

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 517 894**

51 Int. Cl.:

A61K 31/138 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 47/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.03.2005 E 09175781 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.10.2014 EP 2147670**

54 Título: **Composiciones químicamente estables de 4-hidroxi tamoxifen**

30 Prioridad:

22.03.2004 US 805530

22.03.2004 EP 04290762

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

04.11.2014

73 Titular/es:

**BESINS HEALTHCARE LUXEMBOURG SARL
(100.0%)**

**67 boulevard Grande-Duchesse Charlotte
1331 Luxembourg, LU**

72 Inventor/es:

**HILT, DANA C.;
MASINI-ETEVE, VALÉRIE;
FEDYNEC, RICHARD y
TARAVELLA, BRIGITTE**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 517 894 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones químicamente estables de 4-hidroxi tamoxifen

Antecedentes de la invención

5 La presente invención se relaciona con composiciones isoméricas químicamente estables de 4-hidroxi tamoxifen (4-OHT), un metabolito activo del fármaco tamoxifen.

10 El tamoxifen actúa sobre los receptores de estrógeno en todo el cuerpo y, tanto como agonista y antagonista, provoca un amplio rango de efectos sistémicos. Es ampliamente prescrito para el cáncer de seno debido a que bloquea los efectos del estrógeno en el tejido del seno, retardando o deteniendo de esta manera el crecimiento de las células cancerígenas que ya están presentes y evitando el desarrollo de nuevos cánceres. Debido a sus efectos de amplia variación, el tamoxifen provoca efectos secundarios considerables, los cuales incrementan el riesgo de cáncer endometrial, hiperplasia y pólipos endometriales, trombosis venosa profunda y la embolia pulmonar, cambios en los niveles enzimáticos del hígado y toxicidades oculares, incluyendo cataratas. Adicionalmente, los pacientes tratados con tamoxifen reportan tener calentamientos instantáneos, secreción vaginal, depresión, amenorrea y náuseas.

15 Debido a las desventajas del tamoxifen, algunos investigadores del cáncer han propuesto la sustitución por 4-hidroxi tamoxifen como tratamiento del cáncer de seno. El 4-hidroxi tamoxifen actúa como un modulador selectivo del receptor de estrógeno (SERM,) que exhibe especificidad al tejido para tejidos receptores de estrógeno. En tejidos de seno, funciona como un antagonista del estrógeno. Los estudios han mostrado que el 4-hidroxi tamoxifen puede regular la actividad transcripcional de los receptores relacionados con el estrógeno, el cual puede contribuir a su actividad específica a los tejidos. In vitro, el 4-hidroxi tamoxifen exhibe más potencia que el tamoxifen, según se mide por afinidad de enlazamiento a los receptores de estrógeno o ER, y una afinidad de enlazamiento similar al estradiol para los receptores del estrógeno (Robertson *et al.*, 1982; Kuiper *et al.*, 1997).

25 Datos de investigaciones respaldan el uso del 4-hidroxi tamoxifen para tratar el cáncer de seno. En estudios *in vitro*, el 4-hidroxi tamoxifen inhibe el crecimiento de las células de seno tanto normales como cancerígenas (Nomura, 1985; Malet, 1988, 2002; Charlier, 1995). Adicionalmente, el 4-hidroxi tamoxifen administrado por vía transdérmica presenta un efecto antitumoral sobre tumores de seno humanos desarrollados subcutáneamente en ratones (Patente de los Estados Unidos No. 5,904,930). En experimentos limitados en humanos han mostrado que el 4-hidroxi tamoxifen administrado por vía percutánea puede concentrarse en tumores de seno locales con muy poca distribución sistémica (Mauvais-Jarvis, 1986). El 4-hidroxi tamoxifen también se muestra prometedor para el tratamiento de mastalgia, cicatrización excesiva y ginecomastia y para disminuir la densidad del seno.

30 En la estructura química del 4-hidroxi tamoxifen o 1-[4-(2-N-dimetilaminoetoxi)fenil]-1-(4-hidroxifenil)-2-fenilbut-1-eno, un doble enlace entre dos átomos de carbono da lugar a dos formas estereoisoméricas. A diferencia del tamoxifen, el 4-hidroxi tamoxifen no posee dos grupos fenilo idénticos, sino que tiene cuatro grupos diferentes distribuidos en el grupo alqueno. La terminología *cis-trans*, por lo tanto, no puede aplicarse apropiadamente a los isómeros del 4-hidroxi tamoxifen. En cambio, *E* del alemán *Entgegen*, que significa opuestos, y *Z* del alemán *Zusammen*, que significa juntos, se aplican apropiadamente (véase las figuras 1 y 2). Ambos isómeros del 4-hidroxi tamoxifen son biológicamente activos, pero el isómero *Z* es más activo biológicamente que el isómero *E* (patente de los Estados Unidos No. 6,172,263)

35 En estado sólido, una mezcla isomérica de 4-hidroxi tamoxifen es muy estable. En solución, sin embargo, se produce la isomerización entre las formas *Z* y *E*. Malet *et al.* observaron que la isomerización espontánea de *Z*-4-hidroxi tamoxifen en *E*-4-hidroxi tamoxifen se producía en el intervalo de 24-48 horas, pero se estabilizaba rápidamente en una relación *Z/E* de 70/30, ya sea en solución de reserva, medio de cultivo o células cultivadas e independientemente de la temperatura (-20°C, 4°C o 37°C). Véase Malet *et al.* (2002). Katzenellenbogen *et al.* demostraron además que los isómeros de hidroxi tamoxifen que inicialmente tienen una pureza del 99% sufren una isomerización dependiente del tiempo y la temperatura, de modo que después de 2 días en un medio de cultivo tisular a 37°C se habían isomerizado hasta el 20%. Esta isomerización tiene lugar de forma más lenta a 4°C que a 37°C y su velocidad se puede reducir mediante varios antioxidantes. Véase Katzenellenbogen *et al.* (1985). De acuerdo con Sigma, un proveedor de 4-hidroxi tamoxifen, el proceso de interconversión *E-Z* del 4-hidroxi tamoxifen es favorecido por solventes con constantes dieléctricas bajas cuando son expuestos a la luz y cuando se incuban en un medio de cultivo.

40 El proceso de isomerización puede afectar potencialmente a la actividad de una composición farmacéutica que comprende 4-hidroxi tamoxifen como un ingrediente activo. Por lo tanto, para cumplir con los requisitos normativos farmacéuticos internacionales, existe una necesidad para composiciones químicamente estables de 4-hidroxi tamoxifen. Una composición farmacéutica "estable" es una cuya composición cualitativa y cuantitativa, incluyendo las características físicas, químicas y biológicas, no cambie considerablemente con el tiempo bajo condiciones específicas de temperatura y humedad, por ejemplo, durante 3 años a 25°C/60%HR, 1 año a 30°C/65%HR y/o 6

meses a 40°C/75%HR. "Cambio significativo" hace referencia a diferencias cualitativas y/o cuantitativas que podrían afectar a la potencia, eficacia o seguridad de una composición farmacéutica.

Proveyendo una composición estable de 4-hidroxi tamoxifen, sería útil tener una comprensión más completa del proceso de isomerización del 4-hidroxi tamoxifen.

5 Resumen de la invención

Los presentes inventores han descubierto que la isomerización del 4-hidroxi tamoxifen en solución se equilibra en una relación de isómeros *Z:E* de aproximadamente 1:1. Además, han descubierto que una vez que se alcanza esta relación equilibrada, la misma permanece estable.

10 De acuerdo con este descubrimiento, la presente invención incluye composiciones farmacéuticas que tienen 4-hidroxi tamoxifen como un agente activo, en donde aproximadamente el 50% del 4-hidroxi tamoxifen existe en forma isomérica *Z* y el resto en forma isomérica *E*. La composición farmacéutica se fórmula para administración percutánea en un gel que contiene alcohol y un vehículo acuoso, la cual no es una solución hidroalcohólica, ni un gel hidroalcohólico.

15 En otro aspecto, la invención se relaciona con un método para tratar o prevenir condiciones médicas mediante la administración de una composición farmacéutica que tiene 4-hidroxi tamoxifen como un agente activo, en donde aproximadamente el 50% del 4-hidroxi tamoxifen existe en forma isómera *Z* y el resto es en forma isomérica *E*, a un paciente en necesidad del mismo. Las condiciones médicas para las que tal administración es útil incluyen cáncer de seno, mastalgia, densidad del seno, cicatrización excesiva y ginecomastia.

20 Para fines de profilaxis o tratamiento, las composiciones farmacéuticas han de administrarse por vía percutánea (tópicamente), para evitar el efecto del primer paso y el metabolismo hepático relacionado del 4-hidroxi tamoxifen. Para administración percutánea, el 4-hidroxi tamoxifen se puede aplicar a cualquier superficie cutánea. Es ventajosa la aplicación a los senos debido a que el 4-hidroxi tamoxifen tiende a concentrarse en tejidos subcutáneos locales con receptores de estrógeno cuando se administra por vía percutánea.

25 Un amplio rango de formulaciones tópicas son adecuadas para llevar a cabo la invención. La concentración de 4-hidroxi tamoxifen en estas formulaciones puede variar, pero una dosis debería dar como resultado concentraciones en tejidos locales de 4-hidroxi tamoxifen que se opongan efectivamente a los efectos impulsados por estrógenos.

30 En otro aspecto, la presente invención se relaciona con un kit para almacenar que comprende: (a) una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1 y (b) un contenedor, en donde la composición farmacéutica está contenida dentro del recipiente. En realizaciones específicas de este kit, el recipiente puede ser un paquete de dosis unitaria o un contenedor de dosis múltiple, tal como un contenedor con una bomba dosificadora.

En otro aspecto, la presente invención se relaciona con un método para fabricar una composición farmacéutica que comprende 4-hidroxi tamoxifen como un agente activo, en donde aproximadamente el 50% del 4-hidroxi tamoxifen existe en forma isomérica *Z* y el resto en forma isomérica *E*.

Breve descripción de las figuras

35 La Figura 1 ilustra los isómeros *E* y *Z* del tamoxifen.

La Figura 2 ilustra la isomería reversible del 4-hidroxi tamoxifen.

La Figura 3 ilustra la relación de concentración de isómeros (como porcentaje) para el lote 98RD10079 de Panchim a 25°C.

40 La Figura 4 ilustra la relación de concentración de isómeros (como porcentaje) para el lote 98RD10079 de Panchim a 30°C.

La Figura 5 ilustra la relación de concentración de isómeros (como porcentaje) para el lote 98RD10079 de Panchim a 40°C.

La Figura 6 ilustra la relación de concentración de isómeros (como porcentaje) para el lote Bx 17 de ICI a 40°C.

La Figura 7 ilustra la relación de concentración de isómeros (como porcentaje) para las soluciones II-IV a 25°C.

45 La Figura 8 ilustra la relación de concentración de isómeros (como porcentaje) para las soluciones II-IV a 30°C.

La Figura 9 ilustra la relación de concentración de isómeros (como porcentaje) para las soluciones II-IV a 40°C.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

- La presente invención se basa en el descubrimiento muy sorprendente de que la isomerización del 4-hidroxi tamoxifen en solución se equilibra en una relación de isómeros Z:E de aproximadamente 50:50, en lugar de la relación 70:30 descrita por Malet *et al.*, y que una vez que se alcanza esta relación equilibrada, permanece estable.
- 5 Los inventores además descubrieron que la interconversión de los isómeros E y Z de 4-hidroxi tamoxifen (véase la Figura 2) es una reacción reversible que tiene una constante de equilibrio k determinada por la siguiente fórmula:

$$K = \frac{k_f}{k_r} = \frac{[Z]_{eq}}{[E]_{eq}} = 1$$

- 10 donde [E] y [Z] son las concentraciones en equilibrio de los correspondientes isómeros y k_f y k_r , respectivamente, son las constantes de la rata directa e inversa. Las ratas de las reacciones directa e inversa, por lo tanto, son equivalentes.

Esta visión sobre el comportamiento de los isómeros del 4-hidroxi tamoxifen hacen posible el desarrollo de composiciones farmacéuticas químicamente estables que contienen cantidades aproximadamente iguales de los isómeros Z y E del 4-hidroxi tamoxifen. En tales composiciones, la isomerización que ocurre entre las formas Z y E no afecta significativamente a la potencia, eficacia o seguridad de la composición.

- 15 Además, en vista de la severidad de las regulaciones farmacéuticas, especialmente con relación a la estabilidad en la vida útil, se requiere proveer productos cuyas composiciones no evolucionen con el tiempo. Por lo tanto, es una gran ventaja proveer formulaciones cuyas composiciones sean estables y, por consiguiente, definidas de forma fiable y precisa.

- 20 La persona experta sabría cómo determinar las cantidades relativas de los isómeros E y Z en una composición dada. Por ejemplo, y como se ilustra más adelante, es posible utilizar técnicas de HPLC para estimar la relación Z/E.

Como se ha indicado anteriormente, la técnica anterior describe composiciones con una relación Z/E de 70/30. Adicionalmente, de acuerdo con la técnica, se cree que el isómero Z tiene una actividad biológica mayor que la de su equivalente E. Por lo tanto, consideradas juntas, las enseñanzas de la técnica anterior parecen apuntar hacia composiciones enriquecidas en el isómero Z.

- 25 En contraste, la presente invención provee composiciones que comprenden 4-hidroxi tamoxifen con una relación Z/E de aproximadamente 50/50, y métodos para preparar tales composiciones. Esta relación es particularmente adecuada para la administración a un sujeto humano, ya que corresponde esencialmente a la relación de equilibrio fisiológico *in vitro* encontrada en tejidos (Mauvais Jarvis P et al., Cancer Research, 1986, 46, p1521-1525).

- 30 Los inventores han realizado diversos experimentos para estudiar el equilibrio de los isómeros de 4-hidroxi tamoxifen bajo diferentes condiciones de luz, temperatura, pH y humedad, así como también en diferentes medios, en concentraciones diferentes de 4-hidroxi tamoxifen y en diferentes relaciones alcohol/vehículo acuoso. En resumen, prepararon soluciones alcohólicas que contienen concentraciones diferentes de 4-hidroxi tamoxifen en diferentes relaciones de los isómeros Z y E, luego observaron la isomerización que ocurrió en esas soluciones con el tiempo a diferentes temperaturas y valores de pH (véanse los Ejemplos más adelante). A los 6 meses, se alcanzó una
- 35 relación estable (aproximadamente 1:1) de los isómeros Z y E bajo muchas condiciones y se observó una tendencia clara en todas las condiciones. La rata de equilibrio dependía directamente de la temperatura, pH, contenido de alcohol/vehículo acuoso, luz y concentración de 4-hidroxi tamoxifen. En todos los casos, solamente se vio afectada la rata de equilibrio (véanse los Ejemplos más adelante), pero no la relación final de los isómeros Z y E, que sorprendentemente permaneció aproximadamente 1:1.

- 40 Desde el punto de vista de la cinética química, la constante dieléctrica es reconocida como una de las propiedades fundamentales que influye en las ratas de reacción solvolíticas. A este respecto, existen publicaciones que resaltan la influencia del agua en la degradación de moléculas. Por ejemplo, Sanyude *et al.* estudiaron la influencia de la relación agua:alcohol en la degradación del aspartame. Describieron que la rata de degradación del aspartame aumentaba a medida que disminuía la constante dieléctrica del medio solvente, es decir, cuando disminuye la
- 45 concentración de agua en el medio. En contraste, los presentes inventores han encontrado que la rata de isomerización del 4-hidroxi tamoxifen se incrementa a medida que se incrementa la constante dieléctrica del medio solvente, es decir, cuando se incrementa la concentración de agua en el medio.

- 50 De acuerdo con los descubrimientos de los inventores, la presente invención se relaciona con composiciones farmacéuticas que comprenden 4-hidroxi tamoxifen, en donde aproximadamente 50% del 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica Z y el resto del 4-hidroxi tamoxifen existe en forma isomérica E. En realizaciones específicas, aproximadamente 45% - 55%, aproximadamente 46% - 54%, aproximadamente 47% - 53%, aproximadamente 48% - 52%, aproximadamente 49% - 51% o aproximadamente 50% del 4-hidroxi tamoxifen está en una forma isomérica Z. Preferiblemente aproximadamente 49% - 51%, y más preferiblemente aproximadamente

50% del 4-hidroxi tamoxifen está en una forma isomérica Z. Estos contenidos están definidos en el estado de equilibrio y no en la manufactura de la composición farmacéutica.

Se pueden obtener relaciones equilibradas de los isómeros Z y E de 4-hidroxi tamoxifen en una composición alcohólica pura o en una mezcla de un alcohol y un vehículo acuoso mezclando cantidades conocidas de los isómeros o sometiendo la composición a condiciones que aceleren el proceso de equilibrio, tales como alta temperatura, alto contenido de 4-hidroxi tamoxifen, alto contenido de vehículo acuoso o luz UV. Los inventores muestran que el tamaño molecular del alcohol (etanol o isopropanol) no tiene un efecto sobre la rata de isomerización.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención son formuladas para "administración percutánea", una expresión que denota cualquier modo de administrar un fármaco desde la superficie de la piel del paciente, a través del estrato córneo, las capas de la epidermis y dermis, y dentro de la microcirculación. Esto se logra típicamente mediante la difusión bajo un gradiente de concentración. La difusión puede ocurrir a través de penetración intracelular (a través de las células), penetración intercelular (entre las células), penetración *transappendageal* (a través de los folículos pilosos, el sudor y las glándulas sebáceas) o cualquier combinación de estas.

La administración percutánea de 4-hidroxi tamoxifen ofrece varias ventajas. Primero, evita el metabolismo hepático que ocurre subsecuente a la administración oral (Mauvais-Jarvis et al., 1986). En segundo lugar, la administración percutánea reduce significativamente la exposición sistémica al fármaco, y los riesgos concurrentes de la activación no específica de receptores de estrógenos a través del cuerpo; esto, porque el 4-hidroxi tamoxifen tópico se absorbe primariamente en tejidos locales. En particular, cuando el 4-hidroxi tamoxifen se aplica por vía percutánea a los senos, se acumula en altas concentraciones en el tejido del seno, presumiblemente debido a muchos receptores de estrógeno en el mismo, sin crear una alta concentración en el plasma (Mauvais-Jarvis et al., supra).

La eficacia de la administración percutánea de un fármaco depende de muchos factores, incluyendo la concentración del fármaco, el área superficial de aplicación, el tiempo y la duración de la aplicación, la hidratación de la piel, las propiedades fisicoquímicas del fármaco y la partición del fármaco entre la formulación y la piel. Las formulaciones del fármaco destinadas para uso percutáneo aprovechan estos factores para lograr una administración óptima. Tales formulaciones a menudo comprenden potenciadores de la penetración que mejoran la absorción percutánea, reduciendo la resistencia del estrato córneo mediante la alteración reversible de sus propiedades fisicoquímicas, cambiando la hidratación del estrato córneo, actuando como cosolvente o cambiando la organización de los lípidos y las proteínas en los espacios intercelulares. Tales potenciadores de la absorción percutánea incluyen agentes surfactantes, DMSO, alcohol, acetona, propilenglicol, polietilén glicol, ácidos grasos o alcoholes grasos y sus derivados, hidroxiacidos, pirrolidonas, urea, aceites esenciales y mezclas de los mismos. Además de los potenciadores químicos, los métodos físicos pueden aumentar la absorción percutánea. Por ejemplo, los vendajes oclusivos inducen la hidratación de la piel. Otros métodos físicos incluyen la iontoforesis y la sonoforesis, los cuales utilizan campos eléctricos y ultrasonido de alta frecuencia, respectivamente, para potenciar la absorción de fármacos que se absorben escasamente debido a su tamaño y características iónicas.

Los muchos factores y métodos relativos a la administración percutánea de fármacos están revisados en REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY, Alfonso R. Gennaro (Lippincott Williams & Wilkins, 2000), en las páginas 836-58, y en PERCUTANEOUS ABSORPTION: DRUGS COSMETICS MECHANISMS METHODOLOGY, Bronaugh and Maibach (Marcel Dekker, 1999). Como lo evidencian estas publicaciones, las personas en el campo farmacéutico pueden manipular los diversos factores y métodos para alcanzar administración percutánea eficaz.

Para la administración percutánea, el 4-hidroxi tamoxifen puede ser administrado en una pomada, crema, gel o emulsión (loción), que comprende alcohol.

Las formulaciones de 4-hidroxi tamoxifen de la invención comprenderán generalmente uno o más vehículos alcohólicos. Estos vehículos deben ser capaces de disolver tanto el 4-hidroxi tamoxifen como cualquier potenciador de penetración utilizado. También deben tener un punto de ebullición bajo, preferiblemente menor que 100°C a presión atmosférica, para permitir una rápida evaporación al entrar en contacto con la piel. Los vehículos alcohólicos preferidos son etanol e isopropanol. En particular, el etanol contribuye efectivamente a la absorción percutánea del 4-hidroxi tamoxifen mediante una rápida evaporación al entrar en contacto con la piel. La cantidad de vehículo alcohólico absoluto en una formulación de acuerdo con la invención varía generalmente entre 35% y 99.9%, preferiblemente entre 50% y 85%, más preferiblemente entre 60% y 75% en peso. Así, la cantidad de vehículo no acuoso absoluto en una formulación en forma en gel puede ser aproximadamente 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74% o 75% en peso.

Las formulaciones también comprenden un vehículo acuoso, el cual permite la solubilización de cualquier molécula hidrofílica en una formulación y también promueve la humectación de la piel. Un vehículo acuoso también puede regular el pH, preferiblemente en el rango de aproximadamente 4 a aproximadamente 12, más preferiblemente en el rango de aproximadamente 6 a aproximadamente 11, incluso más preferiblemente en el rango de aproximadamente

8 a aproximadamente 10 y más preferiblemente a aproximadamente 9. Como se muestra más adelante, el pH y, por lo tanto, la elección de una solución reguladora, afecta la rata de equilibrio entre los isómeros *E* y *Z* del 4-hidroxi tamoxifen. La relación de equilibrio final, sin embargo, permanece igual a aproximadamente 1:1 independientemente del regulador.

5 Los vehículos acuosos incluyen soluciones reguladoras alcalinizantes y básicas, incluyendo soluciones reguladoras de con fosfato (por ejemplo, fosfato de sodio dibásico o monobásico), soluciones reguladas con citrato (por ejemplo, citrato de sodio o citrato de potasio) y simplemente agua purificada. De acuerdo con la invención se prefiere la solución regulada de fosfato. La cantidad de un vehículo acuoso varía preferiblemente entre 0.1% y 65% en peso de la composición farmacéutica, más preferiblemente entre 15% y 50% e incluso más preferiblemente entre 25% y 10 40%. Así, la cantidad de un vehículo acuoso puede ser de aproximadamente 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39% o 40%. En el caso de que las formulaciones contengan un vehículo acuoso, la cantidad del vehículo alcohólico absoluto en una formulación es preferiblemente de aproximadamente 60% a aproximadamente 75%.

15 Las formulaciones de 4-hidroxi tamoxifen también pueden comprender uno o más potenciadores de la absorción percutánea. Los potenciadores de la absorción percutánea preferidos son ésteres de ácidos grasos. Un ejemplo muy preferido de un éster de ácido graso potenciador de la penetración es el miristato de isopropilo. Cuando se usa miristato de isopropilo en un gel, la cantidad puede variar desde aproximadamente 0.1 hasta aproximadamente 5.0 gramos por 100 gramos de gel, Preferiblemente, la cantidad de miristato de isopropilo varía desde aproximadamente 0.5 hasta aproximadamente 2.0 gramos por 100 gramos de gel. En tales realizaciones, el miristato de isopropilo 20 puede constituir aproximadamente 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1.0%, 1.1%, 1.2%, 1.3%, 1.4%, 1.5%, 1.6%, 1.7%, 1.8%, 1.9% o 2.0% en peso de la composición farmacéutica.

Adicionalmente, las formulaciones de 4-hidroxi tamoxifen pueden comprender uno o más agentes gelificantes para incrementar la viscosidad de una formulación y/o para actuar como agente solubilizante. Dependiendo de la naturaleza del agente gelificante, puede constituir entre 0.1% y 20% en peso de una formulación, preferiblemente 25 entre 0.5% y 10%, más preferiblemente entre 0.5% y 5%. Así, la cantidad de un agente gelificante puede ser aproximadamente 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5%, 3.0%, 3.5%, 4.0%, 4.5% o 5.0%. Los agentes gelificantes preferidos incluyen carbómeros, derivados de celulosa, poloxámeros y poloxaminas. Más particularmente, los agentes gelificantes preferidos son quitosano, dextrano, pectinas, goma natural y derivados de celulosa, tales como 30 etil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxietil celulosa, hidroxipropil metil celulosa (HPMC), carboximetil celulosa (CMC) y si milares. Un agente gelificante altamente preferido es hidroxipropil celulosa.

Cuando una formulación comprende un agente gelificante, en particular un polímero acrílico no neutralizado previamente, puede también comprender ventajosamente un agente neutralizante. La relación agente neutralizante/agente gelificante está preferiblemente entre 10:1 y 0.1:1, más preferiblemente entre 7:1 y 0.5:1, e incluso más preferiblemente entre 4:1 y 1:1. Así, la relación agente neutralizante/agente gelificante puede ser 35 aproximadamente 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1 o 0.5:1. Un agente neutralizante debe formar, en la presencia del polímero, sales que sean solubles en el vehículo. Un agente neutralizante debe permitir también el hinchamiento óptimo de las cadenas del polímero durante la neutralización de cargas y la formación de sales del polímero. Los agentes neutralizantes útiles incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, arginina, aminometilpropanol, trolamina y trometamina. Los expertos en la técnica seleccionarán un agente neutralizante de acuerdo con el tipo de agente gelificante empleado en una formulación. Cuando se usan derivados de celulosa como 40 agente gelificante, sin embargo, no se requieren agentes neutralizantes.

La Tabla 1 describe la composición de dos formulaciones de gel de 4-hidroxi tamoxifen. Todos los componentes son componentes farmacéuticamente aceptables.

Tabla 1: Composición de formulaciones de gel de 4-hidroxi tamoxifen

45

| Ingrediente | Cantidad por 100 g de gel | |
|--|---------------------------|-----------------------|
| | 20 mg de gel de 4-OHT | 57 mg de gel de 4-OHT |
| 4-hidroxi tamoxifen | 0.02 g | 0.057 g |
| Alcohol etílico absoluto | 66.5 g | 66.5 g |
| Miristato de isopropilo | 1 g | 1 g |
| Hidroxipropilcelulosa | 1.5 g | 1.5 g |
| Regulador de fosfato (pH 7, diluido 1:4) | q.s. 100 g | q.s. 100 g |

50

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse para tratar numerosas condiciones médicas para las cuales son útiles el tamoxifen y el 4-hidroxi tamoxifen. Por ejemplo, pueden administrarse para tratar cáncer de seno (Mauvais-Jarvis, 1986; Ejemplo 4), mastalgia (Fentiman 1986, 1988, 1989), cicatrización excesiva (Hu, 1998; Hu 2002) o ginecomastia (Gruntmanis and Braunstein (2001)). También pueden administrarse para prevenir el

5 cáncer de seno en pacientes con alto riesgo de desarrollar esa enfermedad o para reducir la densidad del seno cuando esa afección interfiera con la mamografía (Atkinson, 1999; Brisson, 2000; Son, 1999). Véase también las solicitudes provisionales de patentes de los Estados Unidos Nos. 60/433.959, presentada el 18 de diciembre de 2002 (WO 2004/054557); 60/433,958, presentada el 18 de diciembre de 2002 (WO 2004/054558); y 60/458,963, presentada el 1 de abril de 2003, para una descripción completa de estos usos.

10 Aunque la invención no está restringida a ninguna teoría en particular, los efectos secundarios clínicamente significativos de los agentes antiestrógenos ocurren cuando los agentes desplazan estradiol en tejidos no objetivo. Puesto que el 4-hidroxi tamoxifen y el estradiol tienen afinidades de enlazamiento similares por los receptores de

15 estrógeno, una competición entre ellos por el enlazamiento al receptor sería aproximadamente igual cuando la concentración de cada compuesto se aproxima a la del otro. Si la concentración del 4-hidroxi tamoxifen excede la concentración de estradiol, el primero se enlazara preferencialmente a los receptores de estrógeno y viceversa. Mediante la administración de 4-hidroxi tamoxifen localmente, se pueden lograr altas concentraciones en los tejidos objetivo sin aumentar simultáneamente los niveles en plasma de 4-hidroxi tamoxifen hasta un punto donde ocurra una competición sistémica significativa por los receptores de estradiol.

20 En mujeres se prefieren dosis de 4-hidroxi tamoxifen que den como resultado concentraciones en plasma menores que aproximadamente 80 pg/mL, o la concentración media de estradiol en una mujer premenopáusica normal. Más preferiblemente, las dosis de 4-hidroxi tamoxifen darán como resultado concentraciones en plasma menores que aproximadamente 50 pg/mL. En hombres se prefieren dosis de 4-hidroxi tamoxifen que den como resultado concentraciones en plasma menores que aproximadamente 20 pg/mL, o la concentración media de estradiol en hombres normales. Las dosis diarias que serán administradas pueden estimarse inicialmente con base en los

25 coeficientes de absorción del 4-hidroxi tamoxifen, la concentración deseada en el tejido del seno, y la concentración en plasma que no pueda superarse. Por supuesto, la dosis inicial puede optimizarse en cada paciente, dependiendo de las respuestas individuales.

30 Cuando se administra una formulación percutánea para afecciones en el seno, el resultado deseado debería lograrse con dosis del orden de 0.25-2.0 mg/seno/día de 4-hidroxi tamoxifen, siendo preferidas las dosis de aproximadamente 0.5-1.0 mg/seno/día. En realizaciones particulares, la dosificación es de aproximadamente 0.5, 0.75 o 1.0 mg/seno/día de 4-hidroxi tamoxifen.

35 Para el tratamiento de cicatrización excesiva, el resultado deseado debería lograrse con dosis del orden de 0.25 a 6 µg de 4-hidroxi tamoxifen/cm²/día, siendo preferidas las dosis de aproximadamente 0.25 a 3 µg, y siendo más preferidas las dosis de 0.5 a 2.5 µg/cm²/día. Las dosis de aproximadamente 1.0 y 2.0 µg/cm²/día son muy preferidas para tratar condiciones de cicatrización.

40 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden empacarse en kits para almacenamiento. Tales kits comprenden: (a) una composición farmacéutica como se describe aquí y (b) un contenedor, en donde la composición farmacéutica está contenida en un contenedor. El contenedor puede ser un empaque de dosis unitaria, tal como un empaque de aluminio o un contenedor de dosis múltiples, tal como un contenedor con una bomba dosificadora. Preferiblemente, el contenedor es impenetrable a la luz.

En otro aspecto, la presente invención se relaciona con un método para fabricar una composición farmacéutica que comprende 4-hidroxi tamoxifen. En particular, se provee un método para fabricar una composición farmacéutica de la invención, como se ha descrito anteriormente.

45 En una realización, la presente invención está dirigida a un método para fabricar una composición farmacéutica, que comprende la etapa de llevar una composición que comprende 4-hidroxi tamoxifen a un estado de equilibrio, en donde aproximadamente 45%-55%, aproximadamente 46%-54%, aproximadamente 47%-53%, aproximadamente 48%-52%, aproximadamente 49%-51% o aproximadamente 50% de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *Z* y el resto de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *E*.

En otra realización, la presente invención provee un método que comprende las etapas de:

- 50 (i) proveer una cantidad determinada de 4-hidroxi tamoxifen;
- (ii) proveer al menos un excipiente;
- (iii) combinar dicho 4-hidroxi tamoxifen y dicho al menos un excipiente, y de este modo formar una composición farmacéutica;

(iv) llevar dicha composición farmacéutica a un estado de equilibrio, en donde aproximadamente 45%-55%, aproximadamente 46%-54%, aproximadamente 47%-53%, aproximadamente 48%-52%, aproximadamente 49%-51% o aproximadamente 50% de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *Z* y el resto de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *E*.

5 en donde dicha composición farmacéutica comprende un alcohol y no es una solución hidroalcohólica ni un gel hidroalcohólico.

10 En una realización, dicha etapa (i) comprende proveer una cantidad determinada de 4-hidroxi tamoxifen en una forma isomérica *Z* y/o proveer una cantidad determinada de 4-hidroxi tamoxifen en una forma isomérica *E*. Se puede proveer el 4-hidroxi tamoxifen utilizando diversas cantidades relativas de los isómeros *E* y *Z*. Por ejemplo, es posible proveer el 4-hidroxi tamoxifen en un solo isómero (por ejemplo solamente *E* o solamente *Z*). También es posible proveer ambos isómeros en cantidades iguales o diferentes.

15 Los excipientes son conocidos en la técnica. En una realización de la invención, dicho excipiente se selecciona de un grupo que consiste de agua, reguladores acuosos farmacéuticamente aceptables, potenciadores de penetración, agentes gelificantes, aceites, agentes neutralizantes y sus mezclas. Las diversas realizaciones descritas anteriormente para la composición de la invención (ingredientes, sus cantidades...) pueden transponerse a los métodos de la invención. Los expertos sabrían como proceder para proveer los ingredientes deseados en las cantidades deseadas.

20 De acuerdo con la invención, dicho método comprende la etapa de llevar dicha composición farmacéutica que comprende 4-hidroxi tamoxifen a un estado de equilibrio. Dicho estado de equilibrio es generalmente un estado en donde la relación de los isómeros *E/Z* no varía significativamente con el tiempo, debido a que dicha composición farmacéutica ha alcanzado el equilibrio. En dicho estado de equilibrio, aproximadamente 45%-55%, aproximadamente 46%-54%, aproximadamente 47%-53%, aproximadamente 48%-52%, aproximadamente 49%-51% o aproximadamente 50% de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *Z* y el resto de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *E*.

25 La cinética de acuerdo con la cual se alcanza el equilibrio depende de diversos parámetros, tales como la relación *E/Z* inicial (es decir, las cantidades respectivas de los isómeros *Z* y *E* provistas inicialmente), el pH final de la composición, la naturaleza y las cantidades respectivas de los ingredientes de la composición, la constante dieléctrica de la composición, la temperatura de manufactura, la temperatura de almacenamiento y la posible exposición a la luz (duración, longitud(es) de onda, ...).

30 La persona experimentada sabría como monitorear el progreso de la isomerización y ajustar los parámetros con el fin de asegurar que efectivamente se alcance el estado de equilibrio.

Ejemplos de parámetros incluyen:

- temperaturas que varían entre 25-40°C, por ejemplo 30-35°C, durante la manufactura, y/o
- temperaturas que varían entre 25-40°C, por ejemplo 30-35°C, durante el almacenamiento, y/o
- 35 - almacenamiento de 0.5-6 meses, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 meses, y/o
- exposición a la luz, especialmente a la luz UV, durante la manufactura, y/o
- exposición a la luz, especialmente a la luz UV, durante el almacenamiento, y/o
- pH final de la composición, y/o
- constante dieléctrica de la composición, y/o
- 40 - relación agua/alcohol, por ejemplo relación agua/etanol, en la composición, y/o
- relación *E/Z* inicial de 2/98, 60/40, 63/37, 70/30, 10/90, 0/100...

El método de la invención también puede comprender la etapa de empaqueo de dicha composición farmacéutica en un contenedor, por ejemplo en un empaque de dosis unitaria o en un contenedor de dosis múltiples con una bomba dosificadora.

45 Con referencia a lo que sigue, los ejemplos ilustrativos ayudarán a proveer un entendimiento más completo de la invención.

Ejemplo de referencia 1

Este ejemplo demuestra que la isomerización del 4-hidroxi tamoxifen ocurre en solución y que la isomerización finalmente alcanza un equilibrio en el cual aproximadamente 50% del 4-hidroxi tamoxifen existe en la forma isomérica Z, siendo el resto en la forma isomérica E.

5 A. Preparación de soluciones que contienen 4-Hydroxy tamoxifen

Se prepararon soluciones hidroalcohólicas que contenían 4-hidroxi tamoxifen, con base en la siguiente fórmula de gel:

| | | |
|----|--------------------------|-----------|
| 10 | 4-hidroxi tamoxifen | 0.057 g |
| | Miristato de isopropilo | 1.000 g |
| | Klucel | 1.500 g |
| | Etanol absoluto | 66.500 g |
| | Regulador de fosfato qsf | 100.000 g |

En las soluciones hidroalcohólicas, se sustituyó el regulador de fosfato por Klucel. La composición del regulador fue la siguiente:

| | |
|----|---|
| 15 | KH ₂ PO ₄ : 0.8526 g |
| | Na ₂ HPO ₄ : 3.4826 g |
| | Agua purificada: 1000 g |

Se prepararon soluciones que contenían cinco concentraciones diferentes (0.02%, 0.04%, 0.06%, 0.08% y 0.10%) de 4-hidroxi tamoxifen. La composición de cada solución se muestra en la tabla siguiente.

| 20 | | 0.02% de 4-OHT | 0.04% de 4-OHT | 0.06% de 4-OHT | 0.08% de 4-OHT | 0.10% de 4-OHT |
|----|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 4-OHT (g) | 0.016 | 0.032 | 0.048 | 0.064 | 0.080 |
| | Etanol Absoluto (g) | 53.210 | 53.210 | 53.210 | 53.210 | 53.210 |
| | Miristato (g) | 0.800 | 0.800 | 0.800 | 0.800 | 0.800 |
| | Regulador qsf (g) | 80.000 | 80.000 | 80.000 | 80.000 | 80.000 |

25 En cada una de las concentraciones indicadas, se prepararon soluciones separadas que contenían Z-4-hidroxi tamoxifen o una mezcla de Z- y E-4-hidroxi tamoxifen. Se analizó 4-hidroxi tamoxifen de tres fabricantes diferentes:

- PANCHIM: 4-OHT E+Z (lote 98RD10079)
- PANCHIM: 4-OHT Z (lote 7421)
- ICI: 4-OHT Z (lote Bx 17)
- SIGMA: 4-OHT Z (lote 092K4075).

30 Debido a que solo estaba disponible una pequeña cantidad de Z-4-hidroxi tamoxifen de SIGMA, solo se preparó una solución con 0.06% de ese lote. Esta solución se analizó, como se describe a continuación, solo a 25°C y 40°C.

B. Condiciones de estudio

Cada solución se subdividió en tres partes en frascos de vidrio de color marrón de 30 ml, luego se colocaron en hornos regulados a 25°, 30° y 40°C.

35 Las cantidades relativas de los isómeros Z- y E-4-hidroxi tamoxifen se determinaron al inicio del estudio y en los tiempos de 2 semanas, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses y 5 meses.

C. Métodos analíticos

ES 2 517 894 T3

Se utilizó HPLC para determinar las cantidades relativas de cada isómero de 4-hidroxi tamoxifen, utilizando una solución estándar de 4-hidroxi tamoxifen como referencia. Los parámetros operativos para la HPLC fueron los siguientes:

- Columna: BECKMAN ULTRASPHERE ODS 250x4,6 mm, 5µm
- 5 Fase móvil: 60% de una solución acuosa al 0,5% de trietilamina ajustada a pH 2,5 con ácido clorhídrico al 25% y acetonitrilo al 40%
- Caudal: 0.8 ml/min
- Longitud de onda: 245 nm
- Volumen de inyección: 20 µl
- 10 Tiempo de registro: 20 min

Para la HPLC, las soluciones hidroalcohólicas se diluyeron en la fase móvil para obtener una concentración de 4-hidroxi tamoxifen cercana a 2,3 µg/ml.

| Concentración inicial | Volumen utilizado | Fase móvil qsp |
|-----------------------|-------------------|----------------|
| 0.02 % | 645 ml | 50 ml |
| 0.04 % | 325 ml | 50 ml |
| 0.06 % | 215 ml | 50 ml |
| 0.08 % | 160 ml | 50 ml |
| 0.10 % | 130 ml | 50 ml |

El orden de elución fue el siguiente:

- 4-OHT E: tiempo de retención aproximadamente 13.3 min
- 20 4-OHT Z: tiempo de retención aproximadamente 15.0 min.

Los porcentajes de cada isómero se calcularon utilizando las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ de isómero E} = \frac{\text{área del pico de OHT E}}{\text{área del pico de OHT (E + Z)}} \times 100$$

$$\% \text{ de isómero Z} = \frac{\text{área del pico de OHT Z}}{\text{área del pico de OHT (E + Z)}} \times 100$$

D. Ajuste de datos:

La reacción de isomerización reversible y el equilibrio alcanzado están ligados por la siguiente relación:

$$\log \frac{A_0 - A_{eq}}{A - A_{eq}} = \frac{k_f + k_r}{2.303} xt$$

25 donde

A_0 = concentración inicial del reactivo

A_{eq} = concentración del mismo reactivo en equilibrio

A = la concentración de A en el tiempo t

k_f = constante de la rata directa

30 k_r = constante de la rata inversa

t = tiempo medido en meses

Un gráfico de $\log \frac{A_o - A_{eq}}{A - A_{eq}}$ como una función del tiempo da un ajuste de línea recta con una pendiente de $\frac{k_f + k_r}{2.303}$ y un intercepto y de 0.

E. Resultados

5 Las tablas más adelante muestran los resultados para el estudio; en el tiempo de 6 meses, muchas soluciones se habían equilibrado en aproximadamente una relación de los isómeros *Z* y *E* 1:1. La constante de la rata de la interconversión del isómero depende directamente tanto de la temperatura, de la concentración inicial del isómero *Z* puro como de la concentración inicial de la mezcla de isómeros *E/Z*.

10 Los contenidos individuales de los isómeros *Z* y *E* como una función del tiempo se presentan en las figuras 3, 4 y 5 para el 4-hidroxi tamoxifen en el rango de concentración de 0.02% a 0.1% total. La solución de 4-hidroxi tamoxifen se almacenó a 25°C (figura 3), 30°C (figura 4) y 40°C (figura 5). La sustancia fármaco 4-hidroxi tamoxifen utilizado para preparar la solución tenía una relación de concentración inicial para los isómeros *E* y *Z* de 63% y 37%, respectivamente (lote 98RD 10079 de PANCHIM).

15 A medida que la concentración nominal de 4-hidroxi tamoxifen se modificó del 0.02% al 0.10%, la magnitud de las constantes de la rata para el isomerismo reversible se incrementó de forma lineal. La magnitud de las constantes de la rata también se incrementó con la temperatura.

20 Se observó la misma relación de equilibrio de aproximadamente 1:1 partiendo de la sustancia fármaco 4-hidroxi tamoxifen en una relación inicial *E/Z* de 2/98 (Lote 7421 de PANCHIM) y 0/100 (lote Bx 17 de ICI) (véase la figura 6 como ejemplo). Los lotes 7421 de PANCHIM (relación *E/Z* 2/98) y Bx 17 de ICI (relación *E/Z* 0/100) presentaron constantes ratas que eran muy similares en magnitud para cada concentración nominal de 4-hidroxi tamoxifen y en cada temperatura investigada. Sorprendentemente, cuanto más cercana es la relación inicial *E/Z* a 1:1, más alta es la constante de la rata para alcanzar el equilibrio (véase tabla 1).

Tabla 1: Constantes de la rata

| Lote 98RD10079 de PANCHIM (relación inicial <i>E/Z</i> : 62.5/37.5) | | | | | |
|---|--|--------|--------|--------|--------|
| | Constante de la rata (mes ⁻¹) para una concentración nominal de 4-hidroxi tamoxifen (<i>Z+E</i>) en solución (%) | | | | |
| | 0.02 | 0.04 | 0.06 | 0.08 | 0.10 |
| 25°C | 0.0864 | 0.2556 | 0.1769 | 0.2179 | 0.254 |
| 30°C | 0.1139 | 0.1726 | 0.2374 | 0.2932 | 0.3231 |
| 40°C | 0.2192 | 0.3761 | 0.4741 | 0.6026 | 0.8472 |
| Lote 7421 de PANCHIM (Relación inicial <i>E/Z</i> : 2/98) | | | | | |
| | Constante de la rata (mes ⁻¹) para una concentración nominal de 4-hydroxy tamoxifen (<i>Z+E</i>) en solución (%) | | | | |
| | 0.02 | 0.04 | 0.06 | 0.08 | 0.10 |
| 25°C | 0.0225 | 0.0637 | 0.0886 | 0.1352 | 0.1827 |
| 30°C | 0.0457 | 0.0864 | 0.1487 | 0.1900 | 0.2568 |
| 40°C | 0.1097 | 0.2287 | 0.3877 | 0.5311 | 0.6300 |
| Lote Bx 17 de ICI (Relación inicial <i>E/Z</i> : 0/100) | | | | | |
| | Constante de la rata (mes ⁻¹) para una concentración nominal de 4-hidroxi tamoxifen (<i>Z+E</i>) en solución (%) | | | | |
| | 0.02 | 0.04 | 0.06 | 0.08 | 0.10 |
| 25°C | 0.0347 | 0.0484 | 0.0916 | 0.1476 | 0.2169 |
| 30°C | 0.0254 | 0.0801 | 0.1563 | 0.2718 | 0.3103 |
| 40°C | 0.0722 | 0.2323 | 0.3924 | 0.5095 | 0.6960 |

Ejemplo de referencia 2:

5 Este ejemplo demuestra los efectos del miristato de isopropilo, la naturaleza del alcohol presente y la relación del alcohol/regulador de fosfato en la isomerización del 4-hidroxi tamoxifen. Parece que la elección de un vehículo no acuoso (etanol de isopropanol) no afecta significativamente al proceso de isomerización. La cantidad del vehículo no acuoso es indirectamente proporcional a la rata de isomerización, pero la relación de equilibrio *Z/E* final no fue afectada por la cantidad de vehículo no acuoso.

Se prepararon soluciones que contenían 0.06% de 4-hidroxi tamoxifen como se describe en la tabla siguiente:

| | Referencia | Solución II | Solución III | Solución IV |
|-------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|------------------------|
| 10 4-OHT <i>E+Z</i> (g) | 0.048 | 0.048 | 0.048 | 0.048 |
| Miristato (g) | 0.800 | / | / | / |
| Alcohol (g) | Etanol absoluto 53.210 | Etanol absoluto 53.210 | Isopropanol 53.210 | Etanol absoluto 40.000 |
| Regulador Qs (g) | 80.000 | 80.000 | 80.000 | 80.000 |

15 Las soluciones II, III y IV descritas anteriormente se prepararon con el lote 98RD10079 de PANCHIM de 4-hidroxi tamoxifen. La relación *E/Z* inicial fue 63%/37%.

Solución de referencia: Formulación de gel sin el agente gelificante KLUCEL.

Solución II: Solución de referencia sin miristato de isopropilo y que contiene etanol.

Solución III: Solución II con el etanol reemplazado por alcohol isopropílico.

20 Solución IV: Solución II con una relación etanol/regulador de 50/50 en lugar de 66.5/33.5.

Como en el ejemplo 1, la isomerización en cada solución fue seguida a lo largo del tiempo. Las figuras muestran los resultados.

La sustitución del etanol por alcohol isopropílico y eliminar el miristato de isopropilo no tiene un efecto significativo en la cinética reversible del 4-hidroxi tamoxifen.

25 El aumento de la concentración del vehículo acuoso (regulador) desde 33.5% hasta 50% incrementa en gran medida la constante de la rata a 25°C y 30°C. La diferencia es menos pronunciada a 40°C. El incremento en la concentración del regulador incrementa la constante eléctrica de la mezcla y por consiguiente facilita la polarización del grupo hidroxilo y en consecuencia la conjugación del doble enlace del grupo alqueno del 4-hidroxi tamoxifen. El mismo fenómeno se observó al reemplazar el regulador por agua. Es importante también advertir el papel del pH de la solución regulador en la cinética del isomerismo reversible del 4-hidroxi tamoxifen.

Ejemplo de referencia 3:

35 Este ejemplo demuestra los efectos de la temperatura extrema en la isomerización del 4-hidroxi tamoxifen. Las temperaturas extremadamente altas aceleran el proceso de equilibrio, mientras que las temperaturas extremadamente bajas lo ralentizan. Este ejemplo también muestra que la cantidad de vehículo acuoso contenido en la mezcla afecta a la rata de isomerización, como se indica en el Ejemplo 2.

40 Se prepararon dos soluciones que contenían 0.06% de *Z*-4-hidroxi tamoxifen: la solución V y la solución VI. La solución V contenía 4-hidroxi tamoxifen en una solución en etanol puro. La solución VI contenía 4-hidroxi tamoxifen en una mezcla de 66.3% de agua y 33.7% de etanol. La cantidad de isomerización que se produjo en cada solución se observó después de una semana a -20°C, 25°C y 60°C. La tabla siguiente muestra los resultados. Después de una semana, no se observó isomerización a -20°C y 25°C, mientras que un principio de isomerización fue observable a 60°C. En vista de los resultados publicados por Malet *et al.*, fue sorprendente que no fuera detectable isomerización en las soluciones V y VI después de una semana de almacenamiento a -20°C y 25°C.

Tabla 2: Efectos de temperaturas extremas y contenido de alcohol en la isomerización

| | | | | |
|----|----------|-----|------------|-------------|
| | -20 °C | | Solución V | Solución VI |
| 5 | T0 | % E | 0 | 0 |
| | | % Z | 100 | 100 |
| 10 | 1 semana | % E | 0 | 0 |
| | | % Z | 100 | 100 |
| | | | | |
| | 25 °C | | Solución V | Solución VI |
| 15 | T0 | % E | 0 | 0 |
| | | % Z | 100 | 100 |
| 20 | 1 semana | % E | 0 | 0 |
| | | % Z | 100 | 100 |
| | | | | |
| | 60 °C | | Solución V | Solución VI |
| 25 | T0 | % E | 0 | 0 |
| | | % Z | 100 | 100 |
| 30 | 1 semana | % E | 19.0 | 50.6 |
| | | % Z | 81.0 | 49.4 |

20 **Ejemplo de referencia 4:**

Este ejemplo demuestra los efectos de la luz en la isomerización del 4-hidroxi tamoxifen. La cantidad de isomerización que se produjo en cada solución que contenía 0.06% de 4-hidroxi tamoxifen con una relación *E/Z* inicial de 98/2 (en una mezcla de 66% de agua y 34% de etanol) se observó durante 2 horas a temperatura ambiente y a 2 longitudes de onda UV: 380 nm y 254 nm. La Tabla 3 siguiente muestra los resultados.

25 La luz UV acelera el proceso de equilibrio; en efecto, en 5 min es posible observar el proceso de isomerización a temperatura ambiente. A 254 nm, el proceso de isomerización es más rápido que a 380 nm. Además, a 254 nm el fenómeno de isomerización se combina con la degradación de los dos isómeros en impurezas llamadas imp1 e imp2, las cuales son derivados de fenantreno. Así, la relación de isómeros *E/Z* de equilibrio alcanzado bajo luz UV es diferente de 1/1.

30 Tabla 3: Efectos de la luz sobre la isomerización

| 380 nm | T0 | 5 min | 10 min | 15 min | 30 min | 45 min | 1 h | 1h15 | 1 h 30 | 1 h 45 | 2h |
|------------|------|-------|--------|--------|--------|--------|------|------|--------|--------|------|
| % de E | 1.6 | 1.6 | 1.7 | 1.6 | 1.8 | 1.9 | 2.0 | 2.8 | 2.9 | 2.9 | 3.3 |
| % de Z | 98.4 | 98.4 | 98.3 | 98.4 | 98.2 | 98.1 | 98.0 | 97.2 | 97.1 | 97.1 | 96.7 |
| 254 nm | T0 | 5 min | 10 min | 15 min | 30 min | 45 min | 1 h | 1h15 | 1 h 30 | 1 h 45 | 2h |
| % de E | 1.7 | 3.0 | 3.1 | 3.5 | 5.7 | 6.7 | 7.2 | 7.5 | 8.2 | 8.2 | 8.3 |
| % de Z | 98.3 | 91.5 | 90.5 | 86.5 | 74.4 | 65.1 | 56.6 | 52.7 | 43.5 | 38.2 | 32.5 |
| % de imp 1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.3 | 4.3 | 7.8 | 10.2 | 11.4 | 14.0 | 16.5 | 18.2 |
| % de imp 2 | 0.0 | 5.5 | 6.3 | 8.7 | 15.6 | 20.4 | 26.0 | 28.4 | 34.2 | 37.1 | 41.0 |

Ejemplo de referencia 5:

5 Este ejemplo demuestra los efectos del pH sobre la isomerización del 4-hidroxi tamoxifen. La cantidad de isomerización que se produjo en las soluciones que contenían 0.06% de 4-hidroxi tamoxifen con relaciones *E/Z* iniciales de 100/0 o 37/63 se observó durante dos semanas a 40°C. El 4-hidroxi tamoxifen estaba en una mezcla de 66.5% de etanol absoluto, 32.4% de regulador de fosfato (pH 2 a 8) o de carbonato (pH 10) y 1% de miristato de isopropilo. La Tabla 4 siguiente muestra los resultados.

Tabla 4: Efectos del pH sobre la isomerización a 40°C

| Relaciones <i>E/Z</i> iniciales de 100/0 | | | Tiempo 0 | Día 8 | Día 15 | Mes 1 | Mes 2 | Mes 3 |
|--|-------------|-----|----------|-------|--------|-------|-------|-------|
| Regulador a pH 2.2 | pH final 4 | %E | 0.0 | 29.0 | 45.9 | 47.4 | 48.0 | 47.7 |
| | | %Z | 100.0 | 71.0 | 54.1 | 52.6 | 52.0 | 52.3 |
| Regulador a pH 4 | PH final 6 | %E | 0.0 | 12.5 | 34.3 | 43.2 | 48.1 | 48.5 |
| | | %Z | 100.0 | 87.5 | 65.7 | 56.8 | 51.9 | 51.5 |
| Regulador a pH 6 | PH final 7 | %E | 0.0 | 2.9 | 9.6 | 16.6 | 31.3 | 40.8 |
| | | %Z | 100.0 | 97.1 | 90.4 | 83.4 | 68.6 | 59.2 |
| Regulador a pH 8 | PH final 9 | %E | 0.0 | 3.4 | 11.6 | 20.6 | 36.4 | 44.1 |
| | | %Z | 100.0 | 96.6 | 88.4 | 79.4 | 63.6 | 55.9 |
| Regulador a pH 10 | PH final 12 | %E | 0.0 | 48.3 | 48.8 | 48.8 | 48.8 | 48.9 |
| | | % Z | 100.0 | 51.7 | 51.2 | 51.2 | 51.2 | 51.1 |
| Relaciones <i>E/Z</i> iniciales de 37/63 | | | Tiempo 0 | Día 8 | Día 15 | Mes 1 | Mes 2 | Mes 3 |
| Regulador a pH 2.2 | PH final 4 | % E | 62.9 | 52.5 | 48.5 | 48.2 | 48.0 | 48.0 |
| | | % Z | 37.1 | 47.5 | 51.5 | 51.8 | 52.0 | 52.0 |
| Regulador a pH 4 | PH final 6 | % E | 62.9 | 56.8 | 51.0 | 49.4 | 49.0 | 48.5 |
| | | % Z | 37.1 | 43.2 | 49.0 | 50.6 | 51.0 | 51.5 |
| Regulador a pH 6 | PH final 7 | % E | 62.5 | 61.1 | 58.0 | 55.8 | 52.0 | 50.4 |
| | | % Z | 37.5 | 38.9 | 42.0 | 44.2 | 48.0 | 49.6 |
| Regulador a pH 8 | PH final 9 | % E | 62.7 | 60.6 | 56.9 | 54.2 | 50.8 | 49.9 |
| | | % Z | 37.3 | 39.4 | 43.1 | 45.8 | 49.2 | 50.1 |
| Regulador a pH 10 | PH final 12 | % E | 63.4 | 48.5 | 49.0 | 49.0 | 48.8 | 49.0 |
| | | % Z | 36.6 | 51.5 | 51.0 | 51.0 | 51.2 | 51.0 |

10 El pH bajo y alto acelera el proceso de equilibrio. Esto es, cuanto más cercano a neutro (7.0) es el pH, más lento se produce el equilibrio. El pH, sin embargo, aparentemente no afecta significativamente al equilibrio en la relación de los isómeros *E/Z* de aproximadamente 1:1

Ejemplo de referencia 6: Métodos para preparar composiciones farmacéuticas de 4-hidroxi tamoxifen equilibradas en una relación de isómeros *E:Z* de aproximadamente 1:1

Los siguientes ejemplos ilustran la producción de soluciones de 4-hidroxi tamoxifen. Estos métodos conducen ventajosamente a composiciones estables de 4-hidroxi tamoxifen que tienen un relación de isómeros *E:Z* de aproximadamente 1:1.

Método A:

- 5 (i) Se mezclan 0.06 g de 4-hidroxi tamoxifen que contiene ambos isómeros *E* y *Z* a un nivel respectivo de 60/40 con 66.5 g de etanol absoluto y se agita hasta disolverlo completamente a temperatura ambiente;
- (ii) Luego se añade 1.0 g de miristato de isopropilo y se mezcla;
- (iii) Se añaden 32.4 g de un regulador de fosfato acuoso y se mezcla con la solución (el pH final es aproximadamente 9);
- 10 (iv) Finalmente, se transfiere la solución a una frasco de vidrio inactínico y luego se almacena a 25°C/60% de humedad relativa durante 6 meses.

Método B:

- (i) Se mezclan 0.08 g de 4-hidroxi tamoxifen que contiene ambos isómeros *E* y *Z* a un nivel respectivo de 60/40 con 53.2 g de etanol absoluto y se agita hasta su disolución completa a temperatura ambiente;
- 15 (ii) Luego se añaden 0.8 g de miristato de isopropilo y se mezcla;
- (iii) Se añaden 25.9 g de un regulador de fosfato acuoso a la solución (para alcanzar un pH final de 9);
- (iv) Finalmente, se transfiere la solución a un frasco de vidrio inactínico y luego se almacena a 40°C/75% de humedad relativa durante 2 meses.

Método C

- 20 (i) Se mezclan 0.08 g de 4-hidroxi tamoxifen que contiene ambos isómeros *E* y *Z* a un nivel respectivo de 0/100 con 53.2 g de etanol absoluto y se agita a temperatura ambiente hasta su disolución completa;
- (ii) Luego se añaden 0.8 g de miristato de isopropilo y se mezcla;
- (iii) Se añaden 25.9 g de un tampón de fosfato acuoso a la solución (para alcanzar un pH final de 9);
- 25 (iv) Finalmente, se incorpora la solución a un frasco de vidrio inactínico y luego se almacena a 40°C/75% de humedad relativa durante 6 meses.

Método D:

- (i) Se mezclan 0.06 g de 4-hidroxi tamoxifen que contiene ambos isómeros *E* y *Z* a un nivel respectivo de 60/40 con 66.5 g de etanol absoluto y se agita hasta su disolución completa a temperatura ambiente;
- (ii) Se añaden 32.4 g de un regulador de carbonato acuoso y se mezcla con la solución (el pH final es de 12);
- 30 (iii) Finalmente, se transfiere la solución a un frasco de vidrio inactínico y luego se almacena a 40°C durante 15 días.

Publicaciones citadas

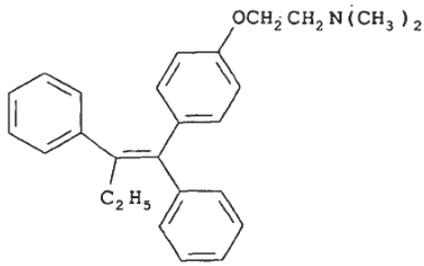
- Atkinson, C., R. Warren, S.A. Bingham, and N.E. Day, Mammographic patterns as a predictive biomarker of breast cancer risk: effect of tamoxifen, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 8: 863-66 (1999).
- 35 Brisson, J., B. Brisson, G. Cote, E. Maunsell, S. Berube, and J. Robert, Tamoxifen and mammographic breast densities, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 9: 911-15 (2000).
- Bronaugh and Maibach, *Percutaneous Absorption: Drugs Cosmetics Mechanisms Methodology*, Marcel Dekker 1999.
- 40 Charlier, C., A. Chariot, N. Antoine, M.P. Merville, J. Gielen, V. Castronovo, Tamoxifen and its active metabolite inhibit growth of estrogen receptor-negative MDA-MB-435 cells, *49(3): 351-8 (1995)*.
- Fentiman, I.S., Tamoxifen and mastalgia. An emerging indication, *Drugs* 32: 477-80 (1986).

- Fentiman, I.S., M. Caleffi, H. Hamed, and M.A. Chaudary, Dosage and duration of tamoxifen treatment for mastalgia: a controlled trial, *British Journal of Surgery* 75: 845-46 (1988).
- Fentiman, I.S., M. Caleffi, H. Hamed, and M.A. Chaudary, Studies of tamoxifen in women with mastalgia, *British Journal of Clinical Practice, Supplement* 68, 43(11): 34-36 (1989).
- 5 Gruntmanis, U. and G.D. Braunstein, Treatment of gynecomastia, *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2:643-649 (2001).
- Hu, D., M.A. Hughes, G.W. Cherry, Topical tamoxifen--a potential therapeutic regimen in treating excessive dermal scarring?, *Br. J. Plast. Surg.*, 50(6): 462-9 (1998).
- Hu, D., X. Zhu, M. Xu, B. Chen, A.H. Margaret, W.C. George, The inhibitory effect of tamoxifen on human dermal fibroblast-populated collagen lattices, *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi*, (18(3): 160-2 (2002).
- 10 Katzenellenbogen, J.A., K.E. Carlson, B.S. Katzenellenbogen, Facile geometric isomerization of phenolic non-steroidal estrogens and antiestrogens: limitations to the interpretation of experiments characterizing the activity of individual isomers, *J. Steroid Biochem*, 22(5): 589-96 (1985).
- Kuiper, G.G.J.M., B. Carlsson, K. Grandien, E. Enmark, J. Heggblad, S. Nilsson, J. Gustafsson, Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β , *Endocrinology*, 138:863-870 (1997).
- 15 Malet C., A. Gompel, P. Spritzer, N Bricourt, NH Yaneva, I. Mowszowicz, F. Kuttén and P Mauvais Jarvis, Tamoxifen and hydroxytamoxifen isomers versus estradiol effects on normal human breast cells in culture, *Cancer Research*, 48: 7193-7199 (1988).
- 20 Malet, C., P. Spritzer, C. Cumins, D. Guillaumin, P. Mauvais-Jarvis, F. Kuttén, Effect of 4-hydroxytamoxifen isomers on growth and ultrastructural aspects of normal human breast epithelial (HBE) cells in culture, *J. Steroid Biochem. & Mol. Bio.*, 82: 289-96 (2002).
- Mauvais-Jarvis, P., N. Baudot, D. Castaigne, P. Banzet, and F. Kuttén, Trans-4-hydroxytamoxifen concentration and metabolism after local percutaneous administration to human breast, *Cancer Research*, 46:1521-1525 (1986).
- 25 Nomura, Y., H. Tashiro, F. Takaeko, Effects of antiestrogens and medroxyprogesterone acetate on the clonogenic growth of tamoxifen-sensitive and resistant human breast cancer cells, *Jpn. J. Cancer Chemotherapy*, 12(4): 844-50 (1985).
- Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, Alfonso R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, pp. 836-858.
- Robertson and Katzenellenbogen, *J. Org. Chem.*, 47: 2387 (1982).
- 30 Robertson, D.W., J.A. Katzenellenbogen, D.J. Long, E.A. Rorke and B.S. Katzenellenbogen, Tamoxifen antiestrogens. A comparison of the activity, pharmacokinetics, and metabolic activation of the cis and trans isomers of tamoxifen, *J. Steroid Biochemistry*, 16(1):1-13 (1982).
- Son, H.J., and K.K. Oh, Significance of follow-up mammography in estimating the effect of tamoxifen in breast cancer patients who have undergone surgery, *American Journal of Roentgenology*, 173: 905-909 (1999).
- 35 Patente de los Estados Unidos No. 5,904,930
- Patente de los Estados Unidos No. 6,172,263
- Solicitud de patente de los Estados Unidos No. 60/433,958 (WO 2004/054558)
- Solicitud de patente de los Estados Unidos No. 60/433,959 (WO 2004/054557)
- Solicitud de patente de los Estados Unidos No. 60/458,963 (WO 2004/087123)

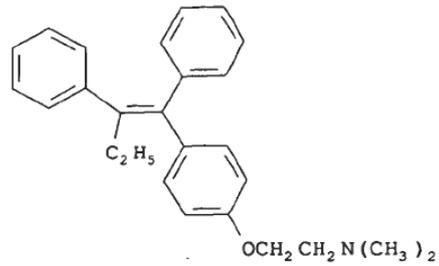
REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica en estado de equilibrio que comprende 4-hidroxi tamoxifen, en donde aproximadamente 45%-55%, aproximadamente 46%-54%, aproximadamente 47%-53%, aproximadamente 48%-52%, aproximadamente 49%-51% o aproximadamente 50% de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *Z* y el resto de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *E*, en donde dicha composición está formulada para administración percutánea y en donde dicho 4-hidroxi tamoxifen no está formulado en una solución hidroalcohólica ni en un gel hidroalcohólico, y en donde dicha composición comprende alcohol.
2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, la cual comprende además un potenciador de penetración, tal como miristato de isopropilo.
3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 o 2, en donde dicho 4-hidroxi tamoxifen es formulado en un parche, una pomada, una crema, o una emulsión (loción).
4. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, la cual comprende además un vehículo acuoso, preferiblemente un vehículo acuoso que regula el pH en el rango de 8 a 10.
5. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, la cual se empaqueta en un paquete de dosis unitaria o en un contenedor de dosis múltiples, tal como un contenedor con una bomba dosificadora.
6. Método de fabricación de una composición farmacéutica, que comprende las etapas de:
- (i) proveer una cantidad determinada de 4-hidroxi tamoxifen;
 - (ii) proveer al menos un excipiente;
 - (iii) combinar dicho 4-hidroxi tamoxifen y dicho al menos un excipiente, formando de este modo una composición farmacéutica;
 - (iv) llevar dicha composición farmacéutica a un estado de equilibrio, en donde aproximadamente 45%-55%, aproximadamente 46%-54%, aproximadamente 47%-53%, aproximadamente 48%-52%, aproximadamente 49%-51% o aproximadamente 50% de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *Z* y el resto de dicho 4-hidroxi tamoxifen existe en una forma isomérica *E*,
- en la cual dicha composición farmacéutica es un gel hidroalcohólico.
- en donde dicha composición farmacéutica comprende un alcohol y no es una solución hidroalcohólica ni un gel hidroalcohólico.
7. El método de la reivindicación 6, en donde la etapa (i) comprende proveer una cantidad determinada de 4-hidroxi tamoxifen en una forma isomérica *Z* y opcionalmente proveer una cantidad determinada de 4-hidroxi tamoxifen en una forma isomérica *E*.
8. El método de la reivindicación 6, en donde dicho excipiente se selecciona del grupo que consiste de agua, reguladores acuosos farmacéuticamente aceptables, potenciadores de la penetración, tales como miristato de isopropilo, agentes gelificantes, aceites, agentes neutralizantes y mezclas de los mismos.
9. El método de la reivindicación 6, en donde dicha composición farmacéutica se selecciona del grupo que consiste de parches, pomadas, cremas o emulsiones (lociones).
10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, que comprende además la etapa de:
- (v) Empacar dicha composición farmacéutica en un paquete de dosis unitaria o en un contenedor de dosis múltiple con una bomba dosificadora.
11. Composición farmacéutica obtenible mediante el proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10.

Figura 1: Isómeros E y Z del Tamoxifen



tamoxifen E



Tamoxifen Z

Figura 2: El isomerismo reversible de 4-hidroxi tamoxifen entre sus formas isoméricas *Z* y *E*

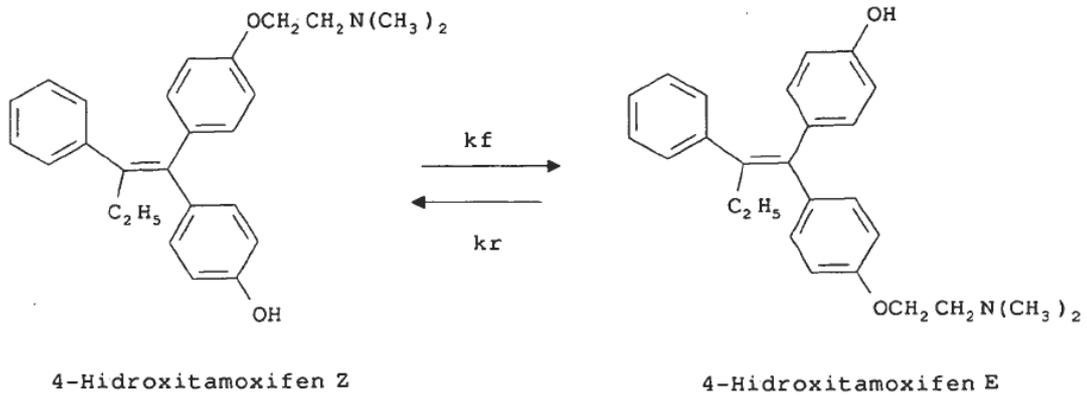


Figura 3: Relación en % de las concentraciones de isómeros para el lote 98RD10079 de PANCHIM a 25°C

Isomerismo E/Z de 4-hidroxi-tamoxifen, lote 98RD10079 de PANCHIM a 25°C

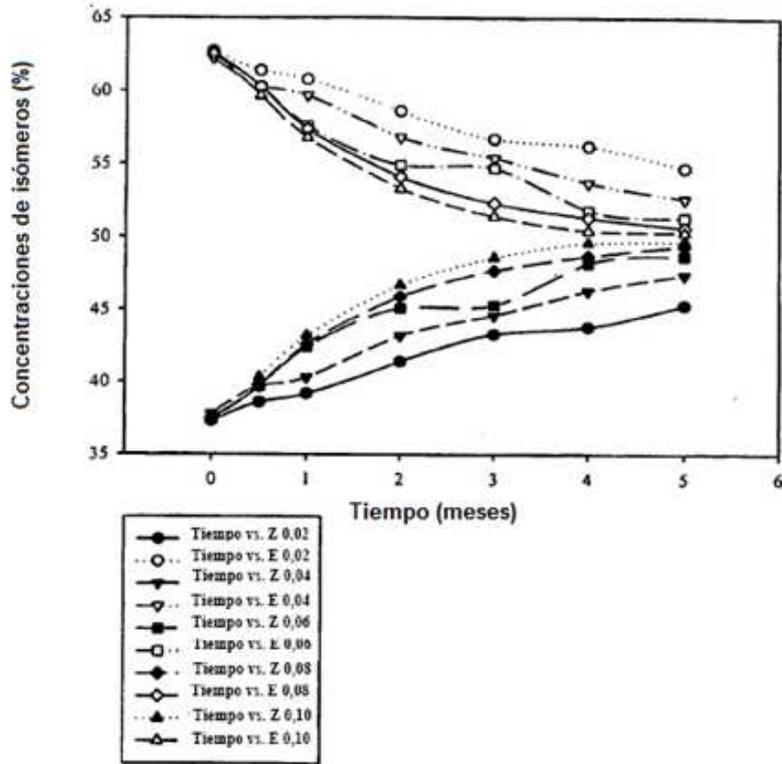


Figura 4: Relación en % de las concentraciones de isómeros para el lote 98RD10079 de PANCHIM a 30°C

Isomerismo reversible E/Z del lote de 4-hidroxi-tamoxifen 98RD10079 de PANCHIM. Temperatura 30°C

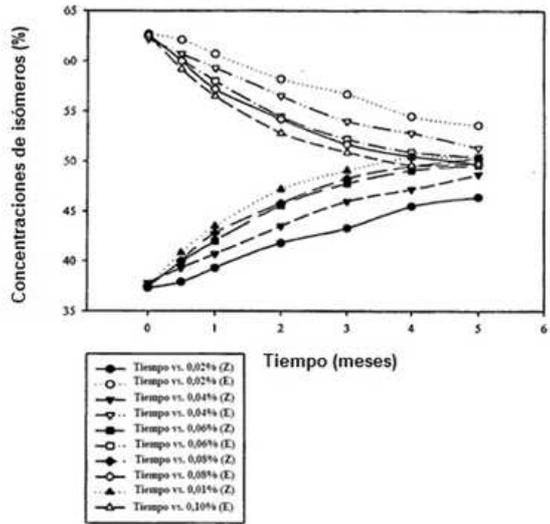


Figura 5: Relación en % de las concentraciones de isómeros para el lote 98RD10079 de PANCHIM a 40°C

Isomerismo reversible E/Z de lote de 4-hidroxi-tamoxifen 98RD10079 de PANCHIM. Temperatura 40°C

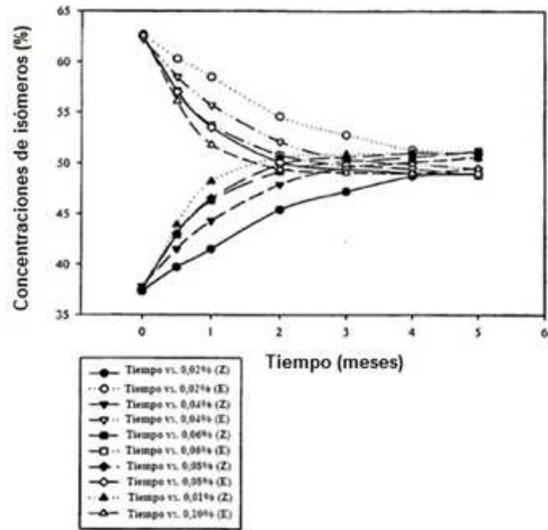


Figura 6: Relación en % de las concentraciones de isómeros para el lote Bx 17 de ICI a 40°C

Isomerismo reversible E/Z del lote de 4-hidroxi-tamoxifen Bx 17 de ICI. Temperatura 40°C

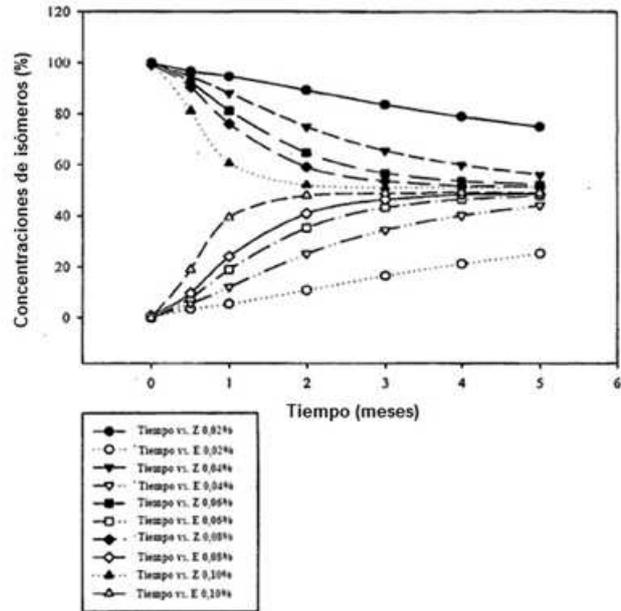
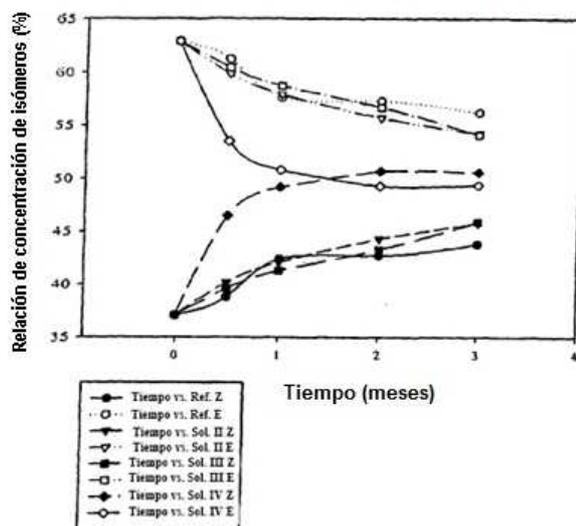


Figura 7: Relación en % de concentraciones de isómeros para soluciones II a IV a 25°C

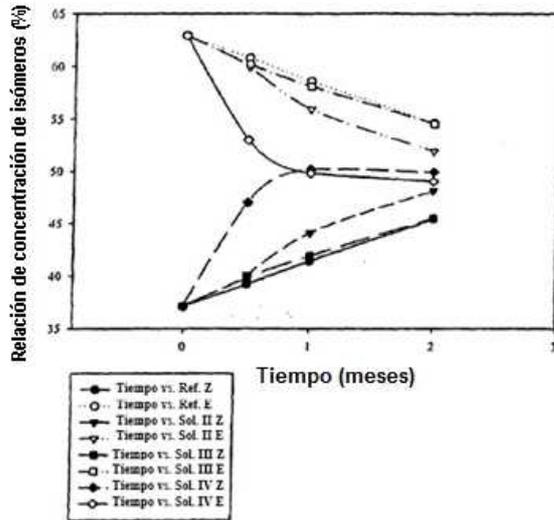
Isomerismo reversible E/Z de 4-hidroxi-tamoxifen, lote 98RD10079 de PANCHIM en función del medio y la temperatura (25°C)



Solución de referencia: Formulación de gel sin agente de gelificación KLUCEL
 Solución II: Solución de referencia sin miristato de isopropilo
 Solución III: Solución II con el alcohol etílico reemplazado por alcohol isopropílico
 Solución IV: Solución II con la relación de concentraciones alcohol **etílico/regulador** 50/50 en lugar de 66,5/33,5.

Figura 8: Relación en % de las concentraciones de isómeros para las soluciones II a IV a 30°C

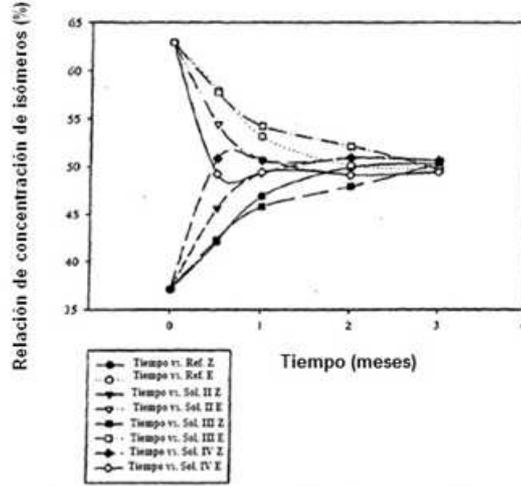
Isomerismo reversible E/Z del lote de 4-hidroxi-tamoxifen 98RD10079 de PANCHIM en función del medio y la temperatura (30°C)



Solución de referencia: Formulación de gel sin agente de gelificación KLUCEL
 Solución II: Solución de referencia sin miristato de isopropilo
 Solución III: Solución II con el alcohol etílico reemplazado por alcohol isopropílico
 Solución IV: Solución II con la relación de concentraciones alcohol etílico/regulador 50/50 en lugar de 66,5/33,5.

Figura 9 : Relación en % de las concentraciones de isómeros para las soluciones II a IV a 40°C

Isomerismo reversible E/Z de lote de 4-hidroxi-tamoxifen 98RD10079 de PANCHIM en función del medio y la temperatura (40°C)



- Solución de referencia: Formulación de gel sin agente de gelificación KLUCEL
- Solución 1: Solución de referencia sin miristato de isopropilo
- Solución 2: Solución 1 con el alcohol etílico reemplazado por alcohol isopropílico
- Solución 3: Solución 1 con la relación de concentraciones alcohol etílico/regulador 50/50 en lugar de 72/25