de los 5 minutos siguientes a la interrupción de la infusión de amifostina, la infusión era detenida y se desechaba el fármaco sin usar.

TABLA 2

Pautas de la presión sanguínea para interrumpir y comenzar la administración de amifostina

	Presión sanguínea sistólica de la línea de base (mm de Hg)			
	≤110	111-130	131-150	>170
Detención de la infusión si la presión sanguínea sistólica disminuye hasta:	≤ 80	≤ 100	≤ 105	≤ 130
Restablecimiento de la infusión cuando la presión sanguínea sistólica vuelve a:	>80	>100	>120	>130

Administración de amifostina oral

Los sujetos que recibieron amifostina por vía oral fueron mantenidos en ayunas (excepto agua) comenzando en la media noche de la noche anterior a la de recibir la dosis oral hasta el mediodía del día siguiente en que recibieron un almuerzo estándar. El día que los sujetos recibieron la amifostina oral, se administró ranitidina (50 mg) mediante inyección por vía intravenosa 1 hora antes del comienzo de la administración de amifostina.

Los sujetos recibieron la amifostina oral en una dosis de 500 mg de una formulación líquida. Esta formulación se administró depositando suavemente una porción de la solución en la parte posterior de la garganta del sujeto. Los sujetos fueron mantenidos en posición supina durante 1 hora después de la administración de la solución oral de amifostina. Después de administrar la amifostina se dejó que todos los sujetos bebieran unos 100 mililitros de agua, y que ingirieran un caramelo duro para mejorar el sabor desagradable de la amifostina oral. Todos los sujetos recibieron un almuerzo estándar a mediodía, una cena estándar a las 6:00 PM y un tentempié estándar a las 10:00 PM.

Las señales vitales (presión sanguínea y pulso) se midieron inmediatamente antes de la administración oral de amifostina y se repitió la determinación cada 5 minutos durante 1 hora. Si ocurría hipotensión, el sujeto recibía una infusión rápida de 500 ml de solución salina normal y se le mantenía en posición supina o en la posición de Trendelenburg hasta que la presión sanguínea volvía a los valores de la línea de base. Durante este tiempo, la presión sanguínea se monitorizó cada 3 minutos.

Administración de amifostina subcutánea

Se administró amifostina por vía subcutánea en una dosis de 500 mg (como una formulación líquida). La dosis de amifostina se dividió en partes iguales entre dos jeringuillas y se administró en dos posiciones sobre la pared abdominal. Los sujetos fueron mantenidos en posición supina durante 30 minutos después de las dos inyecciones de amifostina. Después de la administración de amifostina, se permitió a todos los sujetos que tomaran un desayuno estándar. Se dio a todos los sujetos un almuerzo estándar a mediodía, una cena estándar a las 6:00 PM y un tentempié estándar a las 10:00 PM.

Las señales vitales (presión sanguínea y pulso) se midieron inmediatamente antes de la administración subcutánea de amifostina y se repitió la determinación cada 5 minutos durante 30 minutos. Si tenía lugar hipotensión, el sujeto recibía una infusión rápida de 500 ml de solución salina normal y se le mantenía en posición supina o en la posición de Trendelenburg hasta que la presión sanguínea volvía a los valores de la línea de base. Durante este tiempo, la presión sanguínea se monitorizó cada 3 minutos.

Medicaciones anteriores y concomitantes

Se administró ranitidina a todos los sujetos el día en que la amifostina se administró por vía oral. Se dejó que cualquier sujeto que experimentara náuseas y/o vómitos de Grado 2 ó superior recibiera proclorperazina (10 mg por vía oral o por supositorio) cada 4 horas, según se necesitara.

Valoraciones anteriores al tratamiento

Se llevaron a cabo evaluaciones anteriores al tratamiento en el espacio de los 7 días anteriores al inicio del tratamiento, que incluían las siguientes:

- historia y examen físico incluyendo estatura, peso y señales vitales (presión sanguínea, pulso y temperatura);
- CBC con diferencial y plaquetas;
- características químicas de la sangre incluyendo nitrógeno ureico sanguíneo (BUN), creatinina sérica, calcio, bilirrubina total, albúmina, SGOT, SGPT, fosfatasa alcalina, glucosa y proteína total;
- Análisis de orina; y
- ECG.

Si alguno de los parámetros del laboratorio de algún sujeto era anormal, se repetían los ensayos del laboratorio. Si al volver a realizar los ensayos los parámetros eran normales, el sujeto era incluido en el estudio. Si los parámetros anormales persistían el sujeto era excluido del estudio.

Evaluaciones de la eficacia

El objetivo principal de este estudio era determinar la biodisponibilidad relativa de 500 mg de amifostina administrados por vía subcutánea o por vía oral, comparada con 200 mg/m² de amifostina administrados por vía intravenosa. Como éste era un estudio cruzado en el que cada sujeto recibía amifostina por las tres vías de administración, las biodisponibilidades de la amifostina subcutánea y oral con relación a la amifostina intravenosa fueron evaluadas en cada sujeto.

Recogida de las muestras de sangre

Las muestras de sangre (5 a 7 ml cada una) fueron recogidas o bien mediante punción venosa o un catéter venoso (IVC) heparinizado. Si se usó IVC, el catéter se insertó en el brazo opuesto al del sitio de infusión. Si se usó la línea central, la amifostina intravenosa se administró por un sitio intravenoso distal. Para cualquiera de las dos líneas, los primeros 3 a 5 cc de sangre fueron desechados (volumen vacío) antes de recoger la sangre.

Para sujetos receptores de amifostina por vía intravenosa, se recogieron muestras de sangre 5 minutos antes de administrar la amifostina (línea de base) y 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 30 y 60 minutos, y 2 y 4 horas después de la administración de amifostina.

Para sujetos receptores de amifostina por vía oral en forma de una formulación líquida, se recogieron muestras de sangre inmediatamente antes de la administración de amifostina (línea de base) y 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos, y 2 y 4 horas después de la administración de amifostina.

Para sujetos receptores de amifostina por vía subcutánea, se recogieron muestras de sangre inmediatamente antes de administrar la amifostina (línea de base) y 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos, y 2 y 4 horas después de la administración de amifostina.

Preparación de las muestras de sangre

Las muestras de sangre fueron recogidas a los tiempos especificados durante un período de 4 horas después de cada dosis de amifostina. Cada una de las muestras de sangre se preparó según se describe en la Tabla 3. Las muestras de sangre fueron divididas con fines de análisis; se usó una muestra para determinar la presencia de amifostina y la otra muestra para determinar la presencia de WR-1065 (metabolito activo).

TABLA 3

Preparación de muestras de plasma para determinar las concentraciones de amifostina y WR-1065

La sangre total se extrajo en tubos de vacío con EDTA sobre hielo		
Se separó 1,5 ml de sangre total y se pipeteó en tubos de polipropileno que contenían 1,5 ml de solución de PCA/EDTA, sobre hielo	Resto de sangre total después de separar 1,5 ml	
Se mezcló inmediatamente a fondo por formación de vórtice	Se centrifugaron los tubos a alta velocidad durante 5 minutos a 4°C	
Se centrifugaron los tubos a alta velocidad durante 10 minutos a 4°C	El sobrenadante del plasma se hizo pasar a tubos de polipropileno marcados, sobre hielo	
Se guarda el glóbulo	El sobrenadante claro se hizo pasar a tubos de polipropileno marcados, sobre hielo	Se guarda a -70°C (estas muestras son para determinar la amifostina)
Se mantiene a -70°C	Se guarda a -70°C (estas muestras son para determinar el WR-1065, el metabolito activo)	

EDTA : Ácido etilendiaminotetraacético

PCA: Acido perclórico

Como indica la Tabla 3, la preparación de amifostina (el fármaco parental) y del WR-1065 (metabolito activo) para análisis farmacocinéticos, diferían una de otra. Esta diferencia estaba basada en el camino metabólico de la amifostina. La amifostina es un pro-fármaco que es desfosforilado en el sitio del tejido mediante fosfatasa alcalina dando lugar al metabolito activo, el WR-1065. El WR-1065 puede ser oxidado posteriormente formando disulfuros simétrico y mixto, ambos, o sufre un metabolismo adicional mediante amino-oxidasa dependiente de cobre, formando acroleína y cisteamina. Para evitar la oxidación posterior del WR-1065, se añadió a las muestras PCA/EDTA antes de centrifugar. Debido a que el PCA/EDTA rompe el contenido celular de la sangre, las muestras fueron centrifugadas un mayor período de tiempo para evitar la contaminación/metabolismo del metabolito activo. Por consiguiente, solamente se usó el sobrenadante claro (suero) para el análisis del WR-1065. Por el contrario, no se añadió PCA/EDTA a las muestras de sangre destinadas al análisis del fármaco parental; por tanto, se prepararon muestras de plasma para el análisis del fármaco parental.

Análisis farmacocinéticos

Las concentraciones de amifostina (fármaco sin alterar) y de WR-1065 (metabolito activo), fueron medidas usando métodos de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección electroquímica, según ha sido descrito por Shaw *et al.*, (Shaw *et al.*, 1984, "A Liquid Chromatographic Electrochemical Assay for S-2-(3-Aminopropylamino) ethylphosphorothioate (WR-2721) in Human Plasma", *J. Liq. Chromatog.* 7: 2447-2465; Shaw *et al.*, 1986, "Measurement of S-2-(3-Aminopropyl Amino) ethanethiol (WR-1065) in Blood and Tissue", *J. Liq. Chromatog.* 9: 845-859). WINNONLIN, la versión de WINDOWS de PCNONLIN, se usó para la determinación de los parámetros farmacocinéticos de cada sujeto que siguen a cada vía de administración. Se llevó a cabo modelización no compartimental de los resultados obtenidos.

Evaluaciones de seguridad

Todos los sujetos que habían recibido por lo menos una dosis de terapia protocolaria fueron considerados evaluables para determinar la seguridad. La seguridad se evaluó durante y después de la administración de amifostina (antes de que los sujetos salieran del lugar de realización del estudio) mediante análisis de acontecimientos adversos, examen físico y ensayos de laboratorio. La notación de toxicidad fue realizada después de cada dosis de amifostina. La toxicidad se basó en los Criterios de Toxicidad Común del Instituto Nacional del Cáncer (NCI).

Las evaluaciones de seguridad que siguen fueron realizadas después de la última dosis de amifostina (el día 3) pero antes de que los sujetos salieran del sitio de realización del estudio:

- examen físico incluyendo señales vitales (presión sanguínea, pulso y temperatura);
- CBD con diferencial y plaquetas;
- características químicas de la sangre incluyendo BUN, creatinina sérica, calcio, bilirrubina total, albúmina, SGOT, SGPT, fosfatasa alcalina, glucosa y proteína total;
- análisis de orina; y
- notación de toxicidad.

A los sujetos que tenían valores de laboratorio anormales se les repitió la determinación de esos parámetros. Si los parámetros permanecían anormales, el sujeto era enviado a un médico de su elección para continuar su examen.

Determinación del tamaño de las muestras

Usando un método de cuadrado latino de 3 x 3 con 12 sujetos, el poder detectar una diferencia del 30% de la superficie bajo la curva/AUC) para la amifostina (fármaco parental) y el WR-1065, fue de 80%. Esta diferencia se definió como cambio de los valores de AUC (67% más ó 40% menos) para una vía de administración frente a las otras dos vías de administración. El cálculo del poder supuso una desviación típica de 50% de la AUC media y una corrección de 70% con los sujetos.

Análisis estadístico

La finalidad última principal de este estudio era determinar la biodisponibilidad relativa de 500 mg de amifostina administrada por vía oral o subcutánea, en comparación con 200 mg/m² de amifostina administrada por vía intravenosa. Dado que esto consistió en un estudio cruzado en el que cada uno de los sujetos recibía amifostina por las tres vías de administración, las biodisponibilidades de la amifostina subcutánea y oral con relación a la amifostina intravenosa fueron evaluadas en cada sujeto.

La biodisponibilidad fue evaluada usando la superficie comprendida bajo la curva de concentración en plasma/suero frente al tiempo (AUC) desde 0 a 4 horas. Las AUCs fueron calculadas usando extrapolación según una línea recta desde el último punto no cero.

La biodisponibilidad de la amifostina (fármaco parental más metabolito activo) después de administración oral y subcutánea, estuvo basada en la relación de AUCs de estas vías de administración con la AUC de la amifostina administrada por vía intravenosa. Las AUCs fueron analizadas luego usando un modelo de análisis de la varianza (ANOVA) con la vía, período de tiempo y sujeto como variables. No se incluyó la secuencia en el modelo, dado que esta variable era determinada únicamente por la vía y el período. El intervalo de confianza sobre la relación de la vía subcutánea o la vía oral con respecto a la vía intravenosa, se calculó usando el error cuadrático medio desde el modelo ANOVA entero.

Debido a que éste era un estudio cruzado para ser llevado a cabo en tres días sucesivos, las toxicidades fueron asignadas a la vía de administración en el día en que ocurrió la toxicidad. Se empleó un modelo cruzado, no paramétrico, total (probabilidad de ensayo de relación), para evaluar las toxicidades, que corregía los efectos del período y de secuencia. Se usó para este análisis un PROC CATMOD de SAS®.

Resultados

Entre el 2 de Abril de 1996 y el 23 de Julio de 1996, 12 voluntarios sanos fueron inscritos en este estudio de biodisponibilidad de Fase I, de amifostina administrada por vía intravenosa, vía oral y vía subcutánea (Protocolo WR-A057). Este estudio fue realizado en un lugar de los Estados Unidos. Los 12 sujetos completaron el estudio según el protocolo.

Un total de 12 hombres sanos fueron inscritos en el Protocolo WR-A057 (Tabla 4). La edad media de estos sujetos era 25,5 años, variando desde 18 a 34 años. La superficie específica corporal media (BSA) era 1,84 m², variando desde

1,69 a 2,15 m². Todos los sujetos tenían valores de laboratorio previos al tratamiento dentro del 10% del intervalo normal y no mostraban anomalías de las señales vitales antes de recibir la medicación en estudio. Además, todos los sujetos tenían un ECG normal antes del tratamiento.

TABLA 4

Características demográficas de la línea de base de los 12 sujetos que recibieron amifostina por vías intravenosa, oral y subcutánea

Parámetro	Número (n=12)	Tanto por ciento
Edad (años)		
Media	25,5	
Intervalo	18-34	
Raza		
Caucásica	6	(50,0%)
Negra	5	(41,7%)
Otra	1	(8,3%)
Superficie específica corporal (m²)		
Media	1,84	
Intervalo	1,69-2,15	
Peso (kg)		
Medio	70,2	
Intervalo	59-91	
Estatura (cm)		
Media	176,5	
Intervalo	158-188	

Biodisponibilidad

La Fig. 1 muestra las curvas de concentración en plasma/suero frente al tiempo, para la amifostina (fármaco parental más metabolito activo) después de la administración a los 12 sujetos de amifostina por vía oral, subcutánea e intravenosa. Como puede apreciarse en esta figura, las formas de las curvas de concentración en plasma/suero frente al tiempo para las tres vías de administración eran marcadamente diferentes. Después de una infusión por vía intravenosa de 200 mg/m² (a lo largo de 7,5 minutos), había una absorción rápida de amifostina dentro de <1 minuto desde la administración del fármaco. Después, las concentraciones de amifostina en plasma/suero descendían rápidamente. La concentración máxima de amifostina era, aproximadamente, 130 µM 8 a 10 minutos después de la administración intravenosa, que se situó por debajo de 10 µM 45 minutos después de la administración del fármaco.

Después de una inyección por vía subcutánea de 500 mg, hubo una elevación acusadamente más lenta de las concentraciones de amifostina en plasma/suero en comparación con las de la administración intravenosa. La concentración máxima de amifostina (aproximadamente 15 µM) se observó 15 minutos después de la administración subcutánea y se mantuvo durante 30 minutos aproximadamente. Luego, las concentraciones de amifostina descendieron por debajo de 10 µM aproximadamente 50 minutos después de la administración subcutánea. Treinta minutos después de la administración de 200 mg/m² de amifostina por vía intravenosa y de 500 mg de amifostina por vía subcutánea, las curvas de concentración en plasma/suero frente al tiempo, de la amifostina (fármaco parental más metabolito activo), eran idénticas.

Después de la administración oral (500 mg como una formulación líquida), la concentración máxima de amifostina (aproximadamente 5 µM) se observó 5 a 8 minutos después de la administración del fármaco. Las concentraciones de amifostina descendieron por debajo de 1,0 µM al cabo de 10 a 13 minutos después de la administra-

ción oral del fármaco. Se observó un segundo pico de aproximadamente $4\ \mu\text{M}$ 45 minutos después de la administración oral del fármaco que descendió hasta aproximadamente $1\ \mu\text{M}$ a los 60 minutos después de administrar el fármaco.

La Fig. 2 muestra las curvas de concentración plasmática media frente al tiempo de amifostina (fármaco parental) después de la administración de amifostina por vía oral, subcutánea e intravenosa a 12 sujetos. No había cantidad detectable del fármaco parental en las muestras de plasma de los sujetos después de administrar amifostina por vía oral. La forma de las curvas de concentración plasmática frente al tiempo, de la dosis intravenosa y subcutánea, eran similares a las observadas en la Fig. 1. Después de la dosis intravenosa de $200\ \text{mg}/\text{m}^2$ había una absorción rápida de amifostina dentro de <1 minuto desde la administración del fármaco. Después, las concentraciones plasmáticas de amifostina descendían rápidamente. La concentración máxima de amifostina era, aproximadamente, $100\ \mu\text{M}$ 8 a 10 minutos después de la administración intravenosa, que descendió por debajo de $10\ \mu\text{M}$ aproximadamente 30 minutos después de administrar el fármaco. Después de una inyección subcutánea de 500 mg, hubo una elevación más lenta de las concentraciones plasmáticas de amifostina. La concentración máxima de amifostina (aproximadamente $10\ \mu\text{M}$), se observó 15 minutos después de la administración subcutánea y se mantuvo durante aproximadamente 30 minutos. Luego, las concentraciones de amifostina descendieron por debajo de $10\ \mu\text{M}$ aproximadamente, 45 minutos después de la administración subcutánea. Treinta minutos después de la administración de $200\ \text{mg}/\text{m}^2$ de amifostina por vía intravenosa y de 500 mg de amifostina por vía subcutánea, las curvas de concentración plasmática frente al tiempo, del fármaco parental eran similares pero apreciándose concentraciones superiores de fármaco parental para la amifostina subcutánea frente a la amifostina intravenosa.

La Fig. 3 muestra las curvas de concentración sérica media frente al tiempo para el WR-1065 (metabolito activo) después de la administración de amifostina por vía subcutánea, oral e intravenosa, en los 12 sujetos. Como puede apreciarse en esta figura, la forma de las curvas de concentración sérica frente al tiempo de las tres vías de administración, eran similares a las observadas en la Fig. 1. En efecto, la curva de concentración sérica-tiempo para la amifostina oral de la Fig. 1 era la misma curva exacta de la Fig. 3; esto es debido al hecho de que no había cantidad detectable de fármaco parental en las muestras de plasma de los sujetos después de la administración oral de amifostina. Después de una infusión intravenosa de $200\ \text{mg}/\text{m}^2$ había una absorción rápida de WR-1065 dentro de <1 minuto desde la administración del fármaco. Luego la concentración sérica de WR-1065 también descendió rápidamente pero a una velocidad menor que la que se observó con el fármaco parental (véase la Fig. 2). La concentración máxima de WR-1065 era, aproximadamente, $30\ \mu\text{M}$ 10 minutos después de la administración intravenosa, que cayó por debajo de $5\ \mu\text{M}$ aproximadamente 45 minutos después de administrar el fármaco. Después de una inyección subcutánea de 500 mg, había una elevación más lenta de las concentraciones séricas de WR-1065. La concentración máxima de WR-1065 (aproximadamente $5\ \mu\text{M}$) se observó 15 minutos después de la administración subcutánea y se mantuvo así durante 30 minutos aproximadamente. Luego, las concentraciones de WR-1065, cayeron por debajo de $5\ \mu\text{M}$ aproximadamente 60 minutos después de la administración subcutánea. Cuarenta minutos después de administrar $200\ \text{mg}/\text{m}^2$ de amifostina por vía intravenosa y 500 mg de amifostina por vía subcutánea, las curvas de concentración sérica frente al tiempo, del metabolito activo eran idénticas.

El objeto principal de este estudio era determinar la biodisponibilidad relativa de 500 mg de amifostina administrada por vía oral o subcutánea respecto a $200\ \text{mg}/\text{m}^2$ de amifostina administrada por vía intravenosa. La Tabla 5 indica los valores de AUC de amifostina (fármaco parental y metabolito activo combinados) para cada sujeto después de la administración de amifostina por vía oral, subcutánea e intravenosa. Basado en la relación de AUCs, la biodisponibilidad relativa de la amifostina (fármaco parental y metabolito activo) que sigue a la dosis subcutánea de 500 mg, era 0,67 (95% de intervalo de confianza de 0,37 a 0,98) de la dosis intravenosa de $200\ \text{mg}/\text{m}^2$. La biodisponibilidad relativa de amifostina después de una dosis oral de 500 mg, era 0,11 (95% de intervalo de confianza de 0,04 a 0,18) de la dosis intravenosa de $200\ \text{mg}/\text{m}^2$.

(Tabla pasa a página siguiente)

TABLA 5

Biodisponibilidad relativa de 500 mg de amifostina administrada por vía oral o subcutánea respecto a 200 mg/m² de amifostina administrada por vía intravenosa, en 12 sujetos varones sanos (Fármaco parental y metabolito activo combinados)

Número del sujeto	AUC (μMxmin) de combinado			Biodisponibilidad	
	500 mg Subcutánea (SC)	500 mg Oral (PO)	200 mg/m ² Intravenosa (IV)	Relación PO/IV	Relación SC/IV
1001	1726	656	1573	0,42	1,10
1002	2411	243	2820	0,09	0,86
1003	3946	456	2432	0,19	1,62
1004	475	131	2198	0,06	0,22
1005	643	378	1383	0,27	0,46
1006	180	132	1876	0,07	0,10
1007	732	50	2102	0,02	0,35
1008	3080	42	1811	0,02	1,70
1009	550	86	1296	0,07	0,42
1010	348	0	1343	0,00	0,26
1011	985	121	1382	0,09	0,71
1012	550	2	1832	0,00	0,30
Media	1302	191	1837	0,11	0,67
05% IC*	611-1993	75-307	1565-2109	0,04-0,18	0,37-0,98

IC: Intervalo de confianza

* Usando el error cuadrático medio partiendo del modelo ANOVA

La Tabla 6 expone los valores de AUC del fármaco parental para cada sujeto después de la administración de amifostina por vía oral, subcutánea e intravenosa. Basada en la relación de AUCs, la biodisponibilidad relativa del fármaco parental después de una dosis subcutánea de 500 mg era 0,72 (95% de intervalo de confianza de 0,26 a 1,18) de la dosis intravenosa de 200 mg/m². La biodisponibilidad relativa del fármaco parental después de una dosis oral de 500 mg era 0,00 ya que no se detectó fármaco parental en las muestras de sangre de los sujetos después de la administración oral de amifostina (véase la Fig. 2).

TABLA 6

Biodisponibilidad relativa de 500 mg de amigostina administrada por vía oral o subcutánea respecto a 200 mg/m² de amifostina administrada por vía intravenosa, en 12 sujetos varones, sanos (Fármaco parental)

Número del sujeto	AUC (μMxmin) de fármaco parental				Biodisponibilidad	
	500 mg Subcutánea (SC)	500 mg Oral (PO)	200 mg/m ² Intravenosa (IV)		Relación PO/IV	Relación SC/IV)
1001	1208	0	840	0,00	1,44	
1002	1135	0	1305	0,00	0,87	
1003	2883	0	1238	0,00	2,33	
1004	224	0	1759	0,00	0,13	
1005	305	0	805	0,00	0,38	
1006	0	0	1526	0,00	0,00	
1007	515	0	1723	0,00	0,30	
1008	2924	0	1378	0,00	2,12	
1009	154	0	812	0,00	0,19	
1010	264	0	928	0,00	0,28	
1011	697	0	1156	0,00	0,60	
1012	0	0	1351	0,00	0,00	
Media	859	0	1235	0,00	0,72	
95% IC*	274-1444	---	1044-1426	-----	0.26-1,18	

IC: Intervalo de confianza

*: Usando el error cuadrático medio partiendo del modelo ANOVA

La Tabla 7 expone los valores de AUC del metabolito activo (WR-1065) para cada sujeto después de la administración de amifostina por vía oral, subcutánea e intravenosa. Basada en la relación de AUCs, la biodisponibilidad relativa del metabolito activo después de una dosis subcutánea de 500 mg era 0,71 (95% de intervalo de confianza de 0,55 a 0,86) de la dosis intravenosa de 200 mg/m². La biodisponibilidad relativa del metabolito activo después de una dosis oral de 500 mg era 0,32 (95% de intervalo de confianza de 0,16 a 0,48)) de la dosis intravenosa de 200 mg/m².

TABLA 7

Biodisponibilidad relativa de 500 mg de amifostina administrada por vía oral o subcutánea respecto a 200 mg/m² de amifostina administrada por vía intravenosa, en 12 sujetos varones, sanos (Metabolito activo)

	AUC ($\mu\text{M}\cdot\text{min}$) de metabolito activo			Biodisponibilidad	
	500 mg Subcutánea (SC)	500 mg Oral (PO)	200 mg/m ² Intravenosa (IV)	Relación PO/I	Relación SC/IV
Número del sujeto					
1001	518	656	745	0,88	0,70
1002	1587	243	1583	0,15	1,00
1003	1047	456	1234	0,37	0,85
1004	251	131	424	0,31	0,59
1005	338	378	569	0,66	0,59
1006	180	132	265	0,50	0,68
1007	218	50	381	0,13	0,57
1008	142	42	437	0,10	0,32
1009	379	86	482	0,18	0,79
1010	84	0	338	0,00	0,25
1011	188	121	203	0,59	0,93
1012	550	2	457	0,00	1,20
Media	457	191	593	0,32	0,71
95% IC*	207-707	75-307	360-826	0,16-0,4	0,55-0,86

IC: Intervalo de confianza

*: Usando el error cuadrático medio partiendo del modelo ANOVA

Los resultados de AUC obtenidos, citados, presentados en las Tablas 5, 6 y 7, fueron usados para calcular la biodisponibilidad absoluta de la amifostina después de administración oral y subcutánea. Usando la dosis intravenosa de 200 mg/m² como la dosis representante del 100% de biodisponibilidad, los resultados de AUC obtenidos para la amifostina oral y subcutánea fueron ajustados a la dosis y comparados con los resultados de AUC obtenidos para la amifostina intravenosa. Basada en la relación de AUCs en contraste con las biodisponibilidades relativas, la biodisponibilidad absoluta de la amifostina (fármaco parental más metabolito activo) después de la administración subcutánea era 0,50 (95% de intervalo de confianza de 0,27 a 0,73) de la dosis intravenosa. Las biodisponibilidades absolutas del fármaco parental y el metabolito activo después de administración subcutánea, era 0,53 (95% de intervalo de confianza de 0,18 a 0,88) y 0,53, respectivamente, (95% de intervalo de confianza de 0,41 a 0,64) de la dosis intravenosa. La biodisponibilidad absoluta de la amifostina (fármaco parental más metabolito activo) después de administración oral era 0,08 (95% de intervalo de confianza de 0,03 a 0,13) de la dosis intravenosa.

Eficacia

Las concentraciones plasmáticas de amifostina (fármaco parental) y las concentraciones séricas de WR-1065 (metabolito activo) fueron medidas en muestras de sangre obtenidas de 12 varones sanos antes y hasta 4 horas después de recibir amifostina en forma de una inyección subcutánea de 500 mg, una solución oral de 500 mg y una infusión intravenosa de 200 mg/m² (a lo largo de 7,5 minutos). Partiendo de estos resultados, fueron generadas curvas de concentración en plasma/suero frente al tiempo y usadas para determinar el perfil farmacocinético de la amifostina (fármaco parental y metabolito activo) que sigue a cada vía de administración.

Como indica la Fig. 1, las formas de las curvas de concentración en plasma/suero frente al tiempo para la amifostina (fármaco parental más metabolito activo) de las tres vías de administración, eran diferentes. Siguiendo las tres vías de administración, hubo una absorción rápida de amifostina dentro de los 5 minutos siguientes a la administración del fármaco. La vía intravenosa puso de manifiesto la velocidad de absorción más rápida, seguida de la vía subcutánea y de la vía oral. Después de esto, las concentraciones en plasma/suero de la amifostina decrecieron. La velocidad de disminución fue la más rápida para la vía intravenosa y la más lenta para la vía subcutánea. La concentración máxima de amifostina (fármaco parental más metabolito activo) después de la administración intravenosa fue, aproximadamente, 130 μM (aproximadamente 100 μM para el fármaco parental y 30 μM para el metabolito activo). Las concentraciones máximas de amifostina (fármaco parental más metabolito activo) después de administración subcutánea y administración oral, eran, aproximadamente, 15 μM y 5 μM , respectivamente. Las concentraciones máximas fueron alcanzadas a los 15 minutos aproximadamente y se mantuvieron (meseta) hasta aproximadamente 45 minutos desde la adminis-

tración del fármaco. Como indica la Fig. 2 no había cantidades detectables de fármaco parental en las muestras de plasma procedentes de los sujetos después de la administración de amifostina por vía oral.

Acontecimientos adversos

La Tabla 8 expone aquellos sujetos que indicaron un acontecimiento adverso después de la administración de amifostina por vía intravenosa, oral y subcutánea. Ninguno de los sujetos interrumpió la administración de amifostina debido a acontecimientos adversos. Todos los acontecimientos adversos eran leves, pasajeros y considerados relacionados con la amifostina. Cinco sujetos informaron de acontecimientos adversos después de la administración de amifostina por vía intravenosa frente a un sujeto de cada una de las administraciones de amifostina oral y subcutánea. El acontecimiento adverso más común fueron las náuseas. Otros acontecimientos adversos incluían dolor de cabeza, hipotensión, vómitos, aturdimiento y somnolencia.

TABLA 8

Lista de sujetos que informaron de acontecimientos adversos después de la administración de amifostina por vía intravenosa, oral y subcutánea
(N = 12)*

Acontecimiento adverso	Vía		
	Intravenosa	Oral	Subcutánea
Dolor de cabeza	1008		
Hipotensión	1003	1003	
Náuseas	1001, 1003, 1005 1007, 1008		1002
Vómitos	1008		
Aturdimiento	1003	1003	
Somnolencia	1008		

“ Todos los acontecimientos adversos fueron leves y relacionados con la amifostina.

Hipotensión

Episodios de hipotensión leves y pasajeros fueron indicados por uno de los sujetos después de la administración de amifostina por vía intravenosa y vía oral (Tabla 10). El día 2 del estudio, el sujeto 1003 tenía una lectura de la presión sanguínea antes de la infusión, de 115/58 mm de Hg que disminuyó a 99/56 mm de Hg 5 minutos después de completar la infusión. Cinco minutos más tarde, su presión sanguínea retornó a los valores de la línea de base (114/56 mm de Hg). El sujeto 1003 experimentó también dos episodios de hipotensión después de la administración de amifostina por vía oral el Día 3. Con una lectura de la presión sanguínea de la línea de base de 121/70 mm de Hg, se observaron descensos pasajeros de la presión sanguínea (99/49 y 98/51 mm de Hg) a los 5 y 25 minutos después de la administración oral de amifostina., respectivamente. Después de esto, ninguna de las otras lecturas de la presión sanguínea cumplía los criterios de hipotensión.

No hubo incidencia de hipotensión después de la administración de amifostina por vía subcutánea.

Emesis

Seis sujetos informaron de náuseas y un sujeto vomitó durante el estudio. Náuseas fueron indicadas en cinco sujetos después de la administración intravenosa de amifostina y en un sujeto después de administrar amifostina por vía subcutánea (Tabla 10). Se informó de vómitos en un sujeto después de administrar amifostina por vía intravenosa. Todos los episodios de náuseas/vómitos eran leves y de naturaleza pasajera. Se prescribió terapia antiemética a dos sujetos después de administrar amifostina por vía intravenosa. El sujeto 1007 recibió proclorperazina (10 mg) para las náuseas, y el sujeto 1008 recibió proclorperazina (10 mg) para las náuseas/vómitos.

Evaluaciones clínicas

Se llevaron acabo exámenes físicos incluyendo peso y señales vitales (presión sanguínea, pulso y temperatura) después de la última dosis de amifostina pero antes de que los sujetos abandonaran el sitio de estudio. No se apreciaron cambios notables en estos parámetros después de la última dosis de amifostina.

Ensayos clínicos de laboratorio

Se llevaron a cabo ensayos de laboratorio que incluyeron determinaciones de la hematología, química del suero y análisis de orina después de la última dosis de amifostina pero antes de que los sujetos abandonaran el sitio de estudio.

- 5 Los resultados de laboratorio fueron comparados con los intervalos de referencia del laboratorio así como con los Criterios Comunes de Toxicidad del NCI. Un sujeto (el sujeto 1010) tenía un valor de la creatinina sérica (0,60 mg/dl) >10% por debajo del límite inferior del intervalo de referencia (0,70 a 1,40 mg/dl); su valor de la línea de base era 0,90 mg/dl. Este valor bajo fue considerado por los inventores como clínicamente insignificante. Además, ninguno de los sujetos experimentó una toxicidad de laboratorio de Grado 2 o superior, de conformidad con los Criterios Comunes de Toxicidad del NCI.

Conclusiones de seguridad

- 15 La amifostina fue bien tolerada con independencia de la vía de administración. Los 12 sujetos completaron la medicación en estudio requerida según el protocolo. Ningún sujeto interrumpió la amifostina debido a acontecimientos adversos. Todos los acontecimientos adversos fueron leves, pasajeros y considerados relacionados con la amifostina. Cinco sujetos informaron de acontecimientos adversos después de la administración de amifostina intravenosa frente a un sujeto que lo indicó después de la administración de amifostina por vía oral y subcutánea (Tabla 8). El acontecimiento adverso más común fueron náuseas. Otros acontecimientos adversos incluían dolor de cabeza, hipotensión.
- 20 vómitos, aturdimiento y somnolencia. Episodios de hipotensión leves y pasajeros fueron indicados por un sujeto después de la administración de amifostina por vía intravenosa y oral. Estos episodios ocurrieron después de administrar amifostina y ninguno tuvo una duración de más de 5 minutos. No hubo incidencia de hipotensión después de la administración de amifostina por vía subcutánea. No hubo descubrimientos notables para cualquiera de las evaluaciones clínicas o ensayos clínicos de laboratorio.

- 25 Ejemplo

La administración subcutánea de amifostina protegió a animales contra la mucositis inducida por las radiaciones

- 30 Una de las principales toxicidades agudas limitantes asociadas con la radioterapia es la mucositis inducida por las radiaciones.. La aptitud para reducir la duración y la gravedad de reacciones mucosales agudas, tiene una importancia especial en la radioterapia y/o la quimioterapia del cáncer de cabeza y cuello. Por consiguiente, los efectos radioprotectores de la amifostina, fueron examinados en un modelo experimental de mucositis. En particular, el estudio comparó los efectos radioprotectores de la amifostina administrada por vía subcutánea (s.c) e intraperitoneal (i.p.). Se
- 35 empleó el modelo de ratón desarrollado por Parkins *et al.*, para examinar las reacciones mucosales en el labio inferior de ratones después de irradiación, y este modelo ha sido establecido en la técnica como modelo reproducible (Parkins *et al.*, 1983, Radiother. Oncol. 1:159-165).

Diseño experimental

- 40 Se emplearon ratones hembra C57BL/6 de 8-10 semanas de edad alimentados con alimento semilíquido. Un total de 40 ratones fueron divididos al azar en ocho grupos de tratamiento de cinco ratones cada uno. Los grupos de tratamiento fueron:

- 45 Grupo 1: Solución salina (i.p.) e irradiación

Grupo 2: Solución salina (s.c.) e irradiación

Grupo 3: Amifostina (200 mg/kg, i.p.) e irradiación

- 50 Grupo 4: Amifostina (400 mg/kg, i.p.) e irradiación

Grupo 5: Amifostina (200 mg/kg, s.c.) e irradiación

- 55 Grupo 6: Amifostina (400 mg/kg, s.c.) e irradiación

Grupo 7: Solución salina (i.p.)

Grupo 8: Solución salina (s.c.).

- 60 Ratones sin anestesiarse mantuvieron en posición supina y fueron irradiados exclusivamente sobre el extremo de sus bocas. Los ratones fueron inmovilizados usando dispositivos de sujeción comparables a los usadas anteriormente por Ang *et al.*, 1982, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8:145-148). La irradiación se llevó a cabo con un aparato RT 250, de Philips, que suministraba 1,98 Gy por minuto (200 Kv, 20 mA, filtro de 0,2 mm de Cu). Durante la irradiación,
- 65 se mantuvo una renovación normobárica de aire, constante. Los efectos de la amifostina fueron evaluados usando una sola dosis de 16,5 Gy.

Administración de la amifostina

Se disolvió amifostina en solución salina fisiológica (NaCl al 0,9% para conseguir una concentración final de 50 mg/ml) inmediatamente antes de las inyecciones de 200 ó 400 mg/kg de peso. Ambas inyecciones, i.p. y s.c. fueron efectuadas 30 minutos antes de la irradiación. Se usó para el grupo testigo un placebo de solución salina solamente.

Sistema de calificación de las mucositis

Los efectos de la irradiación sobre la mucosa del labio fueron evaluados usando el sistema de calificación descrito por Parkins *et al.*, (1983, Radiother. Oncol. 1:159-165). El peso de los ratones tratados fue calificado diariamente después del tratamiento. La disminución de peso se usó como una indicación objetiva de la gravedad de las mucositis inducidas por la irradiación, resultante, presumiblemente, de la incapacidad de los animales para comer. En este modelo, las reacciones agudas alcanzaron el máximo alrededor del día 10 a 11 después de la irradiación.

Otros síntomas de mucositis tales como el eritema mucosal y el edema mucosal, fueron registrados también. Estos síntomas se desarrollaron más lentamente que la pérdida de peso después de la irradiación. El eritema y el edema mucosales fueron calificados por separado y pudieron ser analizados como calificaciones separadas o como una calificación conjunta proporcionando una calificación máxima de 7. El eritema mucosal del labio del ratón fue calificado según la Tabla 9.

TABLA 9

Sistema de calificación del eritema mucosal

Calificación	Observación de la mucosa
0,5	Era dudoso si tenía color rosa anormal
1	Ligera, pero taxativamente enrojecida
2	Fuerte enrojecimiento
3	Exfoliación focal
4	Exudación o formación de costras que cubren aproximadamente 1/2 de la superficie del labio
5	Exudación o formación de costras que cubren más de 1/2 de la superficie del labio

El edema mucosal (hinchazón) de los labios fue calificado según la Tabla 10.

TABLA 10

Sistema de calificación del edema mucosal

Calificación	Observación de la mucosa
0,5	50-50 dudoso si es que había alguna hinchazón
1	Ligera hinchazón pero taxativamente existente
2	Fuerte hinchazón

Resultados

La disminución de peso de los ratones irradiados fue medida como un indicador objetivo de mucositis (Tabla 11). Una sola dosis de irradiación redujo grandemente el peso de los animales, en particular 7-13 días después del tratamiento (Fig. 4A y 4B). Los animales sin irradiar mantuvieron un peso estacionario a lo largo de todo el curso del estudio. La disminución de peso fue evitada en animales que habían recibido inyecciones de amifostina o bien por vía i.p o por vía s.c. Los efectos radioprotectores de la amifostina eran dependientes de la dosis.

Los animales sin irradiar no tuvieron eritema durante el período total del experimento (Tabla 12). Por el contrario, se observó eritema en todos los grupos irradiados (Fig. 5A y 5B). La administración de amifostina por vía i.p y por vía s.c. hizo disminuir la calificación media de los eritemas comparada con la de solución salina más irradiación. De modo semejante, las calificaciones de los edemas mucosales habían disminuido mediante ambos métodos de inyección de amifostina (Fig. 6 A y 6 B, Tabla 13).

Los resultados presentados en las Figs. 4A, 4B, 5A, 5B, 6A, 6B y las Tablas 11-13 indican que ambas vías de administración, s.c. e i.p., eran eficaces para reducir los efectos adversos de la radiación, medido mediante tres indicadores de la mucositis, a saber, el peso, la calificación de los eritemas y la calificación de los edemas. Además, la

ES 2 289 090 T3

administración subcutánea de amifostina a 200 mg/kg produjo la máxima eficacia en los puntos de tiempo de efectos adversos máximos o sea, el día 9 para el peso y el día 12 para el eritema y el edema). Un aumento de la dosis de amifostina desde 200 mg/kg a 400 mg/kg produjo beneficios adicionales mínimos. Por tanto, estos resultados indican que la administración de amifostina por vía subcutánea puede tener una eficacia mejorada sobre otras vías de administración, tales como la i.p.

TABLA 11

Solución salina (i.p.) + irradiación

Días	0	6	7	9	12	13	14
1	20	19,8	16,3	16,5	15,1	15,5	18,4
2	20	17,4	14,6	13,3	14,3	13,87	15,4
3	20	17,8	16	13,9	14,8	15,6	16,9
4	19,5	16,8	15,6	13,7	15,2	17,4	17,9
5	19	18,2	16,1	15,4	15,1	14	16,8
Media	19,7	18	15,72	14,56	14,9	15,074	17,08
Típica*	0,2	0,505964	0,302324	0,601332	0,164317	0,490893	0,517107

*Desviación típica

Solución salina (s.c.)+irradiación

Ratón	0	6	7	9	12	13	14
1	20	20,1	18,8	18	17,6	18,46	20,0
2	20	17,8	15,5	14,5	15,7	16	18,2
3	20	19	18,1	17,1	16,9	18,5	20,2
4	21	19	17,7	16,4	17,7	19	21,5
5	20	18,2	15,7	14,4	16,6	17,5	18,8
Media	20,2	18,82	17,16	16,08	16,9	17,892	19,92
Típica	0,2	0,395474	0,661513	0,71232	0,364692	0,531662	0,622415

Amifostina (i.p.) a 200 mg/kg + irradiación

Ratón	0	6	7	9	12	13	14
1	20	18,1	19,1	18	19,3	19,3	19,8
2	20	18,1	16,7	17	19,7	19,6	20,1
3	20	18,6	18,3	17,3	19,3	19,4	20
4	20	19	19,6	20,1	21,3	21,4	21,6
5	20	20	20,7	20,4	21,3	21	21
Media	20	18,76	18,88	18,56	20,18	20,14	20,5
Típica	0	0,352987	0,669627	0,710352	0,463033	0,44	0,343511

Amifostina (i.p.) a 400 mg/kg + irradiación

Ratón	0	6	7	9	12	13	14
1	20,5	19,7	20	20,4	21,2	20,8	21,6
2	19	18,1	19,4	18,2	18,7	19	18,8
3	21	19,2	20,7	21,8	21	21,3	21,8
4	19	19,4	20,4	20,8	20,8	21,2	21,1
Media	19,875	19,1	20,125	20,3	20,425	20,575	20,825
Típica	0,515388	0,348807	0,280995	0,759386	0,580768	0,535996	0,690863

Amifostina (s.c.) a 200 mg/kg + irradiación

Ratón	0	6	7	9	12	13	14
1	20	17,7	18,3	19,4	18,6	19,2	19,8
2	20	18,8	19,9	20,6	19,5	19,8	20,9
3	19,5	18,2	19,3	19,6	19,5	19,7	20,2
4	19	18,7	19	19,5	20,3	20,3	22,2
5	19	18,9	18,8	19,8	19,9	20	21,5
Media	19,5	18,46	19,06	19,78	19,56	19,8	20,92
Típica	0,223607	0,224944	0,265707	0,215407	0,282135	0,181659	0,432897

ES 2 289 090 T3

Amifostina (s.c.) a 400 mg/kg + Irradiación

Ratón	0	6	7	9	12	13	14
1	20	19	19,4	20,6	19,9	20,5	21,4
2	20	19,7	19,8	20,8	18,8	20,3	21
3	19,5	20	20,6	21,4	20,7	21,1	21,4
4	21	16,9	19,2	20,7	21,7	22	24
5	20	19,6	20	20,7	20,8	21,3	21,7
Media	20,1	19,04	19,8	20,84	20,38	21,04	21,9
Típica	0,244949	0,559106	0,244949	0,143527	0,487237	0,302655	0,536656

Solución salina (l.p.)

Ratón	0	6	7	9	12	13	14
1	20	20,7	19,8	20,4	19,9	20,7	20,9
2	19,3	19,6	19,1	20,5	20,1	19,9	20,5
3	20,6	21,1	21,1	21,5	21,5	21,5	23,1
4	19,3	20,2	20,1	20,3	20,6	21,2	21,1
5	21	20,1	21	21,8	21,1	21,6	21,6
Media	20,04	20,34	20,22	20,9	20,64	20,98	21,44
Típica	0,341467	0,25807	0,376032	0,311448	0,299333	0,31209	0,451221

Solución salina (s.c.)

Ratón	0	6	7	9	12	13	14
1	20	19,8	19,7	20,7	20	20,7	21,5
2	19,3	19,2	19,4	20,1	19,8	20,3	20,9
3	20,5	20	20,4	21	20,1	21	21,6
4	20,2	20,1	20,3	21	20,2	20,8	21,3
5	20	20,2	20,2	21,1	20,8	21,4	22,6
6	19	19,2	19,2	20,1	19,6	20,2	20,9
Media	19,83333	19,75	19,86667	20,66667	20,08333	20,73333	21,46667
Típica	0,2319	0,182117	0,20602	0,18738	0,16816	0,181965	0,256472

ES 2 289 090 T3

TABLA 12

Eritema
Días después del tratamiento

Solución salina (i.p.) + irradiación

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0,5	0	2	5	2	2
2	0	0,5	4	4	3	3
3	0,5	0,5	4	5	5	4
4	0,5	0,5	1	5	2	3
5	0	0,5	2	5	3	2
Media	0,3	0,4	2,6	4,8	3	2,8
Típica	0,122474	0,1	0,6	0,2	0,547723	0,374166

Solución salina (s.c.) + Irradiación

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0	0,5	2	4	3	2
2	0	0,5	2	5	3	3
3	0	0	2	5	5	3
4	0	0	2	4	2	2
5	0	0,5	1	3	2	2
Media	0	0,3	1,8	4,2	3	2,4
Típica	0	0,122474	0,2	0,374166	0,547723	0,244949

Amifostina (i.p.) a 200 mg/kg + Irradiación

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0,5	0,5	1	4	0,5	0,5
2	0	0	2	4	2	2
3	0	0	1	3	2	1
4	0,5	0,5	1	3	1	0
5	0	0	1	1	0,5	0
Media	0,2	0,3	1,2	3	1,2	0,7
Típica	0,122474	0,122474	0,2	0,547723	0,339116	0,374166

Amifostina (i.p.) a 400 mg/kg + Irradiación

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0,5	3	0	0
2	0	0	1	1	0,5	0,5
3	0	0	0,5	1	0,5	0
4	0	0	1	2	0	0
Media	0	0	0,75	1,75	0,25	0,125
Típica	0	0	0,144338	0,478714	0,144338	0,125

Amifostina (s.c.) a 200 mg/kg + Irradiación

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0,5	2	1	0,5
2	0	0	1	2	0,5	0,5
3	0	0,5	1	1	2	0,5
4	0	0	3	2	1	0,5
5	0	0	3	3	1	1
Media	0	0,1	1,7	2	1,1	0,6
Típica	0	0,1	0,538516	0,316228	0,244949	0,1

ES 2 289 090 T3

Amifostina (s.c.) a 400 mg/kg + Irradiación

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0	0	2	3	1	1
2	0	0	1	1	0	0
3	0	0	2	1	0,5	0
4	0	0	2	3	1	0
5	0	0	1	2	1	0,5
Media	0	0	1,6	2	0,7	0,3
Típica	0	0	0,244949	0,447214	0,2	0,2

Solución salina (I.p)

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
Media	0	0	0	0	0	0
Típica	0	0	0	0	0	0

Solución salina (s.c.)

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
Media	0	0	0	0	0	0
Típica	0	0	0	0	0	0

ES 2 289 090 T3

TABLA 13

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Amifostina (s.c.) a 400 mg/kg + irradiación

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	1	0,5	1	0,5	0,5	1
2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0
3	0,5	0	1	0,5	0,5	0,5
4	1	0,5	1	1	1	0,5
5	0	0,5	1	1	1	0,5
Media	0,6	0,4	0,9	0,7	0,7	0,5
Típica	0,187083	0,1	0,1	0,122474	0,122474	0,158114

Solución salina (l.p)

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
Media	0	0	0	0	0	0
Típica	0	0	0	0	0	0

Solución salina (s.c.)

Ratón	6	7	9	12	13	14
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
Media	0	0	0	0	0	0
Típica	0	0	0	0	0	0

Ejemplo

La administración subcutánea de amifostina estimuló el crecimiento de células de médula ósea en seres humanos

Administración subcutánea de amifostina en pacientes de MDS

Todos los pacientes de este estudio tenían MDS y habían sido diagnosticados como pertenecientes a uno de los subtipos siguientes: anemia refractaria, anemia refractaria con sideroblastos anulares, anemia refractaria con blastos en exceso o anemia refractaria con blastos en exceso en transformación. Además, los pacientes tenían trombocitopenia (recuento de plaquetas < 100.000/ μ l), neutropenia (ANC o recuento absoluto de neutrófilos < 1500/ μ l) o una hemoglobina sin transfusión < 10 g/dl y/o eran dependientes de transfusión, definida por requerir al menos 4 unidades de hematíes (RBC) en las 10 semanas anteriores a la entrada. Estos pacientes no habían recibido tratamiento previo alguno distinto de transfusión para el MDS dentro de los 30 días anteriores al estudio.

Un vial de amifostina de 500 mg se disolvió en 2,5 ml de solución de NaCl al 0,9% para administrar por vía s.c. Si la dosis calculada de amifostina requería un volumen de más 2 ml para la disolución, el volumen total era dividido en partes iguales y administrado como dos inyecciones s.c. La presión sanguínea fue monitorizada antes del tratamiento y después de la primera dosis, a intervalos de 30 minutos, durante 90 minutos. Se administró una sola dosis de amifostina de 500 mg. Al menos tres pacientes fueron tratados con cada dosis. Para un ciclo de tratamiento, los pacientes recibieron amifostina una vez al día, de lunes a viernes, durante tres semanas, seguido de dos semanas de descanso. Las respuestas hematológicas al tratamiento fueron evaluadas mediante el recuento de neutrófilos (ANC), el recuento de plaquetas, la respuesta eritroidea incluyendo niveles de hemoglobina y el recuento de reticulocitos, y la formación de colonias *in vitro*.

Resultados

Entre los pacientes que habían recibido la administración de amifostina por vía subcutánea, 17 pacientes fueron evaluados para determinar las respuestas hematológicas. Entre los 17 pacientes evaluado, 4 habían recibido previamente amifostina por vía intravenosa con anterioridad al estudio. Los pacientes tenían diversos esquemas citogenéticos mostrando 8 pacientes un cariotipo normal y mostrando 9 pacientes un cariotipo anormal. Se observaron mínimos efectos adversos en los pacientes tratados; náuseas (grado I/II) en uno de los pacientes, fatiga (grado I/II) en cuatro pacientes, salpullido (grado I/II) en seis pacientes, vómitos (grado I/II) en un paciente, reacción local (grado III) en un paciente y sabor metálico (grado I/II) en un paciente.

La Tabla 14 expone que el 29% de los pacientes tratados mostraban un aumento de 50% o mayor de ANC en comparación con los niveles anteriores al tratamiento. Además, el 33% de los pacientes mostraba un aumento de 50% o mayor de plaquetas en comparación con los niveles anteriores al tratamiento. Además, el 71% de los pacientes mostraba un aumento de 50% ó más del recuento de reticulocitos en comparación con los niveles anteriores al tratamiento.

TABLA 14

	Evaluables	Respondedores	[Magnitud]
ANC $\geq$ 50% I	17	5(29%)	[330-105/ μ l]
ANC < 1000	8	3(38,5%)	
ANC > 1000	9	2(22%)	
Plaquetas $\geq$ 50% I	9	3(33%)	[23-32.000/ μ l]
> 50.000/ μ l	3	3(100%)	
< 50.000/ μ l	6	0	
Rec. reticul. $\geq$ 50% I	14	10(71%)	[0,4%-4,8%]
Transfusión de RBC ($\leq$ 50% I)	13	0	
Blastos BM I (RAEB)	5	2(RAEB-t, AML)	
Hemoglobina > 1,5 g/dl I	7	1	
Sideroblast anulares	7	3 I [47%-100%]	

Células progenitoras de médula ósea fueron recuperadas desde los pacientes tratados y analizadas para determinar su aptitud para formar colonias CFU-GEMM, BFU-E y CFU-GM en ensayos estándar en metilcelulosa. Las Fig. 7A-7C muestran que células obtenidas de varios pacientes producían colonias de médula ósea. Estos resultados indican que la administración subcutánea de amifostina en pacientes aquejados del MDS era eficaz para inducir el crecimiento de células de médula ósea.

*Ejemplo**Administración subcutánea de amifostina y terapia de radiación en pacientes con cáncer de cabeza y cuello**Administración subcutánea de amifostina en pacientes con cáncer de cabeza y cuello*

Las ventajas de la administración de amifostina por vía subcutánea (s.c.) se demostró comparando los resultados de un ensayo de fase II de amifostina administrada subcutáneamente y terapia de radiación en pacientes con cáncer de cabeza y cuello, con los resultados de un estudio en el que los pacientes habían recibido amifostina por vía IV y terapia de radiación para el cáncer de cabeza y cuello (Brizel, J. Clin. Oncol. 18:3339-3345, 2000).

En el estudio de fase II todos los pacientes habían sido sometidos a terapia de radiación para el tratamiento de carcinoma de células escamosas de la región de la cabeza y el cuello, confirmado histológicamente. Se permitió que

los pacientes entraran a formar parte del estudio después de tratamiento quirúrgico con intención curativa tan pronto como la herida hubo curado pero no más tarde de 12 semanas después de la operación. Los pacientes tenían por lo menos 18 años de edad con una esperanza de supervivencia de 12 meses por lo menos, un estado de comportamiento de Karnofsky de 70 por lo menos, sin evidencia de enfermedad metastática distante, tenían un recuento de granulocitos (segs. y en banda) de 2000/mm³ al menos y un recuento de plaquetas de 100.000 mm³ por lo menos, una creatinina sérica menor de 2,0 mg/dl, una bilirrubina total de menos de 2,0 mg% y una SGOT de 3 veces o menos el límite superior de la normal, tenían al menos 75% de cada glándula parótida en los campos de tratamiento que habían recibido una dosis mínima de 40 Gy, y no estaban tomando parte en ningún otro ensayo terapéutico de investigación.

Los pacientes fueron excluidos si tenían una lesión primaria de la glándula parótida, podían estar recibiendo radioterapia hiperfraccionada o acelerada, tenían una historia de malignidades anteriores dentro de los últimos 5 años distintas de cánceres de piel no melanomatosos que hubieran sido controlados o carcinoma *in situ* de la cervix, estuvieran recibiendo quimioterapia concurrente (los pacientes podían haber recibido quimioterapia para tratar este cáncer de cabeza y cuello más de tres semanas antes del alistamiento), estaban concurrentemente usando pilocarpina, habían sido tratados con cualesquiera fármacos en investigación más de 4 semanas antes de entrar en el estudio, tenían estados generales o psicológicos que pudieran impedir que el paciente completara el estudio, o eran mujeres con niños que llevaban un potencial de no usar un método eficaz de control de la natalidad.

Los pacientes recibieron amifostina en forma de dos inyecciones subcutáneas de 250 mg (1,25 ml cada una) en dos posiciones sobre la pared abdominal 60 minutos ($\pm$ 15 minutos) antes de la terapia de radiación (1,8-2,0 Gy/día para 25-35 fracciones). Los pacientes fueron hidratados con 250 cc de fluido por vía oral 30 minutos antes de la amifostina para asegurar que no se habían deshidratado o tenían un volumen vascular disminuido. Los pacientes se mantuvieron en posición supina durante la administración de amifostina y durante 10 minutos después de la administración de amifostina. Se obtuvieron lecturas de la presión sanguínea y del pulso antes de la administración subcutánea y se repitió 10 minutos después de la administración. Estaba disponible IV para tratar la hipotensión caso de ocurrir. Los pacientes recibieron cuidados de apoyo totales incluyendo antieméticos, antibióticos, transfusiones de sangre y productos sanguíneos, y semejantes, cuando eran necesarios. No se administraron antieméticos profilácticos. Si los pacientes experimentaban náuseas o vómitos se les administraba o bien proclorperazina, 10 mg PO, 30 minutos antes de la terapia, repitiendo cada 4 a 6 horas después de la terapia. si era necesario u ondansetrón, 8 mg PO, 30 minutos antes de la terapia, repitiendo cada 4 horas después de la terapia, según se necesitara.

Se proporcionó terapia de radiación con aceleradores lineales con apropiada multiplicación de fotones y electrones hacia los nódulos, o Cobalto 60. La energía fotónica apropiada se basó en optimizar la distribución de la dosis de la terapia de radiación dentro del volumen objetivo y en minimizar las dosis para el tejido normal. Los pacientes fueron movilizados de modo reproducible y se usaron marcados radio-opacos para delimitar la extensión de la enfermedad nodal y, cuando era posible, el tumor primario. Todos los campos fueron tratados una vez al día a 1,8-2,0 Gy por fracción, cinco días por semana, hasta una dosis total de:

Pacientes de riesgo bajo después de la operación: 50-60 Gy (primarios con márgenes tumorales negativos, nódulo negativo, nódulo positivo sin extensión extra capsular);

Pacientes de alto riesgo después de la operación: 60-66 Gy (márgenes tumorales positivos, N2, N3; alguna extensión extra capsular en el cuello); y

Pacientes de radiación definitivos: 66-70 Gy. Se usaron electrones para estimular las regiones nodales de la parte posterior del cuello cuando estaba indicado tratamiento adicional de estas regiones. Los campos fueron reducidos para excluir la médula espinal a 40-45 Gy en el plano medio. Sin embargo, la totalidad del cuello fue irradiada a una dosis mínima de 46 Gy (incluso en la etapa N₀) en niveles anatómicos de extensión de los nódulos linfáticos habitualmente 2-4 cm por debajo de la superficie de la piel. Los nódulos del cuello positivos recibieron una dosis mínima de 60 Gy en 30-35 fracciones en 6-7 semanas. Para suplementar la dosis para la parte posterior del cuello y los nódulos clínicamente positivos, las técnicas de estimulación incluían un rayo electrónico adicional ($\geq$ 6 MeV) a la parte posterior del cuello, par de cuña o campos oblicuos. Inicialmente, los nódulos de la parte posterior del cuello, clínicamente negativos, recibieron una dosis mínima de 44-46 Gy en una profundidad de 3 cm.

Resultados

La xerostomía fue clasificada en cada sujeto según los criterios de RTOG. 55 pacientes fueron alistados, con 54 evaluables para la xerostomía. Los resultados se exponen en la Tabla 15, junto con resultados similares procedentes de un ensayo de fase III en el que se administró 200 mg/m² de amifostina en forma de una infusión IV de 3 minutos 15 a 20 minutos antes de la terapia de radiación (TR) (1,8-2, Gy/día, 54-70 Gy en total)(Brizel, J. Clin. Oncol. 18:3339-3345, 2000).

TABLA 15

	Amifostina s.c.	Amifostina IV + TR	TR	Valor p
N	54	148	153	
Xerostomía aguda ≥ Grado 2				
Incidencia				
Todos los pacientes	56%	51%	78%	<0,0001
Los pacientes que recibieron TR ≥ 60 Gy	49%	51%	78%	<0,0001
Tiempo medio hasta el comienzo	40 días	45 días	30 días	0,0001
Dosis de TR acumulativa media hasta el comienzo	50 Gy	60 Gy	42 Gy	0,0001

Se observó xerostomía aguda, es decir, ≥grado 2 en la escala RTOG, en pacientes a los que se había administrado amifostina por vía subcutánea, en un grado comparable al de aquellos a quienes se había administrado amifostina por vía IV. Sin embargo, no hubo indicaciones de hipotensión de Grado 3 ni náuseas/vómitos de Grado 3 después de la administración de amifostina s.c. (3% y 7%, respectivamente, con IV). Toxicidad cutánea generalizada de Grado 3 ocurrió en 13% de los pacientes (3% con IV). Los resultados de este estudio demuestran que la amifostina subcutánea (s.c.), al igual que la amifostina IV protege contra la xerostomía inducida por las radiaciones, pero reduce o evita efectos secundarios que se sabe que ocurren con la amifostina administrada por vía IV. Los resultados obtenidos muestran que la amifostina s.c. proporciona efectos protectores comparables contra la xerostomía inducida por las radiaciones y que reduce los efectos secundarios afines a la amifostina, de náuseas, vómitos e hipotensión, en pacientes aquejados de cáncer de cabeza y cuello.

Ejemplo

Exposición ampliada de radioprotección mucosal por amifostina intravenosa o subcutánea, en la rata

Diseño experimental

Se usó un modelo de TR en la rata para examinar los efectos protectores de la amifostina después de administración intravenosa (IV) así como subcutánea (SC.), e investigar la extensión del período de tiempo entre la administración de amifostina y la TR. En estos experimentos, las ratas recibieron 200 mg/kg (1200 mg/m²) de amifostina por vía IV o SC, y sus regiones de cabeza y cuello fueron expuestas a 15,3 Gy de irradiación gamma en momentos diversos después de la administración de amifostina. Durante 10 días después del tratamiento, las ratas fueron pesadas y se examinaron las cavidades orales de las ratas para observar señales de mucositis. El eritema mucosal y el edema mucosal fueron calificados según escalas de 0-5 y 0-2, respectivamente, sumándose las puntuaciones obtenidas para indicar la mucositis global.

Resultados

Los resultados obtenidos para la amifostina IV después de 10 días. están resumidos en la Tabla 16.

Grupo	Intervalo de pretratamiento (hr.)	Eritema	Edema	Mucositis global
TR	NA*	2,0	1,4	3,4
TR+ amifostina	0,5	0	0	0
TR+ amifostina	2	0	0	0
TR+ amifostina	4	0	0	0
TR+ amifostina	8	2,8	1,2	4,0

* (NA = no aplicable).

A 200 mg/kg (1200 mg/m²) la administración de amifostina SC proporcionó una radioprotección comparable a la de la administración IV hasta 4 horas antes de la terapia de radiación.

REIVINDICACIONES

1. El uso de una cantidad eficaz de un compuesto que tiene la fórmula:



o una de sus sales o hidratos farmacéuticamente aceptables, en la que:

R_1 es hidrógeno, arilo de C_6-C_7 , acilo de C_2-C_7 ó alquilo de C_1-C_7 ;

R_2 es hidrógeno o PO_3H_2 ;

n es un número entero desde 2 a 6; y

m es un número entero desde 2 a 6,

para fabricar un medicamento para proteger contra la incidencia de xerostomía o mucositis o reducir la incidencia de las mismas, en un paciente que recibe terapia de radiación, en el que el medicamento es administrado al paciente por vía subcutánea aproximadamente 3 horas antes de la exposición a la terapia de radiación.

2. El uso según la reivindicación 1, en el que la xerostomía es xerostomía aguda o xerostomía tardía.

3. El uso según la reivindicación 1, en el que la mucositis es mucositis aguda o mucositis tardía.

4. El uso según la reivindicación 1, en el que el paciente es un mamífero, preferiblemente un ser humano.

5. El uso según la reivindicación 1, en el que el paciente es un paciente canceroso, preferiblemente con cáncer de la cabeza y/o cuello.

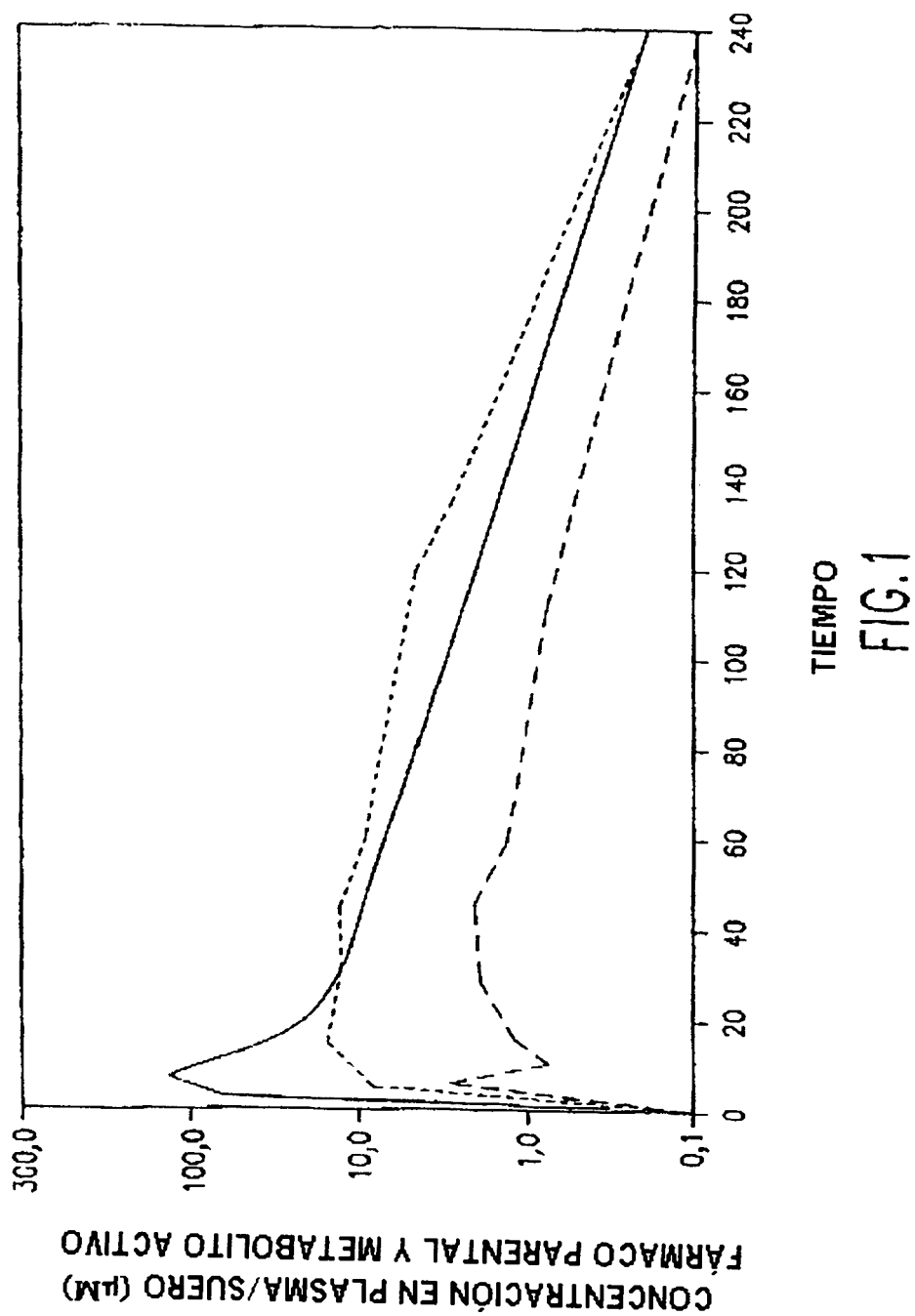
6. El uso según la reivindicación 5, en el que la terapia de radiación se administra una vez al día en una dosis de aproximadamente 1,8 a 2,0 Gy por fracción, para una dosis total de 50 a 70 Gy.

7. El uso según la reivindicación 1 ó la reivindicación 5, en el que el compuesto es la amifostina o dihidrogenofosforotioato de S-3-(3-metilaminopropilamino)propilo.

8. El uso según la reivindicación 1 ó la reivindicación 7, en el que la cantidad administrada es, al menos, 500 mg, aproximadamente, de preferencia, al menos, 500 mg a 1500 mg, aproximadamente.

9. El uso según la reivindicación 1, la reivindicación 7 ó la reivindicación 8, en el que el compuesto es administrado en forma de dos inyecciones subcutáneas separadas.

10. El uso según la reivindicación 1 ó la reivindicación 9, en el que el medicamento es administrado en la forma de una composición farmacéutica que comprende el compuesto y un diluyente farmacéuticamente aceptable, preferiblemente solución salina normal.



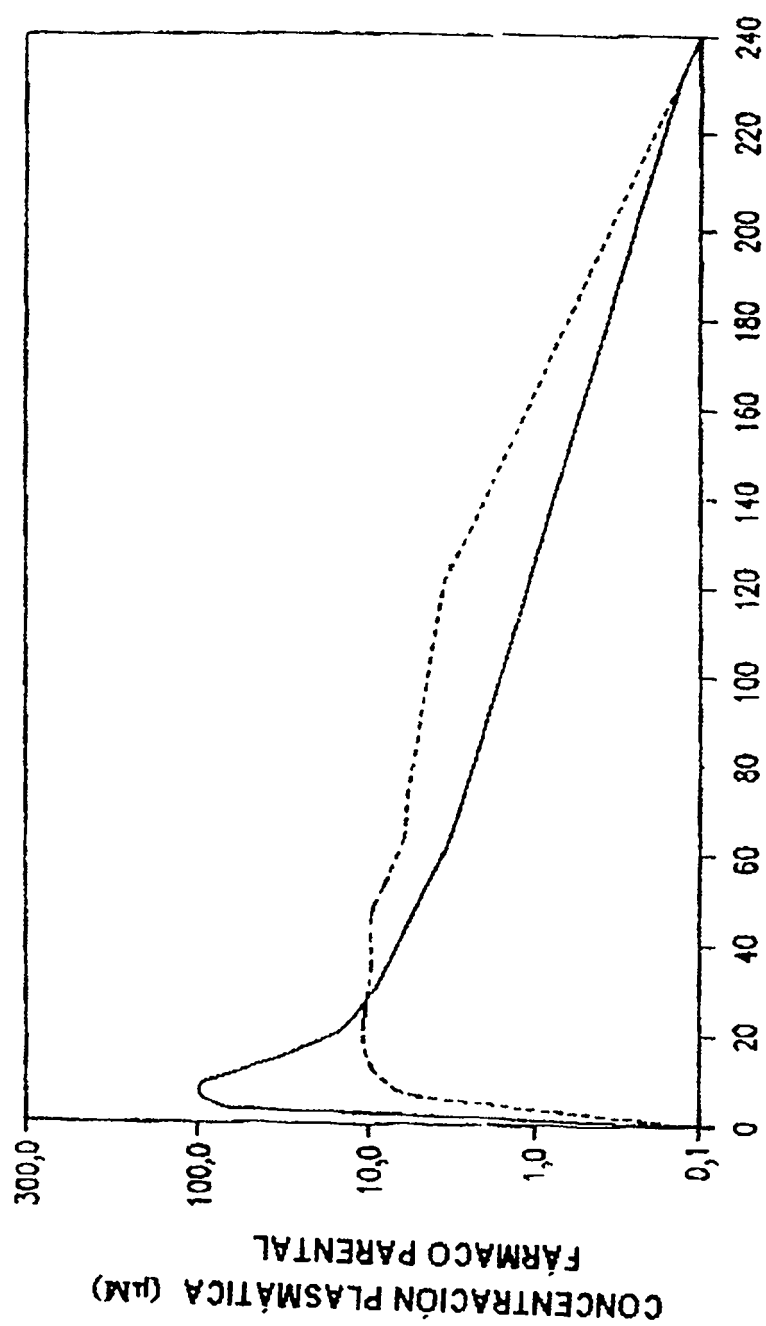


FIG.2

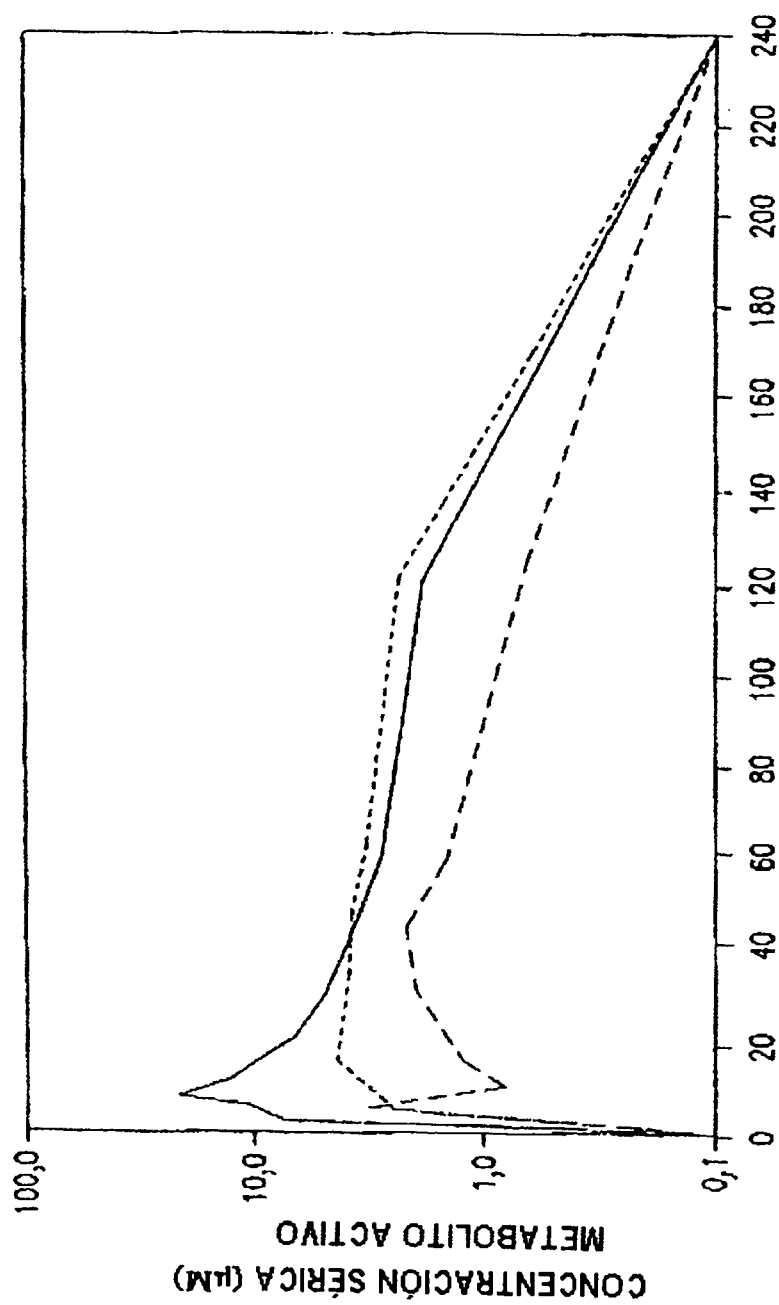


FIG.3

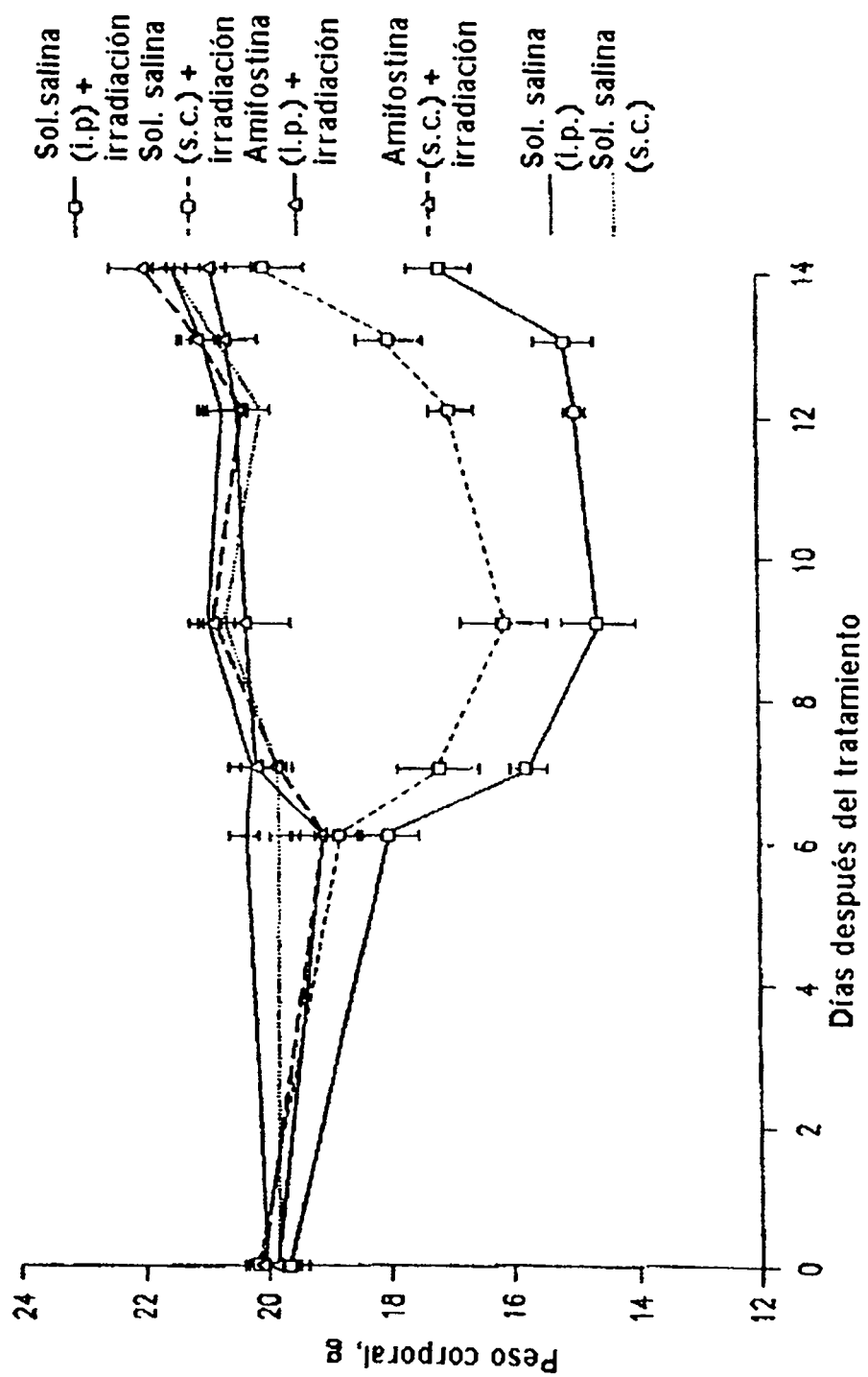


FIG.4A

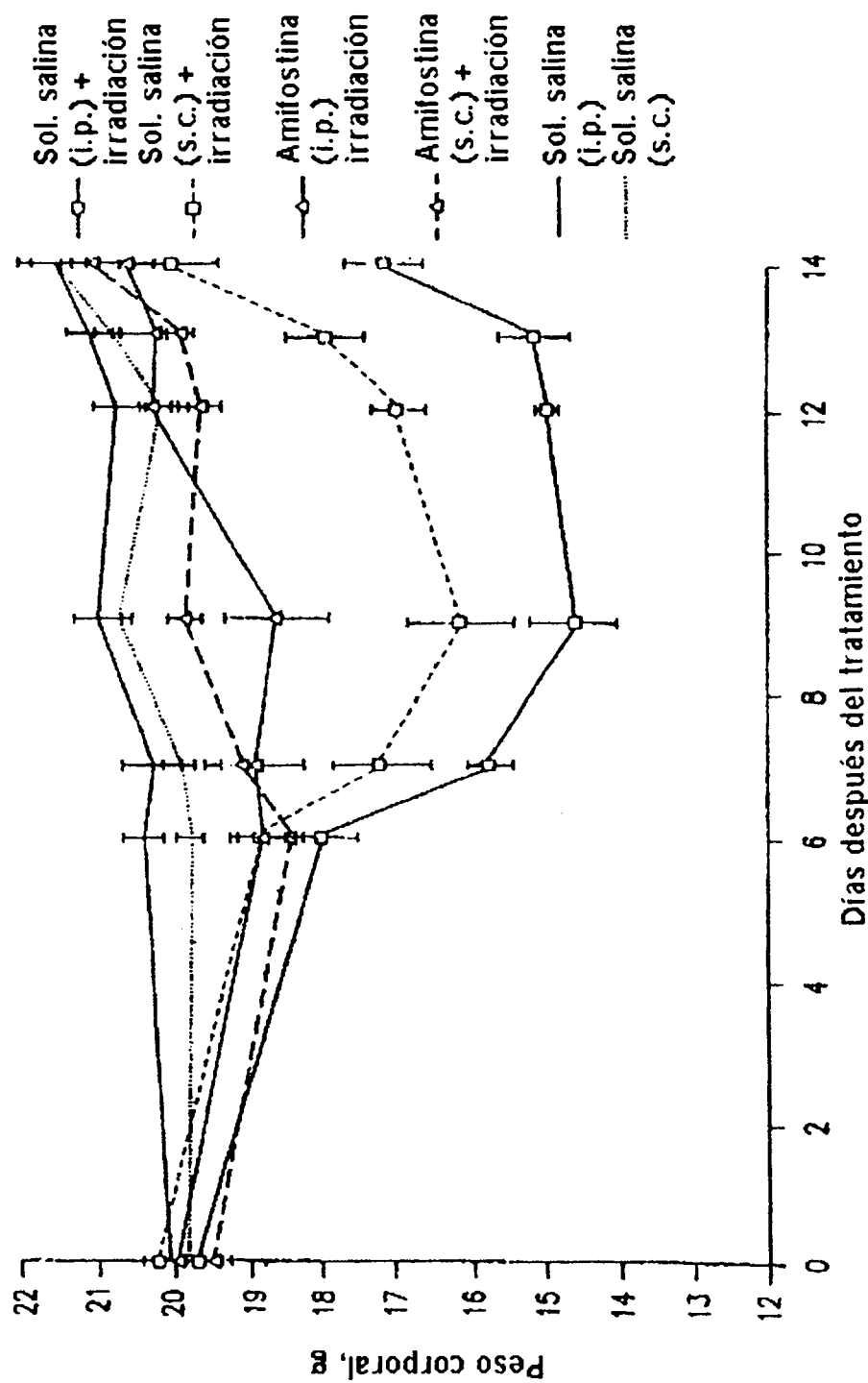


FIG.4B

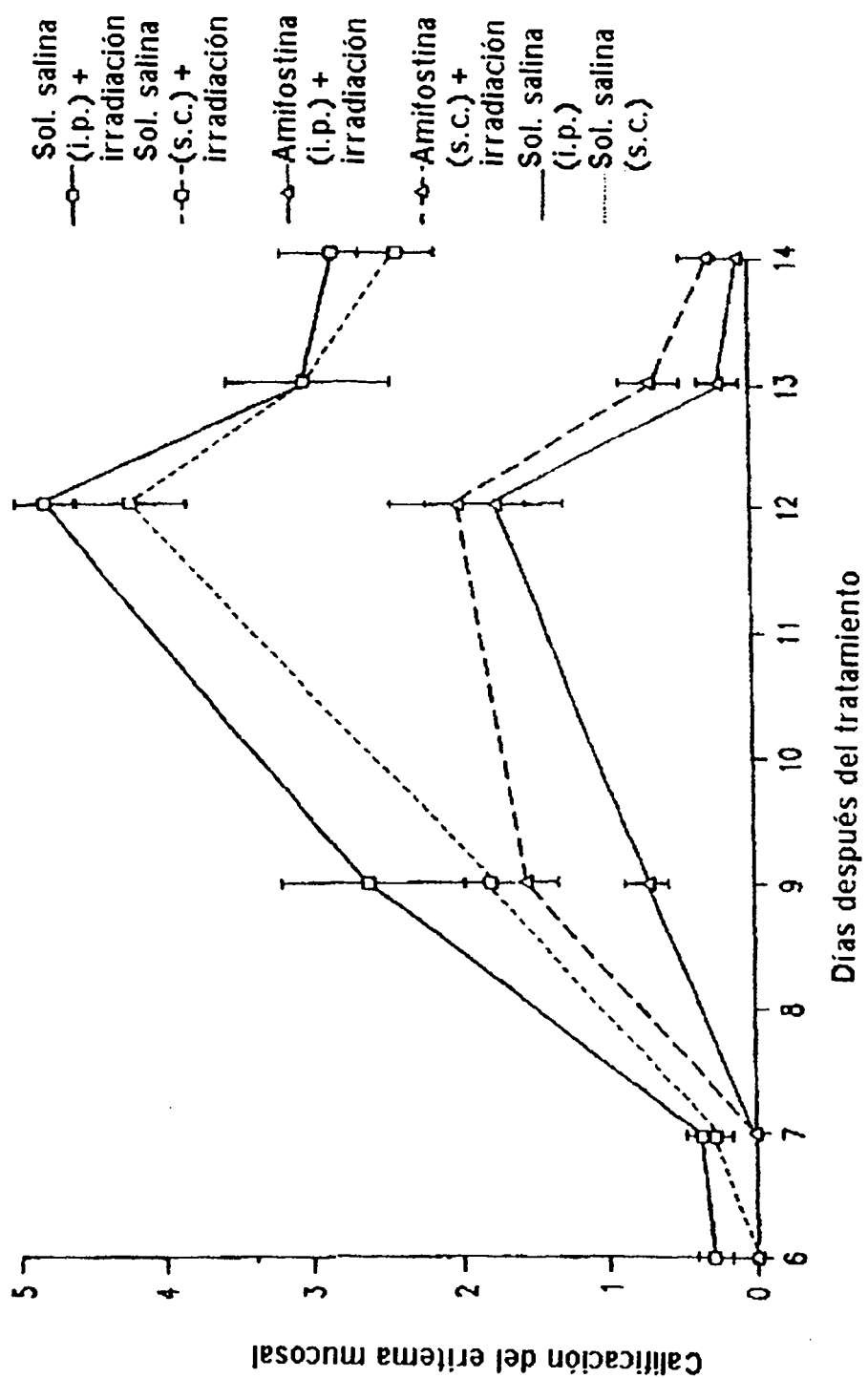


FIG.5A

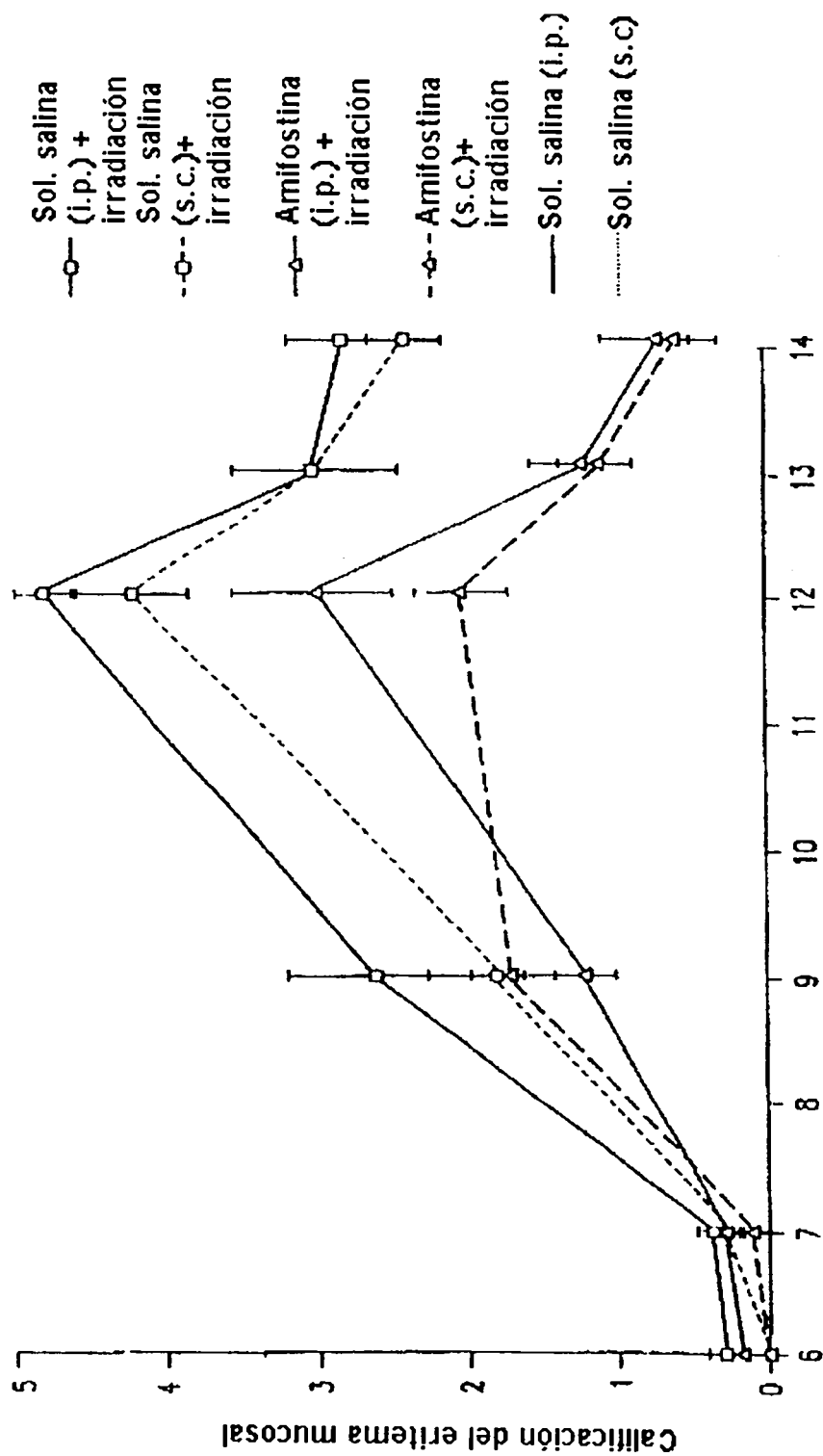


FIG.5B

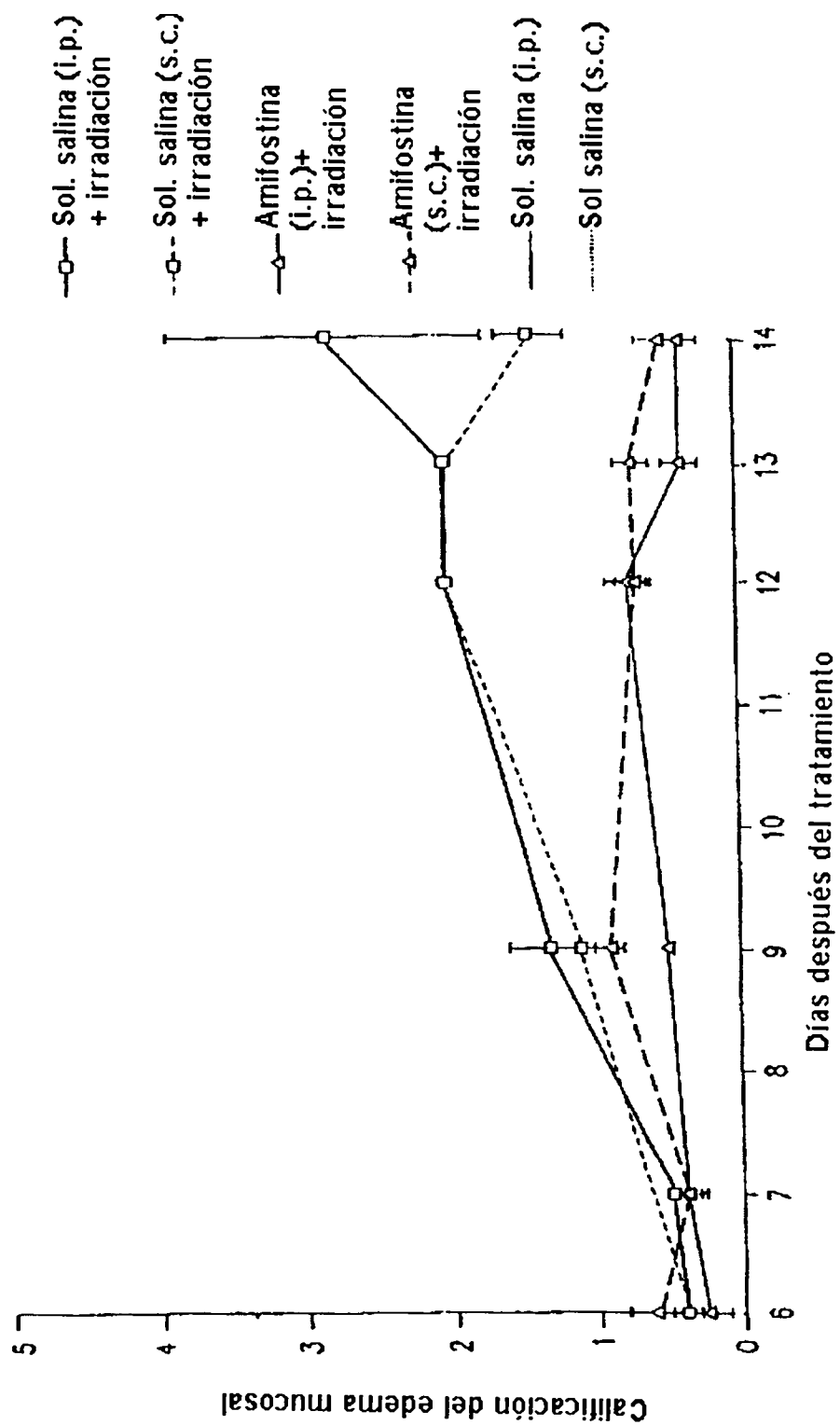
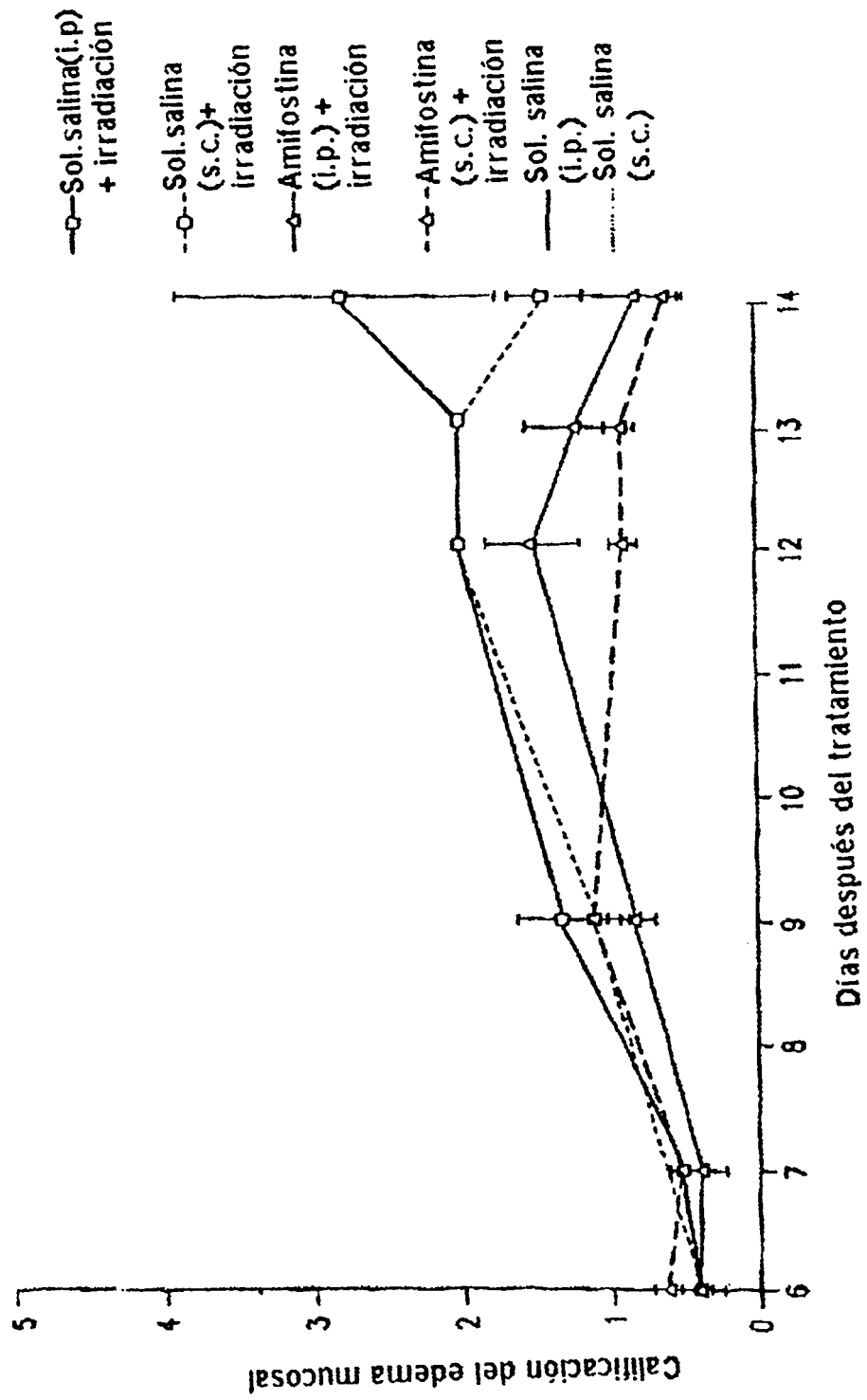


FIG.6A



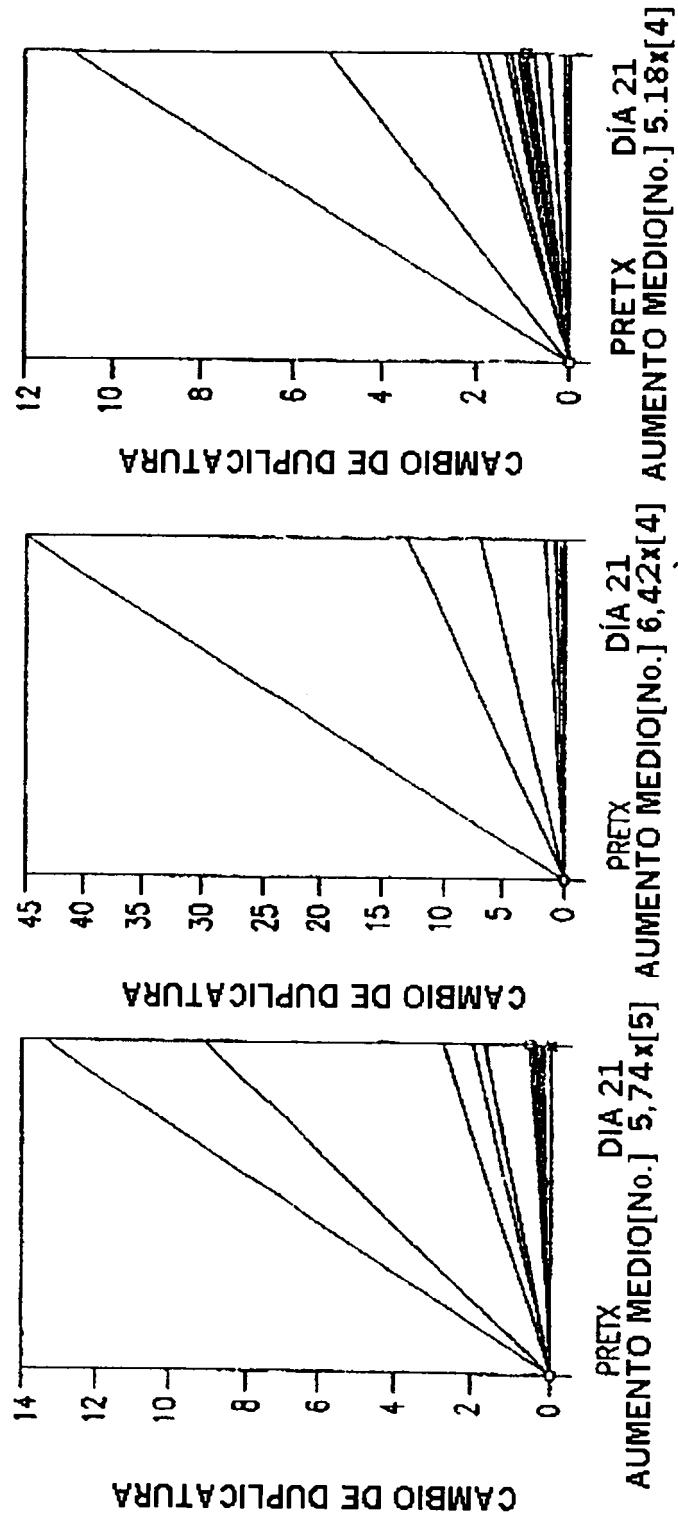


FIG. 7A

FIG. 7B

FIG. 7C