

INFORME DE EXPERTO
SOBRE EL
PRODUCTO EN INVESTIGACIÓN
IQB-9302

Emitido por el Dr. Alberto Giráldez Dávila
Farmacólogo

INTRODUCCION

Los recientes avances de la microcirugía y de la cirugía mínimamente invasiva, así como la tendencia por parte de profesionales y pacientes a evitar el dolor, siempre que sea posible, están impulsando la utilización cada vez mayor de anestésicos locales. Operaciones como prostatectomías o laparoscopias que antes se hacían bajo anestesia general, u otras situaciones como el parto, ortodoncias, reducción de fracturas, etc., que se hacían sin ningún tipo de anestesia son hoy día objeto sistemático del empleo de anestésicos locales.

Curiosamente, este notable incremento en el consumo de anestésicos locales no ha ido acompañado por un aumento paralelo en la I+D de nuevos fármacos de tal aplicación. De los muchos cientos de moléculas descritas en la literatura con actividad anestésica local, escasamente una decena son utilizadas regularmente en situaciones clínicas.

Cierto es que los anestésicos locales utilizados hoy en día son fármacos muy eficaces y seguros que raramente ocasionan problemas serios. Sin embargo, no es menos cierto que muchos de ellos no están exentos de riesgo en caso de una administración equivocada, habiéndose descrito problemas a nivel del sistema nervioso central y cardiovascular en ocasiones de sobredosis o de inyecciones intravenosas. También ocurre que, en casos de operaciones de larga duración, es necesaria la adición de un vasoconstrictor para evitar que el anestésico local pase a la circulación sistémica, vasoconstrictor que puede ocasionar efectos secundarios en pacientes con problemas cardiovasculares. En algunos casos se han descrito reacciones anafilácticas a anestésicos locales o a alguna de las sustancias adicionadas para conseguir la vasoconstricción local.

No es, por tanto, de extrañar que hace unos pocos años, los Laboratorios INIBSA, líderes en España en la comercialización de anestésicos locales, encargaran al INSTITUTO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO QUIMICO-BIOLOGICO, SA (IQB) un programa destinado a diseñar nuevos anestésicos locales. El objeto de este programa era doble:

- 1º De un lado, intentar obtener una nueva molécula que mejorase en algo el perfil farmacológico de los anestésicos locales disponibles, en particular en lo que se refiere a la toxicidad cardíaca.
- 2º Reducir la dependencia tecnológica de los Laboratorios INIBSA, todos cuyos anestésicos locales son fabricados en España bajo licencia de la multinacional sueca ASTRA.

En el programa diseñado por IQB, se decidió explorar la inclusión de uno o varios radicales ciclopropilo en los anestésicos locales de tipo amida por varias razones:

1. a) Este tipo de radical cicloalquilo de pequeño peso molecular no había sido previamente explorado.
2. b) Las propiedades físico-químicas de este radical son muy semejantes a las de sus homólogos alquilo lineales, lo que permitía prever *a priori* que no

habría modificaciones importantes en los coeficientes de reparto y constantes de ionización de las moléculas resultantes (es bien sabido que el coeficiente de reparto y la constante de disociación son dos parámetros decisivos en la acción de los anestésicos locales, que deben difundir en medios acuosos, atravesar las cubiertas hidrófobas de los nervios y una vez dentro, volver a ionizarse para actuar sobre los canales de sodio).

- 3.c) Desde el punto de vista estructural, el grupo cicloalquilo presenta unas mayores restricciones conformacionales que sus homólogos lineales. Esto puede ocasionar que su afinidad hacia los receptores de los canales de sodio pueda ser mayor o menor que la de sus homólogos lineales con superior grado de libertad, lo que puede traducirse farmacológicamente en una mayor afinidad hacia un receptor de un canal sódico determinado. Algo parecido ha sido descrito en la literatura para el enantiómero R de la ropivacaína que muestra una mayor afinidad hacia los receptores de los canales sódicos en los nervios sensoriales que hacia los mismos receptores en los nervios motores.

Entre las varias moléculas sintetizadas y ensayadas por IQB, la denominada IQB-9302 (en forma de su correspondiente clorhidrato) está siendo objeto de un amplio programa de I+D con objeto de evaluar su potencial en la práctica médica.

INFORME DE EXPERTO SOBRE LA DOCUMENTACION QUIMICA APORTADA

La revisión efectuada se ha centrado sobre los siguientes documentos:

- Propiedades físico-químicas del IQB-9302.
- *Drug Master File*.
- Solicitud de la Patente en España, CEE y otros países.

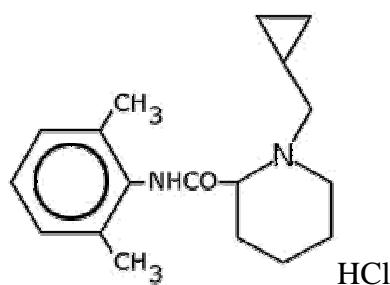
La molécula de IQB-9302 muestra (tanto en su forma de clorhidrato como de base) un notable parecido con la ropivacaína y la bupivacaína. En particular, en relación con esta última, sólo difiere en 2 átomos de hidrógeno y en el hecho de que el clorhidrato no forma un hidrato.

Esta semejanza química confieren al IQB-9302 unas propiedades físico-químicas parecidas y que se relacionan en la siguiente tabla:

Propiedad	Bupivacaína	IQB-9302
Fórmula empírica	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O.HCl	C ₁₈ H ₂₆ N ₂ O.HCl
Punto de fusión	107-108° (base) 255-256° (HCl)	121-122° (base) 263°C (HCl)
pKa	8.09	7.99
Coeficiente de reparto (n-heptano/pH 7.4)	27.5	86
λ max en HCl	271 nm	262. nm
Solubilidad en H₂O	40 mg/ml	88 mg/ml (?)
Solubilidad en disolventes orgánicos (Clorhidrato)	insoluble	insoluble

Identificación de la estructura.

El IQB-9302 ha sido caracterizado por el Instituto de Investigación y Desarrollo Químico-Biológico, SA empleando las técnicas de espectroscopía infrarroja y resonancia magnética nuclear de protones. LEBSA, el fabricante de la materia prima a escala industrial, ha confirmado esta estructura empleando, además de las técnicas anteriores, la resonancia magnética nuclear con C-13 y la espectrometría de masas. Tanto las bandas de absorción del IR, como las bandas de los protones de la RNM y los picos iónicos de la fragmentación de masas confirman la estructura propuesta para el IQB-9302. El microanálisis da unos valores experimentales que coinciden con los valores teóricos



Determinación del grado de pureza

Para garantizar el grado de pureza y la riqueza del IQB-9302, la ausencia de impurezas de síntesis, productos de degradación, disolventes de recristalización, etc..., se utiliza toda una batería de *tests*; éstos, que han sido puestos a punto por IQB, LEBSA y el Departamento de Farmacia Galénica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, son los siguientes:

- Color y limpidez de la solución (LEBSA)
- TLC (IQB, LEBSA, F.Galénica)
- HPLC (IQB, LEBSA, F.Galénica)
- Análisis termogravimétrico (F. Galénica)
- DSC (F. Galénica)
- Cromatografía de gases (LEBSA)
- Pérdida por desecación, humedad (LEBSA, F. Galénica)
- Metales pesados (LEBSA, F. Galénica)
- Potenciometría (LEBSA)
- Determinación de impurezas de síntesis (LEBSA)
- Cenizas sulfúricas, cloruros, etc... (LEBSA, F. Galénica)

Se estima que estos ensayos son suficientes para garantizar la calidad de la materia prima a emplear. El método potenciométrico ha sido validado por LEBSA habiéndose confirmado su linealidad, reproducibilidad y robustez. De igual forma, el método HPLC ha sido validado por LEBSA, mientras que el departamento de Farmacia Galénica ha validado un método HPLC que implica el empleo de bupivacaína como estándar interno.

Estabilidad de la materia prima

Las pruebas realizadas por LEBSA sometiendo el IQB-9302.HCl a una serie de condiciones extremas, tanto en estado sólido como en solución, demuestran que este producto, al igual que la bupivacaína, es sumamente estable. Solo se observa una degradación apreciable a temperaturas próximas al punto de fusión, a más de 250°C.

El análisis de varias muestras sintetizadas por IQB en 1994 permite adelantar que la fecha de caducidad del IQB-9302.HCl será próxima a los 5 años. Sin embargo, dado que estas muestras no fueron inicialmente valoradas mediante un método analítico validado, estos datos sólo se toman como orientativos. LEBSA ha fabricado tres lotes de materia prima (que serán empleados para la fabricación de los lotes experimentales para los estudios clínicos), habiendo reservado parte de los mismos para la determinación de su caducidad en tiempo real.

DRUG MASTER FILE

LEBSA ha preparado el *Drug Master File* del IQB-9302.HCl, se estima que dicho documento reúne todos los datos necesarios para asegurar a los laboratorios INIBSA una calidad garantizada de la materia prima.

La uniformidad entre lotes producidos por LEBSA ha sido examinada por el Departamento de Farmacia Galénica de la Universidad de Madrid, sometiendo e lotes de IQB-9302 a la siguiente serie de análisis:

- termogravimétricos
- DSC
- Difracción de Rayos X
- Espectroscopia UV
- Espectroscopia IR
- Espectroscopía RNM

Todos estos análisis han revelado que no hay diferencias significativas entre los lotes y que la pureza obtenida por los DSCs es siempre superior al 99%.

PATENTES

El IQB-9302, su clorhidrato y su utilización como anestésico local han sido objeto de una patente Española inicial (4 de Noviembre 1993, Nº 9.302.303). Su concesión fue publicada en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial el 16 de Marzo de 1996, mientras que su puesta en práctica industrial fue objeto de inspección en Octubre 1998.

La patente del IQB-9302 ha sido extendida a los principales países del mundo, incluyendo la CEE, EE.UU. y Japón. La patente ha sido ya concedida en EE.UU., Federación Rusa, Corea, Australia y Japón y está a punto de ser concedida en la UE una vez que finalicen los trámites correspondientes en la Oficina de Patentes Europea.

INFORME DE EXPERTO SOBRE LA DOCUMENTACION GALENICA APORTEADA

Formulaciones galénicas empleadas en la experimentación animal

La revisión de los informes farmacológicos y toxicológicos ha mostrado que las formulaciones galénicas empleadas en los diversos estudios han consistido simplemente en soluciones del HCl en suero salino (entre el 0.75% y el 0.9%). Una excepción a esta regla es la constituida por los enantiómeros del IQB-9302 que, al ser preparados en forma de base, fueron solubilizados en HCl 0.1 N.

Estas formulaciones galénicas son coincidentes con las existentes comercialmente para la bupivacaína.

Dos estudios realizados con las formulaciones antes descritas han demostrado su compatibilidad para ser administradas por vía intravenosa a los animales de experimentación:

- se ha comprobado que su osmolalidad se encuentra dentro del rango del suero animal y humano normal (estudio previo a la toxicidad aguda y subaguda en perro, realizado por TPS - EE.UU.)
- se ha comprobado su compatibilidad con la sangre y la ausencia de hemólisis, dentro del rango de concentraciones de IQB-9302 (adicionado de NaCl) empleadas en los estudios animales y humanos

Formulaciones galénicas para uso humano

Sobre la base de los datos obtenidos a partir de las formulaciones en animales, se han diseñado varias preparaciones que se serán utilizadas en el hombre. Estas son:

0.10% IQB-9302.HCl en 0.9% salino
0.25% IQB-9302.HCl en 0.8% salino
0.50% IQB-9302.HCl en 0.8% salino
0.75% IQB-9302.HCl en 0.75% salino
1.00% IQB-9302.HCl en 0.75% salino

Un estudio de CIDA, confirma la compatibilidad y la ausencia de hemólisis de estas formulaciones con la sangre humana. Hay que señalar que las preparadas al 0.25%, 0.50% y 0.75% son totalmente coincidentes con las equivalentes de bupivacaína.HCl presentes en el mercado.

Tres pequeños lotes experimentales de cada una de las concentraciones de IQB-9302.HCl anteriormente señaladas han sido preparados por el Departamento de Farmacia Galénica de la Universidad Complutense de Madrid con los siguientes objetivos:

- Puesta a punto de un método HPLC para valorar el principio activo.

- Preparación de la monografía: IQB-9302.HCl inyección.
- Estudio de estabilidad acelerada con objeto de asignar una fecha de caducidad a los lotes experimentales que se utilizarán en los estudios clínicos.

Los resultados de estos estudios han conducido a un método validado de determinación de IQB-9302 en soluciones inyectables y a la asignación de una caducidad de 6 meses a los primeros lotes experimentales. Esta caducidad podrá ser revisada al alza en función de los resultados que se vayan obteniendo en los *tests* de estabilidad acelerada y en los análisis que los Laboratorios INIBSA, como fabricante de los lotes experimentales, vayan practicando en ejemplares mantenidos en la muestroteca.

El método de producción de los lotes experimentales de IQB-9302.HCl, bupivacaína.HCl y placebo (suero salino al 0.9%) es totalmente coincidente con el método rutinario de producción de inyectables en los laboratorios INIBSA, utilizando su zona estéril y blanca, SOPs de producción y control, etc.

El método de preparación de las ampollas de IQB-9302.HCl, bupivacaína y placebo a escala piloto se muestra, de forma resumida, en el diagrama de flujo del anexo.

El Departamento de Farmacia Galénica de la Universidad Complutense de Madrid ha preparado una monografía sobre el IQB-9302.HCl para inyección. El método analítico desarrollado y validado para el IQB-9302.HCl inyección, por el Departamento de Farmacia Galénica de la Universidad Complutense de Madrid, es muy parecido al descrito para la bupivacaína en la Farmacopea Europea y USP XXIII. La cuantificación del fármaco se lleva a cabo por HPLC utilizando como estándar interno la bupivacaína. Este método se juzga que es suficiente para garantizar la calidad de los lotes experimentales a fabricar por Laboratorios INIBSA para los estudios clínicos.

INFORME DE EXPERTO SOBRE LA DOCUMENTACION FARMACOLOGICA APORTEADA

Hasta el momento, se disponen de datos farmacológicos relativos a la eficacia anestésica del IQB-9302 en comparación con la mepivacaína y la bupivacaína.

Los primeros estudios realizados por IQB con el producto (véase "Screening") se realizaron en comparación con la mepivacaína utilizando los tres modelos farmacológicos estándar:

- infiltración intradérmica en la cobaya
- anestesia superficial en el ojo del conejo
- preparación ciático-gastrocnemio en rata anestesiada.

obteniéndose los siguientes resultados:

<i>TIEMPO DE ANESTESIA</i>				
Sustancia	Conc.	Reflejo cutáneo	Sensibilidad ocular	Tronco nervioso
Mepivacaína	1% 0,1%	<60 min.	20 min.	.
IQB-9302	1% 0,5% 0,1%	>>60 min. >>60 min.	>50 min.	<2 h >>2 h

La toma de la mepivacaína (anestésico local de corta duración) como patrón de comparación fué una elección inicial, siendo posteriormente sustituida al comprobarse que el IQB-9302 le superaba ampliamente en duración del tiempo de anestesia. Por tanto, estas experiencias se consideraron como punto de partida para una investigación más profunda.

Cuando un potencial fármaco presenta un centro de asimetría y, por tanto, son posibles dos estereoisómeros, las autoridades reguladoras exigen aislar cada uno de dichos estereoisómeros y comparar su actividad farmacológica y toxicidad. En particular, en la familia de amidas anestésicas locales, se ha descrito una menor cardiotoxicidad para el isomero L y una de ellas, la ropivacaína, ha sido desarrollada y comercializada exclusivamente en esta forma.

Por este motivo, cuando los Laboratorios INIBSA decidieron estudiar la viabilidad del proyecto de I+D, los primeros estudios que se realizaron con el IQB-9302 fueron comparar las actividades anestésicas locales y tóxicas de los enantiómeros del IQB-9302 con el producto racémico. Esta vez, como fármaco de referencia, se eligió la bupivacaína.

En esta fase del proyecto, INIBSA llevó a cabo 5 estudios:

- Actividad anestésica por infiltración intradérmica en la cobaya.
- Actividad anestésica superficial en el ojo de la cobaya.
- Preparación ciático-gastrocnemio en rata anestesiada.
- DL50 por vía intravenosa en la rata.
- Efectos sobre los potenciales de acción en fibras cardíacas (que se tomaron como los posibles efectos cardiotóxicos del fármaco)

Los resultados de los 3 estudios de anestesia mostraron que el IQB-9302 es un potente anestésico local comparable a la bupivacaína o incluso superior ya que las áreas bajo la curva de la anestesia local por infiltración dérmica en la cobaya, obtenida tras la administración del IQB-9302 (solución 0.05%), tanto en su forma racémica como en las D- y L-, fueron mayores que la de la bupivacaína administrada en iguales condiciones y concentraciones

<u>Sustancia</u>	<u>AUC (% anestesia/minutos)</u>
Bupivacaína 0.05%	4382.3
IQB-9302 racémico 0.05%	6632.3
D-IQB-9302 0.05%	8244.8
L-IQB-9302 0.05%	6039.3

Asimismo, el efecto anestésico sobre el nervio ciático, en la rata, fue prácticamente total con ambas sustancias, pero con el IQB-9302 se alcanzó a los 10 min., mientras que con la bupivacaína lo fue entre los 20 y los 30 min., siendo de destacar que con este anestésico el nervio recobraba un 42,1% de su sensibilidad a los 180 min., mientras que tras la aplicación del IQB-9302 en el mismo lapso de tiempo sólo se recobraba un 4,5% de sensibilidad.

Si bien el IQB-9302 racémico y el L-IQB-9302 presentaban una potencia superior a la bupivacaína, las diferencias no eran estadísticamente significativas (sin duda debido a que el número de animales era escaso y a una intervariabilidad elevada entre los mismos). Pero esta tendencia de una mayor actividad anestésica fue observada en los 3 modelos farmacológicos realizados en dos centros diferentes.

Lo que se juzga como muy importante de esta primera fase de desarrollo, son los resultados de los estudios de "cardiotoxicidad", en los cuales se comprobaron dos hechos fundamentales, que fueron los responsables de que los laboratorios INIBSA decidieran seguir adelante con el desarrollo del IQB-9302 y precisamente de su forma racémica:

- El IQB-9302 racémico era menos activo sobre los potenciales de acción de las fibras cardíacas, que cada uno de los estereoisómeros por separado. Este fenómeno, que está siendo investigado en la actualidad, puede ser debido a un antagonismo competitivo entre los dos enantiómeros.
- El IQB-9302 racémico era significativamente (hasta un 60%) menos "cardiotóxico" que la bupivacaína.

Como consecuencia de lo expuesto anteriormente, la estrategia seguida por los

Como consecuencia de lo expuesto anteriormente, la estrategia seguida por los Laboratorios INIBSA ha sido el continuar adelante con el proyecto de desarrollo del IQB-9302, intentando llegar cuanto antes a la Fase Clínica I en la que se podrá determinar con exactitud si la tendencia a la mayor actividad del IQB-9302 observada en los estudios en animales se confirma.

Además de las pruebas sobre los efectos anestésicos locales antes descritas, pocos datos farmacológicos adicionales están hoy disponibles. Sin embargo, se ha podido comprobar que están en curso un amplio número de estudios que cubren toda la farmacología del IQB-9302 y que van desde estudios electrofisiológicos por la técnica del Patch-Clamp en canales de sodio clonados y en células cromafínes aisladas, hasta estudios sobre el bloqueo motor y sensorial en el perro por vía epidural.

Cuando estén terminados, los laboratorios INIBSA dispondrán de un amplio *dossier* farmacológico.

Algunos resultados preliminares de estos estudios ya disponibles confirman:

- que el IQB-9302 es un potente anestésico local, cuyo mecanismo de acción es el bloqueo de los canales de sodio.
- en vaso aislado, posee un perfil muy parecido al de la bupivacaína, si bien a altas concentraciones es ligeramente menos activo sobre el tono vascular basal.

INFORME DE EXPERTO SOBRE LA INFORMACION TOXICOLOGICA APORTADA

Existen informes sobre los siguientes estudios toxicológicos:

Tipo de Estudio	Especie animal/vía	Centro de Realización
DL50	ratón/s.c.	C.I.E.M.A.T (España)
DL50	rata/i.v.	CIDA (España)
Toxicidad aguda	perro/i.v.	TPS (EE.UU)
Toxicidad aguda	perro/s.c.	TPS (EE.UU)
Toxicidad subaguda. Estudio 1º (4 semanas)	rata/i.v	CIDA (España)
Toxicidad subaguda . Estudio 2º (4 + 2 semanas)	rata/i.v.	CIDA (España)
Toxicidad subaguda(4 + 1 semanas)	perro/i.v.	TPS (EE.UU)
Mutagénesis (Ames)	Salmonellas/S-9 mix	Huntingdon (U.K)

Todos estos centros trabajan de acuerdo con las GLPs estándar (Buenas Prácticas de Laboratorio) para este tipo de estudios.

Toxicidad aguda:

Las DL₅₀ del IQB-9302 han sido comparadas con las de la mepivacaína y bupivacaína en el ratón (s.c.), que resultaron ser DL₅₀ = 89, 269 y 75 mg/kg, respectivamente, por lo tanto, del mismo orden para el racémico y la bupivacaína. En la rata (i.v.) se compararon los L-, D- e IQB-9302 con la de la bupivacaína, resultando ser la DL₅₀ prácticamente la misma para las cuatro sustancias.

Ambos estudios muestran que el perfil toxicológico de dichas sustancias es muy parecido: las dosis más elevadas provocan ataxia, convulsiones y parada cardiorespiratoria. Cuando la vía de administración es la intravenosa, la muerte sobreviene en pocos minutos. Las dosis subletales provocan síntomas claros, también a los pocos minutos de la inyección, que desaparecen rápidamente.

Es interesante destacar que la DL₅₀ del IQB-9302 y la de la bupivacaina son exactamente superponibles por vía i.v

Producto	DL ₅₀ en machos	DL ₅₀ en hembras
Bupivacaina	5.2 [4.0 - 6.7]	4.8 [3.9 - 5.9]
IQB-9302 racémico	5.4 [4.2 - 6.9]	4.8 [4.1 - 5.7]
D-IQB-9302	5.2 [4.5 - 6.0]	4.7 [4.2 - 5.4]
L-IQB-9302	5.2 [4.1 - 6.5]	4.4 [3.6 - 5.3]

También se han llevado a cabo dos estudios de toxicidad aguda en el perro por vía

También se han llevado a cabo dos estudios de toxicidad aguda en el perro por vía intravenosa y por vía subcutánea.

Administración subcutánea: Se administraron dosis crecientes de 2.5 a 40.0 mg/kg (disueltas de tal forma que el volumen a inyectar fuera siempre de 5 ml/kg) a sendos perros beagle, a intervalos de 2 días en 5 ocasiones. Para evitar posibles necrosis por el elevado volumen a inyectar, las inyecciones fueron distribuidas de forma que en ningún punto se inyectaron más de 10 ml.

No se observaron síntomas clínicos hasta las dosis de 40 mg/kg que ocasionaron la muerte de ambos perros una hora después de la inyección. Sin embargo hasta el momento de producirse ésta, no se apreciaron síntomas de toxicidad. Las dosis inmediatamente inferiores (20 mg/kg) fueron, igualmente, asintomáticas.

La autopsia de los animales mostró una serie de anomalías (espuma blanca rojiza en el estómago y de color rojizo en la boca, zonas oscuras en el bazo y en los lóbulos pulmonares y presencia de un material gelatinosa en los sitios de la inyección) que fueron atribuidas a hemorragias, edema e infiltración de leucocitos.

En resumen, por vía subcutánea el IQB-9302 no mostró ningún síntoma de toxicidad local o sistémica incluso a la dosis de 20 mg/kg. Por lo tanto, a dosis letal por esta vía es inferior a los 40 mg/kg pero superior a los 20 mg/kg.

Administración intravenosa: Un perro macho y una perra recibieron por vía intravenosa 1.25, 2.5, 4.0, 5.0, y 6.0 mg/kg de IQB-9302 disueltos en suero salino de tal forma que el volumen fue siempre constante, de 5 ml/kg de peso, a una velocidad de 3 ml/minuto. Las dosis fueron administradas a intervalos de 24 horas hasta alcanzarse la máxima dosis tolerada.

Las dosis de 1.25 y 2.50 mg/kg fueron totalmente asintomáticas. Con las dosis de 4 y 5 mg/kg se observó ataxia, salivación y emesis. La dosis de 6 mg/kg mostró ya claros síntomas de toxicidad con emesis y convulsiones sobre todo en la perra. La dosis letal se encuentra, por tanto, por encima pero en las proximidades de 6 mg/kg.

Estas dosis son muy parecidas a las descritas para la bupivacaína en la literatura. Según Liu y col. (1982) la DC₁₀₀ en el perro por vía intravenosa (dosis convulsivas en el 100% de los animales) es de 4 mg/kg, dosis que en los perros del estudio anterior, con IQB-9302, produjeron emesis, salivación y ataxia, pero no convulsiones.

Toxicidad subaguda

Es interesante destacar que si bien las recomendaciones de las agencias reguladoras y la OCDE en lo que se refiere a la duración de los estudios de toxicidad subaguda indican que cuando se trata de dosis únicas son suficientes 2 semanas, sin embargo los Laboratorios INIBSA han realizado estudios de 4 semanas + una (o 2) semana(s) de recuperación en las dos especies animales

dolor crónico muy severo) o localmente (p.e., en el herpes). Esta última indicación puede ser muy interesante dado que el IQB-9302 es uno de los pocos anestésicos locales capaces de atravesar la piel, según estudios preliminares realizados en EE.UU. (*comunicación personal*).

A) Rata: un primer estudio en rata por vía intravenosa fue diseñado para determinar las dosis que se utilizarían posteriormente en el estudio principal. Las dosis administradas en este primer estudio estuvieron en el rango de 1 a 4 mg/kg/día observándose una elevada mortalidad con las dosis más altas.

Dos puntos parecen destacables de este estudio:

- La rápida desaparición de los síntomas clínicos después de la inyección: con las dosis más altas los animales mueren o muestran claros síntomas en los primeros 6 minutos. Si se recuperan, el aspecto, comportamiento y demás parámetros analizados son normales una vez desaparecidos los síntomas. Esto indicaría la existencia de un "umbral" a partir del cual se manifiestan síntomas, más de tipo farmacológico que toxicológico.
- La total ausencia de signos de toxicidad durante y después del estudio. [por signos de toxicidad se entienden aquellos no directamente relacionados con la acción farmacológica].
En efecto, la única alteración observada fue una ligera hiperplasia hepática (observable sólo al microscopio y únicamente en algunos animales de las dosis más elevadas). Esta alteración puede estar relacionada más con un aumento del metabolismo hepático (los anestésicos locales tipo amida se metabolizan extensamente en el hígado) que con un verdadero efecto tóxico.

En el segundo estudio intravenoso, el rango de dosis se estableció entre 0.75 y 2.25 mg/kg/día, durante 28 días consecutivos no observándose ninguna mortalidad en ninguno de los grupos.

Con las dosis más elevadas, se observó ataxia de una duración de pocos minutos después de la inyección y, ocasionalmente, convulsiones (no en todos los animales ni todos los días). Todos los demás parámetros observados tanto macroscópica como microscópicamente se mantuvieron dentro de la normalidad.

B) Perro: Aparentemente, los perros fueron menos susceptibles al IQB-9302 ya que las dosis máximas de 3 mg/kg/día i.v. fueron bien toleradas durante los 28 días del estudio. Esta diferencia puede deberse, no a una mayor susceptibilidad de la rata, sino al hecho de que la administración en el perro fue realizada mediante una infusión más lenta que en la rata (en razón del mayor volumen administrado). Así, mientras que en el estudio en rata las inyecciones fueron practicadas en 2 minutos, en el perro lo fueron en 5 min. Estos resultados apoyarían la teoría antes señalada de que existe un "umbral", posiblemente de niveles plasmáticos, por encima de los cuales se producen los "signos tóxicos". Si como resultado de una infusión más lenta, estos niveles no alcanzan el umbral, no aparecen tales signos. Es posible que las muestras de sangre extraídas para la detección del IQB-9302 en sangre den, cuando estén analizadas, el valor de dicho umbral.

Conclusión: Los estudios toxicológicos realizados con el IQB-9302 por el momento permiten afirmar que las dosis a las que no se observa ningún efecto

(NOAEL - *no observable adverse effect level*) después de 28 tratamientos i.v. se encuentran entre los 0.75 y 1.0 mg/kg.

Si como consecuencia de los resultados obtenidos de la farmacología se conoce que el IQB-9302 es, al menos, igual de efectivo que la bupivacaína, y se analizan las dosis de esta última en la práctica clínica, se deduce que sólo en casos extremos (p.e., en infiltraciones intrapleurales) se alcanzan dosis tan elevadas, y nunca por vía i.v..

Las dosis usuales de la bupivacaína suelen oscilar entre los 15 y 25 mg en total por infiltración o vía epidural. Esto garantiza un margen de seguridad adecuado para la utilización clínica del IQB-9302.

Aunque la autopsia de ratas y perros tratados i.v. o s.c. no mostraron ningún tipo de irritación local, se sugiere que antes de administrar el IQB-9302 al ser humano por vía epidural se estudie en alguna especie animal.

MUTAGENESIS.

Aunque el proyecto de desarrollo del IQB-9320 contempla la realización de la batería completa de ensayos de mutagénesis, por el momento sólo se ha completado el *test* de Ames (con y sin activación hepática), que resultó ser negativo incluso a las concentraciones más altas utilizadas, que alcanzaron los 5000 µg/placa.

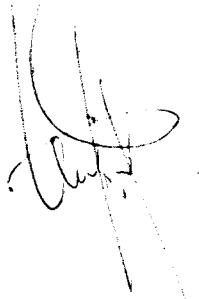
COMENTARIO ADICIONAL

Es de destacar que los laboratorios INIBSA y el Instituto de Investigación y Desarrollo Químico Biológico, responsables del desarrollo del IQB-9302 han suministrado un CD-ROM (peso 20 gramos) en el que se pueden encontrar con suma facilidad toda la información que, durante todo el periodo de desarrollo, se ha ido generando. Este CD-ROM es una copia del *WEB-site* que se ha creado en INTERNET para facilitar el intercambio de información entre el promotor y las diferentes CROs e investigadores que participan en el proyecto y al que se ha tenido acceso en la confección del presente Informe de Experto para consultar las últimas informaciones.

De hecho, el *WEB-site* del proyecto se actualiza todos los días, de tal forma que es posible realizar un seguimiento del proyecto en "tiempo real".

Además de la "*Investigator's Brochure*" que resume los estudios realizados, se han consultado, cuando ha sido necesario, los informes finales que se encuentran en formato PDF (siguiendo las recomendaciones de la FDA y de la EMEA en lo que se refiere al formato de los documentos electrónicos). El hecho de que la mayoría de los documentos se encuentran eficazmente enlazados ha facilitado grandemente la labor de revisión, sin necesidad de manejar un gran número de voluminosos expedientes sobre papel. Es de esperar que esta experiencia innovadora de los Laboratorios INIBSA/IQB facilitará, sin duda, tanto la ejecución del proyecto como su posterior revisión por las autoridades reguladoras.

Madrid a 3 de Mayo de 1999



Fdo.: Dr. Alberto Giráldez Dávila
Farmacólogo

BIBLIOGRAFIA

- Liu, PL., Feldman, HS., Giasi, R., Patterson, MK., Covino BG. Comparative CNS toxicity of lidocaine, etidocaine, bupivacaine and tetracaine in awake dogs following rapid i.v. administration. *Anesth.Analg.* (1983): 62: 375-379
- B.G. Covino: Toxicity and Systemic Effects of Local Anesthetic Agents. En *Local Anesthetics*. Editor: G.R. Strichartz, Springer-Verlag, (1987) pag.186-212
- H.S.Feldman: Toxicity of Local Anesthetic Agents. En: *Anesthetic toxicity*. Editado por Susan A.Rice y Kevin J.Fish. Raven Press, (1994) pag. 107-133
- G.T. Tucker: Pharmacokinetics of Local Anaesthetics. *Br.J. Anaesth.*, (1986), 58 : 717-731
- Local Anaesthetic (Infiltration anaesthesia) action in the guinea-pig. RCC Project 688173 (1998)
- Local Anaesthetic (superficial anaesthesia) action in the guinea-pig. RCC Project 688184 (1998)
- Anesthetic activity. Blocking of the sciatic nerve in the anesthetized rat. Report N° CD98/1 169FD (1998)
- Effects of IQB-9302 on basal and evoked contractions of isolated rat aorta. Report 99/1 (1999)
- .R. Ramón . Action of IQB-9302 and its enantiomers on the cellular electrophysiological parameters of the rat ventricle. Comparison with bupivacaine (1998)
- Acute intravenous toxicity test. Determination of DL50 in rats. Report N° CD 98/6114T (1998)
- Four weeks intravenous dose-range finding study in the rat. Report N° CD/6288T (1999)
- IQB-9302: An Acute Subcutaneous Toxicity Study in Beagle Dogs. TPS Report 616B (1999)
- IQB-9302: An Acute Intravenous Toxicity Study in Beagle Dogs. TPS Report 616A (1999)
- Four Week toxicity study in rats by intravenous administration with a two week recovery period. Report CD-98/6289T (1999)
- IQB-9302: A 28 Days Intravenous Subacute Toxicity Study in Beagle Dogs. TPS Report 616C (1999)
- Compatibility and Haemolytic potential of IQB-9302. Report CD-98/6209T (1999)
- IQB-9302: Bacterial Mutation Assay. LIS 001/992164 (1999)

Mº Jose Verde y A.Galiano. Patente Española Nº 9.302.303 (4 Nov 1993)
Mº Jose Verde y A. Galiano: US Patent nº 5.834.490 (10 Nov 1998)

DMF Applicants Part (1999).

Merck Index XIII. Bupivacaine. pag. 1520

URL: <http://www.iqb.es/cpcaina/> (Base de Datos en INTERNET con actualizaciones diarias) Es necesario solicitar una clave al Director del Proyecto para acceder a la misma.

EXTRACTO DEL CURRICULUM VITAE DEL EXPERTO

CURRICULUM VITAE de ALBERTO GIRÁLDEZ DÁVILA

Facha y lugar de nacimiento : 8 enero 1928, en Barcelona, España
Dirección actual : c/ Silvano 11, 28043 Madrid, España Tfn. 34 - 1 - 300 21 94
e-mail: agiralde@teleline.es
Profesión : Doctor en Farmacia y Farmacólogo

- Académico Correspondiente de la Real Academia de Farmacia, del Instituto de España
- Asesor de la Dirección General de Farmacia del Ministerio de Sanidad
- Ha sido el representante español en el Grupo de Trabajo de Seguridad del Medicamento, en la Comisión de Especialidades de la Unión Europea, en Bruselas
- Profesor de Tercer Ciclo de las Universidades: Complutense de Madrid y de Navarra
- Profesor invitado en varias Universidades Españolas
- Ha impartido cursos en diversas Universidades Latinoamericanas, algunos de ellos invitado por la OPS o por el Programa CITED
- Pertenece a numerosas Sociedades Científicas, en las que ha ostentado, entre otros, los siguientes cargos :

Presidente de la Sociedad Española de Ciencias de Animales de Laboratorio
Vicepresidente y Socio Fundador de la Sociedad Española de Farmacología
Vicepresidente de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria
Socio de Honor de la Asociación Latinoamericana de Farmacología

- Autor de numerosas publicaciones, capítulos de libros y comunicaciones a Congresos Científicos, tanto Nacionales como Internacionales
- Ha tenido múltiples participaciones en Congresos como Presidente (V Congreso Español de Ciencias Farmacéuticas), Presidente de Sala, Ponente, Moderador, Comunicante, Miembro de Comités Científico, Comités Organizadores,....
- Durante más de 30 años ha dirigido los Departamentos de Farmacología, de diversos Centros de Investigación en la Industria Farmacéutica
- Especialización en Farmacología, por la Escuela de Farmacólogos de Barcelona (1963)
- Becado por el Gobierno Italiano en el *Istituto Superiore di Sanità*, de Roma (1960-61)
- Doctor en Farmacia, con Premio Extraordinario, por la Universidad de Santiago de Compostela con *Premio Extraordinario* (1957)

- Profesor Adjunto de la Cátedra de Fisiología Animal, en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela (1952-60)
- Becario del CSIC (1953-1959)
- Licenciado en Farmacia, por la Universidad de Barcelona (1951)

ANEXO

- Diagrama de flujo de la fabricación de Injectables en Laboratorios INIBSA

