(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 316 489**

(51) Int. Cl.:
A61K 31/16 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **01989170 .4**
(96) Fecha de presentación : **05.12.2001**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1349545**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **08.10.2003**

(54) Título: **Composiciones farmacéuticas de fenretinida que tienen biodisponibilidad aumentada y métodos de uso de las mismas.**

(30) Prioridad: **05.12.2000 US 251463 P**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2009

(73) Titular/es: **CHILDRENS HOSPITAL LOS ANGELES**
4650 Sunset Boulevard
Los Angeles, California 90027, US

(72) Inventor/es: **Gupta, Shanker;**
Maurer, Barry, James;
Reynolds, C., Patrick y
Vishnuvajjala, B., Rao

(74) Agente: **Lazcano Gainza, Jesús**

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).

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

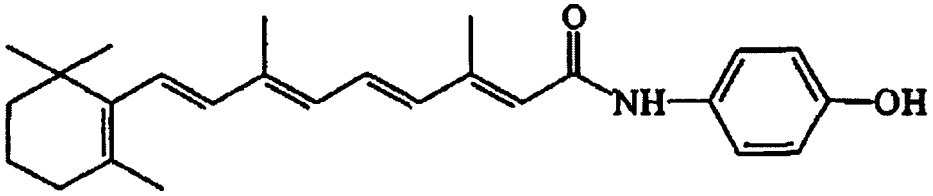
Composiciones farmacéuticas de fenretinida que tienen biodisponibilidad aumentada y métodos de uso de las mismas.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas para administración parenteral de una retinida tal como fenretinida.

Antecedentes de la invención

La fenretinida [HPR; todo trans-N-(4-hidroxifenil)retinamida; número de registro CAS 65646-68-6] es un derivado de ácido retinoico sintético que tiene la estructura:



La fenretinida es mínimamente soluble en disolución acuosa. La patente estadounidense número 4.665.098 de Gibbs describe una composición farmacéutica oral de fenretinida como útil para el tratamiento del cáncer de mama y de vejiga. Sin embargo, la biodisponibilidad de esta composición de fenretinida oral es limitada y podrían obtenerse mayores efectos anticancerígenos si la fenretinida pudiera administrarse por vía intravenosa para lograr niveles plasmáticos superiores del fármaco. Por tanto, en la actualidad sigue habiendo una necesidad de nuevas composiciones farmacológicas de fenretinida para administración parenteral, especialmente intravenosa, que proporcionen tanto solubilidad como biodisponibilidad tisular y plasmática satisfactorias.

Sumario de la invención

La presente invención comprende composiciones farmacéuticas de N-(4-hidroxifenil)retinamida (4-HPR), o análogos de la misma (es decir, retinidas), que pueden proporcionar biodisponibilidad aumentada del principio activo (la retinida). Éstas pueden permitir la administración de cantidades significativamente mayores del principio activo a los pacientes, logrando mayores niveles tisulares y plasmáticos del fármaco en comparación con la administración de la misma cantidad de fármaco en la formulación oral disponible actualmente (Gibbs), y pueden proporcionar una mayor eficacia anticancerígena como agente único y en otras combinaciones farmacológicas anticancerígenas.

Según un primer aspecto de la invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas de la retinida en un aceite de ricino alcoxilado (preferiblemente un aceite de ricino polioxietoxilado tal como CREMOPHOR® EL). Preferiblemente, la composición también incluye un alcohol tal como etanol. Las composiciones pueden prepararse a partir de retinida liofilizada (preferiblemente 4-HPR) o a partir de 4-HPR no liofilizada.

Un segundo aspecto de la presente invención es una composición en emulsión farmacéutica para administración parenteral. La composición comprende, en combinación:

(a) una fase hidrófila (incluida en una cantidad hasta el equilibrio);

(b) un lipoide farmacológicamente aceptable (es decir, aceite) como una fase hidrófoba dispersa como partículas en dicha fase hidrófila (incluido normalmente en dicha composición en una cantidad de desde el 2 hasta el 40 por ciento en volumen por volumen);

(c) una retinida tal como fenretinida (incluida normalmente en dicha composición en una cantidad de desde el 0,01 hasta el 2 por ciento en peso por volumen);

(d) opcionalmente, un disolvente (incluido normalmente en dicha composición en una cantidad de desde el 0 hasta el 10 por ciento en volumen por volumen);

(e) desde el 0,01 hasta el 10 por ciento en peso por volumen de un tensioactivo no iónico en una cantidad suficiente para estabilizar dicha emulsión (normalmente desde aproximadamente el 0,01 hasta el 10 por ciento en peso por volumen de dicha composición); y

(f) opcionalmente, un agente isotónico (incluido normalmente en dicha composición en una cantidad de desde el 0 hasta el 10 por ciento en peso por volumen).

También se dan a conocer métodos para tratar sujetos afectados con un trastorno hiperproliferativo mediante la administración parenteral de tales composiciones.

Los objetos y aspectos anteriores y otros de la presente invención se explican en mayor detalle en los dibujos en el presente documento y en la memoria descriptiva expuesta anteriormente.

Breve descripción de los dibujos

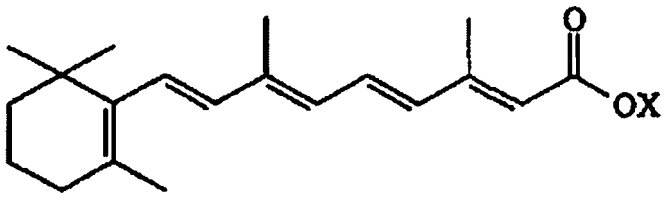
La figura 1 ilustra que la fenretinida solubilizada en Cremophor/etanol (50/50) tal como se da a conocer en el presente documento es eficaz en retrasar el crecimiento de xenoinjertos tumorales humanos en ratones cuando se administran por vía intraperitoneal. Se inyectó a (diez) ratones desnudos (atímicos) inmunocomprometidos por vía subcutánea 50 millones de células tumorales de neuroblastoma humanas SMS-LHN en su tercer pase en serie para formar xenoinjertos tumorales murinos. Los xenoinjertos tumorales subcutáneos tenían un tamaño < 175 mm^3 al comienzo de las inyecciones de fenretinida. Se inyectó a (cinco) ratones desnudos por vía intraperitoneal fenretinida formulada como en el ejemplo 1. Se inyectó a los ratones 0,1 ml de fenretinida (15 mg/ml) en Cremophor/etanol (50/50) diluido con 0,3 ml de NS antes de usarse (1,5 mg de fenretinida en un volumen de 0,4 ml), dos veces al día, durante cinco días comenzando en el Día 0, cada 14 días, durante cuatro ciclos. Se inyectó a (cinco) ratones control volúmenes iguales de Cremophor/etanol, pero sin fenretinida, con el mismo programa. Se midieron regularmente los xenoinjertos tumorales y se calculó el volumen tumoral como (0,5 x altura x anchura x longitud). Se sacrificó a los ratones en el día en que se midió el xenoinjerto tumoral como > 3500 mm^3 o cuando el tumor fue era necrótico. Se representan gráficamente los volúmenes medios como +/- una desviación estándar. Se evaluó la significación estadística de las diferencias en las medias mediante la prueba de la t de Student unilateral para datos independientes, suponiendo una varianza desigual con el uso del software Microsoft© Excel 97. Los valores de P son bilaterales. Los valores de T/C calculados en tiempos hasta alcanzar el volumen tumoral medio (tratados frente a control) fueron > 2000 mm^3. T/C > 200% indica un tratamiento sumamente activo según los criterios aceptados.

Descripción detallada de las reivindicaciones preferidas

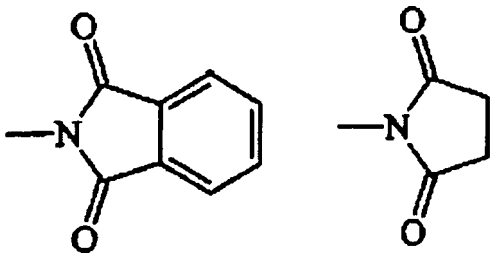
1. *Retinidas*

Las retinidas usadas para llevar a cabo la presente invención son, en general, derivados de ácido retinoico o retinoides que generan ceramidas. Tales compuestos incluyen los descritos en la patente estadounidense número 4.190.594 concedida a Gander. Los retinoides que generan ceramidas incluyen el ácido todo trans-retinoico (ATRA) y derivados del ácido retinoico, incluyendo pero sin limitarse a:

(A) ésteres del ácido todo trans-retinoico que tienen la siguiente fórmula:

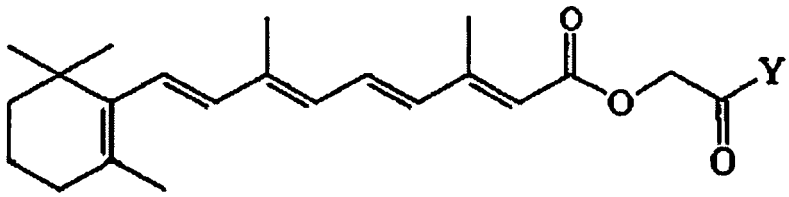


en la que X es un miembro seleccionado del grupo que consiste en:



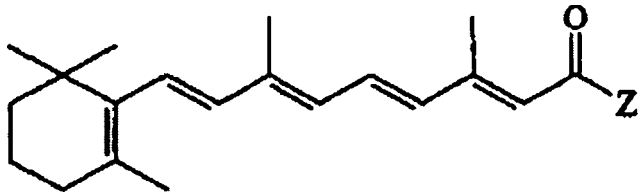
2-ciclohexiletilo; 10-carbometoxidecilo; 4-hidroxibutilo; colesterilo; m y p-vinilbencilo mixto; y 4-bromobencilo;

(B) ésteres del ácido todo trans-retinoico que tienen la siguiente fórmula:

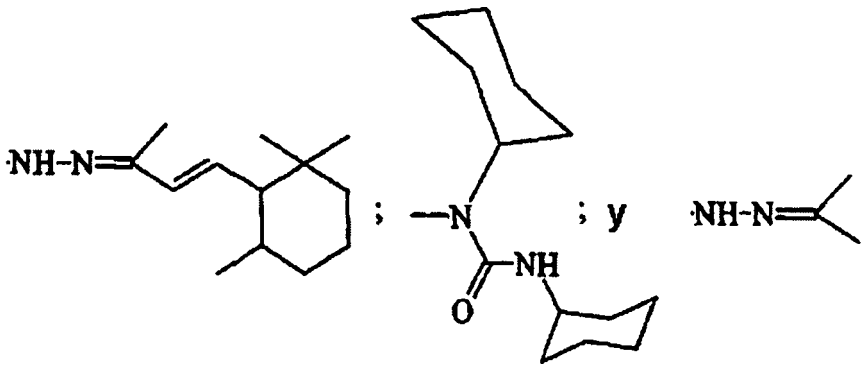


en la que Y es un miembro seleccionado del grupo que consiste en: colesteriloxilo; fenilo; 4-bromofenilo; 4-metoxifenilo; 4-nitrofenilo; 4-hidroxifenilo; 4-metilfenilo; 4-cianofenilo; 4-etoxifenilo; 4-acetoxifenilo; 2-naftilo; 4-bifenilo; 2,5-dimetoxifenilo; 2,4-diclorofenilo; 2,4-dimetilfenilo; 3,4-diacetoxifenilo; 3,4,5-trimetoxifenilo; y 2,4,6-trimetilfenilo; y

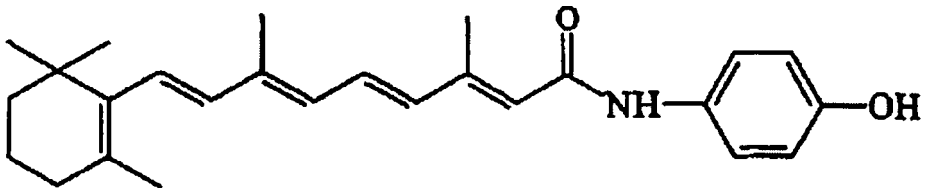
(c) amidas del ácido todo trans-retinoico que tienen la siguiente fórmula:



en la que Z es un miembro seleccionado del grupo que consiste en: n-propilamino; terc-butilamino; 1,1,3,3-tetrametilbutilamino; 1-morfolino; 4-hidroxifenilamino; 4-carbometoxi-2-hidroxifenilamino; beta-(3,4-dimetoxifenil)-etilamino; 2-benzotiazolilamino; 1-imidazolilo; 1-(2-nicotinoilhidrazolilo); 1-benzotriazolilo; 1-(1,2,4-triazolilo);

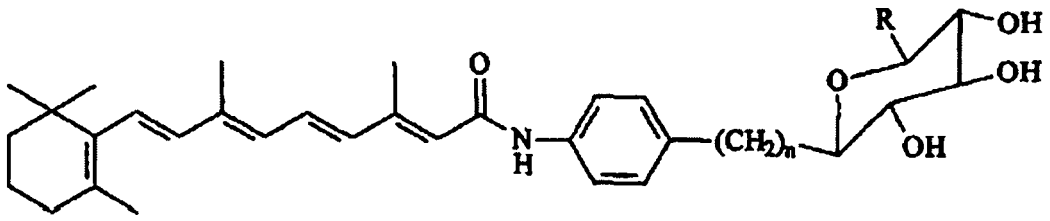


Se prefiere particularmente la todo trans-N-(4-hidroxifenil)retinamida, también denominada fenretinida, que tiene el número de registro CAS 65646-68-6, y tiene la estructura:



Los compuestos anteriores pueden prepararse según técnicas conocidas. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense número 4.190.594 concedida a *et al.*; la patente estadounidense número 4.665.098 concedida Gibbs.

Derivados adicionales de ácido retinoico que pueden usarse para llevar a cabo la presente invención incluyen análogos C-glicosídicos de N-(4-hidroxifenil)retinamida-O-glucurónido. Tales compuestos y su preparación se conocen y se describen en las patentes estadounidenses números 5.663.377 y 5.599.953, concedidas ambas a Curley *et al.* Tales compuestos pueden tener la fórmula general:



en la que R es COOH, CH_2OH o H, y n es 0 ó 1.

Ejemplos específicos de tales compuestos incluyen: 4-(retinamido)fenil-C-glucurónido; 4-(retinamido)fenil-C-glucósido; 4-(retinamido)fenil-C-xilósido; 4-(retinamido)bencil-C-glucurónido; 4-(retinamido)bencil-C-glucósido; 4-(retinamido)bencil-C-xilósido; 1-(*β*-D-glucopiranosil)retinamida; y 1-(D-glucopiranosiluronosil) retinamida.

2. *Aceites de ricino alcoxilados y composiciones*

Los aceites de ricino alcoxilados se conocen y se describen en, por ejemplo, la patente estadounidense número 5.827.522 y la patente estadounidense número 5.504.102 concedidas a Agharkar *et al.* Se prefieren los aceites de ricino polietoxilados.

Los aceites de ricino polietoxilados tal como se describen en la patente estadounidense número 4.960.799 concedida a Nagy y en la patente estadounidense número 5.925.776 concedida a Nikolayev *et al.*,

Un aceite de ricino polietoxilado particularmente preferido para llevar a cabo la presente invención está comercialmente disponible como aceite de ricino de polioxilo-35, que tiene un índice de saponificación de 63 a 72, un índice de hidroxilo de 65 a 78 y un índice de acidez < 2, tal como CREMOPHOR® EL (CTFA/INC: aceite de ricino de PEG-35) (número CAS 61791-12-6) de BASF Corp., 3000 Continental Drive - North, Mount Olive, Nueva Jersey, 07828-1234 EE.UU.

El alcohol empleado en el disolvente puede ser cualquier alcohol adecuado, pero preferiblemente es etanol. En general, el disolvente comprende desde el 30, el 40 o el 45 por ciento en volumen hasta el 55, el 60 o el 70 por ciento en volumen del aceite de ricino alcoxilado, y desde el 30, el 40 o el 45 por ciento en volumen hasta el 55, el 60 o el 70 por ciento en volumen del alcohol. Alternativamente, el disolvente puede ser etanol deshidratado empleado a aproximadamente del 3,8 al 3,9 por ciento en volumen por volumen. En una realización preferida actualmente, el disolvente comprende el 50 por ciento en volumen de aceite de ricino alcoxilado y el 50 por ciento en volumen de alcohol. La retinida se dispersa o se solubiliza en el disolvente en cualquier cantidad adecuada, pero se dispersa o se solubiliza preferiblemente en una cantidad de al menos 0,1, 1,2 ó 5 miligramos de retinida por mililitro de disolvente, hasta 15, 20, 30 ó 40 miligramos de retinida por mililitro de disolvente, o más.

La composición descrita anteriormente puede ser acuosa o no acuosa. Puede incluirse agua en cantidades menores, o puede añadirse o combinarse con la composición en forma de un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como una solución salina o una solución de dextrosa, cuya composición combinada se administra entonces al paciente. Por ejemplo, puede combinarse una composición de la invención que comprende 10 mg/mL de retinida solubilizada en disolvente con solución salina fisiológica o solución de dextrosa al 5% para su administración a un paciente como una disolución de retinida 1 mg/mL.

3. *Composiciones en emulsión*

Tal como se observó anteriormente, un aspecto adicional de la presente invención es una composición en emulsión farmacéutica para administración parenteral. En general, tal composición comprende, en combinación:

(a) una fase hidrófila (incluida en una cantidad hasta el equilibrio);

(b) desde el 2 hasta el 40 por ciento en volumen por volumen de un lipoide farmacológicamente aceptable como una fase hidrófoba dispersa como partículas en dicha fase hidrófila;

(c) desde el 0,01 o el 0,1 hasta el 0,5, el 2 o el 5 por ciento en peso por volumen de una retinida;

(d) desde el 0 hasta el 10 por ciento en volumen por volumen de un disolvente;

(e) desde el 0,01 hasta el 10 por ciento en peso por volumen de un tensioactivo no iónico para estabilizar dicha emulsión; y

(f) desde el 0, el 0,01 o el 0,1 hasta el 3, el 6 o el 10 por ciento en peso por volumen de un agente isotónico.

La composición tiene preferiblemente un pH de aproximadamente 5 a 10, y las partículas en la composición tienen preferiblemente desde aproximadamente 5 ó 50 nanometros de diámetro hasta aproximadamente 400 ó 1000 nanometros de diámetro.

Para llevar a cabo la invención puede usarse cualquier lipoide (o aceite) farmacéuticamente adecuado, incluyendo pero sin limitarse a aceite de soja, aceite de cártamo, aceite de girasol, aceite de borraja, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de linaza, aceite de sésamo, aceite de palmiste, aceite de algodón, triglicéridos de cadena media procedentes de destilados de aceite de coco, aceite de grosella negra y mezclas de los mismos. En general, el lipoide se incluye preferiblemente en una cantidad de desde aproximadamente el 10 hasta el 30 por ciento en volumen por volumen, y es preferiblemente aceite de soja.

En general, el disolvente está ausente, o está presente en una cantidad de al menos el 0,01 por ciento en volumen por volumen. El disolvente se usa para disolver la retinida antes de su adición al aceite para aumentar su solubilidad en el aceite. Entonces, se homogeneiza el aceite que contiene retinida en la fase acuosa. En este punto, se cree que la mayor parte del disolvente deja las micelas de aceite (u otras partículas en fase dispersa) y entra en la fase acuosa, dejando la retinida en la micela de aceite (ya que el agua es mucho más polar que el aceite y el etanol es polar). Puede emplearse cualquier disolvente adecuado, incluyendo pero sin limitarse a etanol, dimetilsulfóxido (DMSO) y etilacetamida (DMA). En una realización preferida, el disolvente es etanol y está incluido a aproximadamente del 0,01 al 5,0 por ciento en volumen por volumen. Debe observarse que podría volatilizarse el disolvente posteriormente a la adición de la retinida al aceite para eliminar el disolvente de la misma.

Tensioactivos no iónicos adecuados incluyen pero no se limitan a fosfolípidos de huevo, ésteres de ácido graso de polioxietileno (Tween), los copolímeros de bloque de polioxipropileno y polioxietileno, conocidos también como poloxámeros, conocidos también como Pluronic, combinaciones de los mismos, etc. En una realización preferida, el tensioactivo no iónico es fosfolípido de huevo a aproximadamente el 2 por ciento en peso por volumen.

Puede usarse cualquier agente isotónico adecuado. Cuando se emplean los agentes isotónicos, normalmente se usan en cantidades de aproximadamente el 0,8 al 8 por ciento en peso por volumen. Estos agentes regulan la presión osmótica para hacer que la emulsión sea isotónica con la sangre del sujeto deseado. Ejemplos de agentes isotónicos incluyen glicerina, y alcoholes de azúcar tales como xilitol, sorbitol y manitol. Otros ejemplos de agentes isotónicos incluyen aminoácidos no polares tales como alanina, aminoácidos básicos tales como histidina y/o aminoácidos polares no cargados tales como glicina. Actualmente se prefiere glicerina a aproximadamente el 1 por ciento en peso por volumen.

En una realización específica de lo anterior, la retinida se incluye en la composición, a aproximadamente del 0,1 al 0,5 por ciento en peso por volumen, el disolvente es etanol deshidratado a del 0,0 o el 0,01 al 5,0 por ciento en volumen por volumen, la cantidad de dicho lipoide es de aproximadamente el 10 al 30 por ciento en volumen por volumen, la cantidad de fosfolípidos de huevo es de aproximadamente el 1 al 5 por ciento en peso por volumen, el agente isotónico es glicerina a aproximadamente el 1 por ciento en peso por volumen y el pH es de desde 5 hasta 10.

Los diversos componentes descritos anteriormente pueden combinarse y mezclarse según técnicas conocidas para la preparación de emulsiones y se facilitan en un vial o envase estéril para su administración posterior según técnicas conocidas y tal como se trata adicionalmente a continuación.

4. *Tratamiento y administración*

La presente composición puede administrarse para el tratamiento de trastornos hiperproliferativos tales como tumores, cánceres y trastornos neoplásicos, así como trastornos hiperproliferativos premalignos y no neoplásicos o no malignos.

Los sujetos que van a tratarse mediante las composiciones y los métodos descritos en el presente documento son, en general, sujetos mamíferos, incluyendo tanto sujetos humanos como sujetos animales, tales como perros, gatos, caballos, etc., para fines veterinarios.

Ejemplos de tumores, cánceres y tejido neoplásico que pueden tratarse mediante la presente invención incluyen pero no se limitan a trastornos malignos tales como cánceres de mama; osteosarcomas; angiosarcomas; fibrosarco-

mas y otros sarcomas; leucemias; linfomas; tumores sinusales; cánceres de ovario, uretra, vejiga, próstata y otros cánceres genitourinarios; cánceres de colon, esófago y estómago y otros cánceres gastrointestinales; cánceres de pulmón; mielomas; cánceres pancreáticos; cánceres hepáticos; cánceres renales; cánceres endocrinos; cánceres de piel; y tumores cerebrales o del sistema nervioso central (SNC) y periférico, malignos o benignos, incluyendo gliomas y neuroblastomas.

Ejemplos de trastornos hiperproliferativos premalignos y no neoplásicos o no malignos incluyen pero no se limitan a trastornos mielodisplásicos; carcinoma cervical *in situ*; poliposis intestinal familiar tal como el síndrome de Gardner; leucoplaquias orales; histiocitosis; queloides; hemangiomas; estenosis arterial hiperproliferativa, artritis inflamatoria; hiperqueratosis y erupciones papuloescamosas incluyendo artritis. También se incluyen enfermedades hiperproliferativas inducidas por virus tales como verrugas y enfermedades inducidas por el VEB (es decir, mononucleosis infecciosa), formación de cicatrices y similares. Los métodos de tratamiento dados a conocer en el presente documento pueden emplearse con cualquier sujeto que se sabe o se sospecha que tiene o que está en riesgo de desarrollar un trastorno hiperproliferativo tal como se define en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, "tratamiento" de un trastorno hiperproliferativo se refiere a métodos de eliminar, inhibir o ralentizar el crecimiento o el aumento de tamaño de un cuerpo o una población de células hiperproliferativas o el crecimiento tumoral o canceroso, reduciendo el número de células hiperproliferativas, o evitando la propagación a otros sitios anatómicos, así como reduciendo el tamaño de un crecimiento hiperproliferativo o el número de células hiperproliferativas. Tal como se usa en el presente documento, "tratamiento" no significa necesariamente que implica la cura o la supresión completa de los crecimientos hiperproliferativos. Tal como se usa en el presente documento, una cantidad eficaz para el tratamiento es una cantidad eficaz para dar como resultado la eliminación, la ralentización de la tasa de crecimiento de las células hiperproliferativas, la disminución en el tamaño de un cuerpo de células hiperproliferativas y/o la reducción en el número de células hiperproliferativas.

La dosificación terapéuticamente eficaz de cualquier principio activo, cuyo uso está dentro del alcance de la presente invención, variará algo de un compuesto a otro, de un paciente a otro, y dependerá de factores tales como el estado del paciente y la vía de administración. Tales dosificaciones puede determinarse según procedimientos farmacológicos de rutina conocidos por los expertos en la técnica, particularmente a la luz de la descripción proporcionada en el presente documento. Para la fenretinida, se emplea una dosis para lograr un nivel plasmático de aproximadamente 1 μM a 10 ó 50 μM, o mayor.

Las composiciones descritas en el presente documento pueden administrarse por vía parenteral mediante cualquier técnica adecuada, incluyendo infusión o inyección intravenosa, intraarterial, intratecal, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal.

Las composiciones descritas en el presente documento pueden usarse en terapias de combinación, tal como se describe en B. Maurer *et al.*, solicitud PCT WO 00/00207 (6 de enero de 2000) y en B. Maurer *et al.*, solicitud de patente estadounidense con número de serie 09/471.944 (presentada el 23 de diciembre de 1999).

La presente invención se explica en mayor detalle en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

Formulaciones en diluyente 12

El diluyente 12 es una mezcla 50:50 v/v de alcohol absoluto (etanol) y Cremophor EL, aceite de ricino polioxietoxilado, USP. El fármaco puede disolverse fácilmente en el diluyente 12 a una concentración de 10 mg/mL. Es posible preparar disoluciones de hasta 15 mg/mL usando etanol/Cremophor EL (diluyente 12) 50/50. Pueden ser posibles disoluciones con concentraciones superiores de fenretinida utilizando una razón superior de etanol con respecto a Cremophor EL (por ejemplo: 55% de etanol: 45% de Cremophor EL).

La disolución de fármaco en etanol/Cremophor EL (diluyente 12) 50:50 v/v se prepara disolviendo fenretinida en el volumen requerido de alcohol con agitación y añadiendo la cantidad apropiada de Cremophor EL. La disolución resultante es estable a temperatura ambiente y refrigerada durante hasta 3 meses sin pérdida significativa de potencia ni acumulación de impurezas. Hay una pérdida mínima de potencia del fármaco a temperaturas en condiciones aceleradas tales como 40ºC, aproximadamente el 3% al final de los 3 meses.

La formulación anterior puede diluirse convenientemente en disolución de cloruro de sodio al 0,9% (solución salina normal, USP) o solución de dextrosa al 5%, USP para dar una disolución 1 mg/mL, que es estable durante 4 días sin pérdida de potencia de la disolución.

También es posible liofilizar las formulaciones de fenretinida a partir de disoluciones de t-butanol/agua. La concentración de t-butanol puede variarse desde el 5% hasta el 95%. El polvo amorfo resultante puede reconstituirse usando el diluyente 12 y puede diluirse adicionalmente en disoluciones para infusión utilizadas normalmente, tales como solución salina normal y dextrosa al 5%. El polvo liofilizado es estable a temperatura ambiente.

Ejemplo 2

Formulaciones en emulsión de fenretidina

Se prepararon formulaciones en emulsión de aceite en agua de fenretinida usando fosfolípido. El procedimiento de formulación es tal como sigue.

Se disuelve el fármaco en alcohol y se añade a la fase oleosa de la emulsión. Se preparara una fase acuosa en un vaso de precipitados separado dispersando una cantidad discontinua de fosfolípido de huevo en disolución de agua/glicerina. Se ajusta el pH de la fase acuosa entre 5 y 7 usando hidróxido de sodio. Se añade la fase acuosa a la fase oleosa mediante agitación. Se homogeneiza la emulsión resultante para dar una emulsión de aceite/agua con una concentración final de fenretinida, variablemente, de 1 mg/ml (0,1%) o 2 mg/ml (0,2%), una concentración final de etanol del 3,9% o el 3,8%, respectivamente, una concentración final de fosfolípido de huevo del 2%, una concentración final de glicerina del 1%, un pH de 7,2 - 7,4, y un tamaño de partícula en el intervalo de 50 - 400 nanometros.

Se monitorizó la estabilidad de estas emulsiones y se encontró que las emulsiones eran estables durante más de 1 mes a temperatura refrigerada sin cambios en la potencia ni en el tamaño de partícula. Hay un cambio mínimo en el tamaño de partícula y en la potencia a temperatura en condiciones aceleradas, tal como a temperatura ambiente.

Ejemplo 3

Ensayo de fenretinida

El ensayo es una modificación del método de Formelli *et al*, (J Clin Oncol, 11:2036-2042, 1993). Se miden concentraciones de 4-HPR mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Todos los procedimientos se realizan bajo luz amarilla indirecta. Se preparan patrones de reserva en MeOH:CAN 1:1 y se almacenan a -70ºC. Se preparan patrones para garantía de calidad en plasma heparinizado normal y se almacenan a -70ºC. Se preparan muestras animales y de QA y patrones en microtubos de color ámbar silanizados y se mantienen en la oscuridad y fríos lo máximo posible. Se extraen muestras de plasma y tejidos con MeOH:CAN para la fenretinida administrada por vía oral (formulación de Gibbs) o para la fenretinida administrada por vía inraperitoneal. Se extrajeron muestras de plasma tomadas de animales tratados por vía intraperitoneal con fenretinida emulsionada con MeOH:cloroformo:agua para garantizar la alteración de la emulsión y la liberación de fenretinida. Se preparan muestras para la curva patrón mediante adiciones conocidas de la cantidad apropiada de los patrones de reserva en 500 μL de plasma heparinizado normal que contiene el patrón interno, N-(4-etoxifenil)retinamida (4-EPR). Se precipitan las proteínas mediante la adición de 100 μL de fosfato de potasio saturado helado y 900 μL de acetonitrilo helado. Tras la centrifugación, se añade el sobrenadante a viales de autoinyección de color ámbar y se mantienen en la oscuridad a temperatura ambiente hasta que se analizan. Se inyectan 50 μL de sobrenadante en un sistema de cromatógrafo de líquidos Shimadzu equipado con una columna un Phenomenex Luna C18(2) y una precolumna Brownlee RP-18. La fase móvil consiste en acetonitrilo:agua:ácido acético glacial (80:18:2, v/v/v) bombeada a una velocidad de flujo de 1 mL/minuto. Se realiza la detección a una longitud de onda de 340 nm, lo que permite una buena sensibilidad para los retinoides de interés. Se someten a ensayo de la misma manera las muestras de plasma del paciente y para garantía de calidad. Los niveles endógenos de retinol en el plasma normal complican el análisis, por lo que se prepara una curva patrón para el retinol en 5% de albúmina sérica bovina (BSA) y se tratan como muestras de plasma.

Ejemplos 4-10

Estudios farmacodinámicos y de citotoxicidad

Los ejemplos 4 a 10 se ilustran mediante las tablas 1 - 3, figura 1, y las tablas 4 - 6, respectivamente. Estos ejemplos se llevaron a cabo con los procedimientos descritos en general en el ejemplo 3 anterior. Los ejemplos 4 - 7 comparan la administración de fenretinida solubilizada en Cremophor tal como se describió en el ejemplo 1 en comparación con la administración de fenretinida según el método de Gibbs, mientras que los ejemplos 8 - 10 comparan la administración de emulsiones que contienen fenretinida tal como se describió en el ejemplo 2 en comparación con la administración de fenretinida según la formulación de Gibbs.

La tabla 1 ilustra que la fenretinida solubilizada en Cremophor/etanol (50/50) tal como se da a conocer en el presente documento logró niveles plasmáticos superiores cuando se administró por vía intraperitoneal en ratones durante 2 ó 4 días que una dosis igual de fenretinida administrada por vía oral (formulación de Gibbs) en ratones durante 5 días. O bien se inyectó a ratones (ratones atímicos/desnudos) por vía intraperitoneal 1,5 mg de fenretinida dos veces al día durante 2 ó 4 días, o bien se les suministraron 1,5 mg de fenretinida por vía oral (ratones Balb/C) dos veces al día durante 5 días. Se sacrificó a los animales y se sometieron a ensayo 4 horas tras su última dosis. Se sometieron a ensayo los niveles plasmáticos de fármaco como anteriormente. Antes de la administración de fenretinida, se inyectó a ratones desnudos (atímicos) inmunocomprometidos por vía subcutánea 5 millones de células tumorales de glioma de rata C6, 50 millones de células tumorales de neuroblastoma humanas KCNR o 50 millones de células tumorales neuroectodérmicas primitivas (PNET) humanas SK-N-MC, para formar xenoinjertos tumorales murinos. Los xenoin-

jertos tumorales subcutáneos tenían aproximadamente 200 - 400 mm^3 de tamaño al comienzo de las inyecciones de fenretinida. Se inyectó a ratones desnudos (cinco o seis cada uno) fenretinida en Cremophor/etanol (50/50), se sacrificaron tras 4 inyecciones (2 días) u 8 inyecciones (4 días). Para las inyecciones intraperitoneales, se diluyeron 0,1 ml de fenretinida (15 mg/ml) en Cremophor/etanol (50/50) con 0,3 ml de NS antes de usarse (1,5 mg de fenretinida en 0,4 ml de volumen). Para los ratones a los que se dosificó por vía oral, se expresó y se sometió a ensayo el contenido de las cápsulas que contienen fenretinida oral disponibles actualmente (formuladas según la manera de Gibbs) para determinar la concentración de fenretinida como anteriormente. Entonces se suministró a los ratones 1,5 mg de fenretinida en ~0,1 g de manteca de cacahuete dos veces al día, durante cinco días, y luego se sacrificaron. En la tabla 2 y en la tabla 3 a continuación se notifican los niveles de fármaco en el xenoinjerto de tumor y/o tejido de estos animales (ejemplos 5 y 6). La fenretinida tiene una semivida notificada de ~12 - 16 horas en roedores (Kelloff, G.J., *et al*., (1994) "Clinical Development Plan: N-(4-hydroxyphenyl)retinamide." J Cell Biochem supl. 20:176-96). Se notifican las medias +/- una desviación estándar. Se evaluó la significación estadística de las diferencias en las medias mediante la prueba de la t de Student unilateral, para datos independientes, suponiendo una varianza desigual con el uso del software Microsoft© Excel 97. Todos los valores de P son unilaterales.

La tabla 2 ilustra que la fenretinida solubilizada en Cremophor/etanol (50/50) tal como se da a conocer en el presente documento logró niveles tisulares superiores cuando se administró por vía intraperitoneal durante 2 ó 4 días en ratones que una dosis igual de fenretinida administrada por vía oral (formulación de Gibbs) en ratones durante 5 días. O bien se inyectó a ratones (ratones atímicos/desnudos) por vía intraperitoneal 1,5 mg de fenretinida dos veces al día durante 2 ó 4 días, o bien se les suministraron 1,5 mg de fenretinida (ratones Balb/C) por vía oral dos veces al día durante 5 días. Se sacrificó a los animales y se sometieron a ensayo 4 horas tras su última dosis. Se sometieron a ensayo los niveles tisulares de fármaco como anteriormente. Antes de la administración de fenretinida, se inyectó a ratones desnudos (atímicos) inmunocomprometidos por vía subcutánea 5 millones de células tumorales de glioma de rata C6, 50 millones de células tumorales de neuroblastoma humanas KCNR o 50 millones de células tumorales neuroectodérmicas primitivas (PNET) humanas SK-N-MC, para formar xenoinjertos tumorales murinos. Los xenoinjertos tumorales subcutáneos tenían aproximadamente 200 - 400 mm^3 de tamaño al comienzo de las inyecciones de fenretinida. En la tabla 1 (ejemplo 4) anterior se facilitan detalles de la administración del fármaco. Los datos de xenoinjertos de tumor y tejido son de los mismos ratones para los que se notifican datos plasmáticos en la tabla 1 (ejemplo 4) anterior. La fenretinida tiene una semivida notificada de ~12 - 16 horas en roedores (Kelloff, G.J., *et al*., (1994) "Clinical Development Plan: N-(4-hydroxyphenyl)retinamide." J Cell Biochem supl. 20:176-96). Se notifican las medias +/- una desviación estándar. Se evaluó la significación estadística de las diferencias en las medias mediante la prueba de la t de Student para datos independientes, suponiendo una varianza desigual con el uso del software Microsoft© Excel 97. Todos los valores de P son unilaterales.

La tabla 3 ilustra que la fenretinida solubilizada en Cremophor/etanol (50/50) tal como se da a conocer en el presente documento obtuvo niveles de fármaco en xenoinjertos tumorales cuando se administró por vía intraperitoneal en ratones durante o bien 2 o bien 4 días. Se inyectó a ratones (atímicos/desnudos) por vía intraperitoneal 1,5 mg de fenretinida dos veces al día durante 2 ó 4 días. Se sacrificó a los animales y se sometieron a ensayo 4 horas tras su última dosis. Se sometieron a ensayo los niveles tisulares de fármaco como anteriormente. Antes de la administración de fenretinida, se inyectó a ratones desnudos inmunocomprometidos por vía subcutánea 5 millones de células tumorales de glioma de rata C6, 50 millones de células tumorales de neuroblastoma humanas KCNR o 50 millones de células tumorales neuroectodérmicas primitivas (PNET) humanas SK-N-MC, para formar xenoinjertos murinos. Los xenoinjertos tumorales subcutáneos tenían aproximadamente 200 - 400 mm^3 de tamaño al comienzo de las inyecciones de fenretinida. Se facilitan detalles de la administración del fármaco en la tabla 1 (ejemplo 4) anterior. Los datos de xenoinjertos de tumor y tejido son de los mismos ratones para los que se notifican datos plasmáticos en la tabla 1 (ejemplo 4) anterior. La fenretinida tiene una semivida notificada de ~12 - 16 horas en roedores (Kelloff, G.J., *et al*., (1994) "Clinical Development Plan: N-(4-hydroxyphenyl)retinamide". J Cell Biochem supl. 20:176-96). Se notifican las medias +/- una desviación estándar.

La fenretinida solubilizada en Cremophor/etanol (50/50) tal como se da a conocer en el presente documento es eficaz en el retraso del crecimiento de xenoinjertos tumorales humanos en ratones cuando se administraron por vía intraperitoneal tal como se muestra en la figura 1. Se inyectó a (diez) ratones desnudos (atímicos) inmunocomprometidos por vía subcutánea 50 millones de células tumorales de neuroblastoma humanas SMS-LHN en su 3º pase en serie para formar xenoinjertos tumorales murinos. Los xenoinjertos tumorales subcutáneos tenían <175 mm^3 de tamaño al final de las inyecciones de fenretinida. Se inyectó a (cinco) ratones desnudos por vía intraperitoneal fenretinida formulada como en el ejemplo 1. Se inyectó a los ratones 0,1 ml de fenretinida (15 mg/ml) en Cremophor/etanol (50/50) diluida con 0,3 ml de NS antes de usarse (1,5 mg de fenretinida en un volumen de 0,4 ml), dos veces al día, durante cinco días comenzando en el Día 0, cada 14 días, durante cuatro ciclos. Se inyectó a (cinco) ratones control volúmenes iguales de Cremophor/etanol, pero sin fenretinida, con el mismo programa. Se midieron regularmente los xenoinjertos tumorales, y se calculó el volumen tumoral como (0,5' x altura x anchura x longitud). Se sacrificó a los ratones en el día en que se midió el xenoinjerto tumoral como > 3500 mm^3 o cuando el tumor fue necrótico. Se representan gráficamente los volúmenes medios como +/- una desviación estándar. Se evaluó la significación estadística de las diferencias en las medias mediante la prueba de la t de Student unilateral para datos independientes, suponiendo una varianza desigual con el uso del software Microsoft© Excel 97. Los valores de P son bilaterales. Los valores de T/C calculados en tiempos hasta alcanzar el volumen tumoral medio (tratados frente a control) fueron > 2000 mm^3. T/C > 200% indica un tratamiento sumamente activo según los criterios aceptados.

La tabla 4 ilustra que las emulsiones que contienen fenretinida tal como se dan a conocer en el presente documento lograron niveles plasmáticos de fenretinida superiores en ratones cuando se les administró por vía intraperitoneal que una dosis mayor de fenretinida cuando se administró por vía oral (formulación de Gibbs). O bien se inyectó a ratones (ratones atímicos/desnudos) por vía intraperitoneal (i.p.) la emulsión que contiene fenretinida del ejemplo 2 (2 mg/ml) (1,0 mg de fenretinida, i.p., dos veces al día, durante 2 ó 4 días), o bien se suministró a ratones (ratones Balb/C) la formulación de fenretinida oral de Gibbs (1,5 mg, por vía oral, dos veces al día, durante 5 días). Se sacrificó a los animales y se les sometió a ensayo 4 horas tras su última dosis. Se sometieron a ensayo los niveles plasmáticos de fenretinida como anteriormente. Se sacrificó a los ratones a los que se inyectó fenretinida emulsionada tras 4 inyecciones (2 días) u 8 inyecciones (4 días). Para los ratones dosificados por vía oral, se expresó y se sometió a ensayo el contenido de las cápsulas que contienen fenretinida formuladas según la manera de Gibbs para determinar la concentración de fenretinida como anteriormente. Entonces se suministró a los ratones 1,5 mg de fenretinida en ~0,1 g de manteca de cacahuete, dos veces al día, durante cinco días, y luego se sacrificaron. En la tabla 4, se comparan los niveles plasmáticos de fenretinida que resultan de la administración de la fenretinida emulsionada del ejemplo 2 y de la formulación oral de Gibbs. Se notifican los niveles tisulares de estos animales en la tabla 5 (ejemplo 9) a continuación. La fenretinida tiene una semivida notificada de ~ 12 - 16 horas en roedores (Kelloff, G.J., *et al*., (1994) "Clinical Development Plan: N-(4-hydroxyphenyl)retinamide." J Cell Biochem supl. 20:176-96). Se evaluó la significación estadística de las diferencias en las medias mediante la prueba de la t de Student para datos independientes suponiendo una varianza desigual con el uso del software Microsoft© Excel 97. Los valores de P son unilaterales.

La tabla 5 ilustra que las emulsiones que contienen fenretinida tal como se dan a conocer en el presente documento lograron niveles tisulares superiores cuando se administraron por vía intraperitoneal en ratones que una dosis mayor de fenretinida administrada por vía oral (formulación de Gibss). Se inyectó a ratones (ratones atímicos/desnudos) por vía intraperitoneal la emulsión que contiene fenretinida del ejemplo 2 (2 mg/ml) (1,0 mg de fenretinida, i.p., dos veces al día, durante 2 ó 4 días), o se suministró a los ratones (ratones Balb/C) la formulación de fenretinida oral de Gibbs (1,5 mg, por vía oral, dos veces al día, durante 5 días). Se sacrificó a los animales y se sometieron a ensayo 4 horas tras su última dosis. Se sometieron a ensayo los niveles plasmáticos de fenretinida como anteriormente. Se sacrificó a los ratones a los que se inyectó fenretinida emulsionada tras 4 inyecciones (2 días) u 8 inyecciones (4 días). Para los ratones dosificados por vía oral, se expresó y se sometió a ensayo el contenido de las cápsulas que contienen fenretinida formuladas según la manera de Gibbs para determinar la concentración de fenretinida como anteriormente. Entonces se suministró a los ratones 1,5 mg de fenretinida en ~0,1 g de manteca de cacahuete dos veces al día, durante cinco días, y luego se sacrificaron. En la tabla 5, se comparan los niveles tisulares de fenretinida que resultan de la administración de la fenretinida emulsionada del ejemplo 2 y de la formulación oral de Gibbs. La fenretinida tiene una semivida notificada de ~ 12 - 16 horas en roedores (Kelloff, G.J., *et al*., (1994) "Clinical Development Plan: N-(4-hydroxyphenyl)retinamide." J Cell Biochem supl. 20:176-96). Se evaluó la significación estadística de las diferencias en las medias mediante la prueba de la t de Student para datos independientes suponiendo una varianza desigual con el uso del software Microsoft© Excel 97. Los valores de P son unilaterales.

La tabla 6 ilustra que las emulsiones que contienen fenretinida tal como se dan a conocer en el presente documento obtuvieron niveles de fármaco en xenoinjertos de cáncer murino cuando se administraron por vía intraperitoneal. Cinco días antes de la administración de fenretinida, se inyectó a ratones desnudos (atímicos) inmunocomprometidos por vía subcutánea 5 millones de células tumorales de glioma de rata C6. Los xenoinjertos tumorales subcutáneos tenían aproximadamente 300 - 400 mm^3 de tamaño al comienzo de las inyecciones de fenretinida. Se inyectó a ratones (ratones atímicos/desnudos) por vía intraperitoneal la emulsión que contiene fenretinida del ejemplo 2 (2 mg/ml) (1,0 mg de fenretinida, i.p., dos veces al día) durante 2 ó 4 días. Se sacrificó a los animales y se sometieron a ensayo 4 horas tras su última dosis. Se sometieron a ensayo los niveles de fármaco en el xenoinjerto de tumor como anteriormente, y se muestran en la tabla 6. Los datos de xenoinjerto de tumor son de los mismos ratones para los que se notifican datos de tejido y plasma en las tablas 4 y 5 (ejemplos 8 y 9) anteriores. La fenretinida tiene una semivida notificada de ~ 12 - 16 horas en roedores (Kelloff, G.J., *et al*., (1994) "Clinical Development Plan: N-(4-hydroxyphenyl)retinamide". J Cell Biochem supl. 20:176-96).

TABLA 1

Niveles de fenretinida en plasma

Cremophor/etanol, 1,5 mg de fenretinida, i.p., dos veces al día, durante 2 ó 4 días frente a oral (formulación de Gibbs), 1,5 mg de fenretinida, v.o., dos veces al día, durante 5 días

Niveles plasmáticos de xenoinjerto de C6 (µM) i.p. Cremophor/etanol			Niveles plasmáticos de xenoinjerto de KCNR (µM) i.p. Cremophor/etanol			Niveles plasmáticos de xenoinjerto de SK-N-MC (µM) i.p. Cremophor/etanol		
ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 2	Día 4
1	0,7	23,8	1	45,6	48,6	1	0,2	151,2
2	27,0	12,6	2	201,1	17,8	2	11,5	225,8
3	14,7	15,5	3	22,3	218,0	3	20,7	32,2
4	27,5	17,0	4	31,5	3,2	4	48,8	66,4
5	10,1	15,6	5	20,4	64,2	5	12,8	108,7
6		43,6						
media	16+/- 11	21+/- 12*	media	64+/- 77	70+/- 86**	media	19+/- 18	117+/- 76***
*Niveles i.p. en el día 2 > niveles orales en el día 5, P = 0,02			**Niveles i.p. en el día 2 > niveles orales en el día 5, P = 0,07			***Niveles i.p. en el día 2 > niveles orales en el día 5, P = 0,05		
*Niveles i.p. en el día 4 > niveles orales en el día 5, P < 0,01			**Niveles i.p. en el día 4 > niveles orales en el día 5, P = 0,07			***Niveles i.p. en el día 4 > niveles orales en el día 5, P = 0,01		

Niveles plasmáticos (µM)

Oral (formulación de Gibbs)

ratón	Día 5
1	1,5
2	1,5
3	2,0
4	1,4
5	1,5
media	1,6+/-0,2

TABLA 2

Niveles de fenretinida en tejidos

Cremophor/etanol, 1,5 mg de fenretinida, i.p., dos veces al día, durante 2 ó 4 días frente a oral (formulación de Gibbs), 1,5 mg de fenretinida, v.o., dos veces al día, durante 5 días

NIVELES CEREBRALES (µg/g)

C6 i.p. Cremophor/etanol			KCNR i.p. Cremophor/etanol			SKNMC i.p. Cremophor/etanol			Oral (Gibbs)	
ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 5
1	4,1	14,83	1	9,1	2,2	1	1,5	6,4	1	2,8
2	0,8	9,7	2	10,4	3	2	11,5	7,4	2	2,4
3	6,4	8,3	3	6,1	6,4	3	2,2	8,2	3	3,2
4	6,8	3,8	4	8,7	2	4	5,6	10,2	4	2,6
5	7,2	7,6	5	2,1	2,4	5	7,9	10	5	1,4
6		10,4								
media	5,1+/- 2,7*	9+/- 3,5*	media	7,3+/- 3,3	3,2+/- 1,8**	media	5,7+/- 4,1	8,4+/- 1,6***	media	2,4+/- 0,7

*Niveles i.p. en el día 2 > niveles orales en el día 5, P = 0,05

*Niveles i.p. en el día 4 > niveles orales en el día 5, P < 0,01

**Niveles i.p. en el día 2 > niveles orales en el día 5, P = 0,02

**Niveles i.p. en el día 4 > niveles orales en el día 5, P = 0,22

***Niveles i.p. en el día 2 > niveles orales en el día 5, P = 0,08

***Niveles i.p. en el día 4 > niveles orales en el día 5, P < 0,01

NIVELES HEPÁTICOS (µg/g)

C6 i.p. Cremophor/etanol			KCNR i.p. Cremophor/etanol			SKNMC i.p. Cremophor/etanol			Oral (Gibbs)	
ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 5
1	6	44,5	1	74,4	40,7	1	1,7	68,4	1	22,1
2	24,4	39,3	2	138,6	35,6	2	17,5	55,5	2	12,7
3	39,9	52,9	3	43,7	37,6	3	38,1	46,8	3	22,7
4	43	48,6	4	52,1	15,3	4	68,1	49,7	4	5,5
5	27,6	48,2	5	30,7	21,8	5	36,8	59,7	5	23,2
6		44,5								
media	28+/- 15*	46+/- 5*	media	68+/- 42	30+/- 11**	media	32+/- 25	56+/- 9***	media	17+/-8

*Niveles i.p. en el día 2 > niveles orales en el día 5, P < 0,01

*Niveles i.p. en el día 4 > niveles orales en el día 5, P < 0,01

**Niveles i.p. en el día 2 > niveles orales en el día 5, P = 0,01

**Niveles i.p. en el día 4 > niveles orales en el día 5, P < 0,01

***Niveles i.p. en el día 2 > niveles orales en el día 5, P = 0,03

***Niveles i.p. en el día 4 > niveles orales en el día 5, P < 0,01

TABLA 3

Niveles de fenretinida en xenoinjertos tumorales

Cremophor/etanol, 1,5 mg de fenretinida, i.p., dos veces al día, durante 2 ó 4 días

Nivel de fenretinida en xenoinjertos tumorales (µg/g)

	C6			KCNR			SK-N-MC	
ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 2	Día 4
1	2,7	21,4	1	25,4	5,8	1	0,6	12,1
2	14,1	14,9	2	23,3	8	2	13,6	9,9
3	20,9	17,3	3	10,2	10,4	3	10,2	16,4
4	16,9	18,9	4	15,5	3,6	4	9,8	14,7
5	11,8	19,1	5	17,2	12,5	5	9,1	17,9
6		23,3						
media	13,3+/-6,8		media	18,3+/-6,1	8,1+/-3,5	media	8,7+/-4,8	14,2+/-3,2

TABLA 4

Niveles de fenretinida en plasma

(Oral (formulación de Gibbs) a 1,5 mg de fenretinida, dos veces al día, durante 5 días)

(Emulsión a 1,0 ng de fenretinida, dos veces al día, durante 2 ó 4 días)

NIVELES PLASMÁTICOS - DÍA 2 Emulsión i.p.		NIVELES PLASMÁTICOS - DÍA 4 Emulsión i.p.		NIVELES PLASMÁTICOS - DÍA 5 Oral (formulación de Gibbs)	
ratón	µM	ratón	µM	ratón	µM
1	10,0	1	1,8	1	1,5
2	33,9	2	5,1	2	1,5
3	6,9	3	16,7	3	2,0
4	10,5	4	3,2	4	1,4
5	6,9	5	1,9	5	1,5
media	13,4+/-11,6*	6	1,3	media	1,6+/-0,24***
		media	5,0+/-5,9**		

*Emulsión del día 2 > oral del día 5, P = 0,04.

**Emulsión del día 4 > oral del día 5, P = 0,1.

TABLA 5

Niveles de fenretinida en tejidos

(Oral (formulación de Gibbs) a 1,5 mg de fenretinida, dos veces al día, durante 5 días)

(Emulsión a 1,0 mg de fenretinida, dos veces al día, durante 2 ó 4 días)

NIVELES CEREBRALES (µg/g)

Emulsión i.p.			Oral (formulación de Gibbs)	
ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 5
1	5,1	2,5	1	2,8
2	4	6,5	2	2,4
3	3,1	4,3	3	3,2
4	9,5	4,6	4	2,6
5	3,7	2,4	5	1,4
6		1,8	media	2,5+/-0,7***
media	5,1+/-2,6*	3,7+/-11,8**		

*Emulsión del día 2 > oral del día 5, P = 0,04.

**Emulsión del día 4 > oral del día 5, P = 0,08.

NIVELES HEPÁTICOS (µg/g)

Emulsión i.p.			Oral (formulación de Gibbs)	
ratón	Día 2	Día 4	ratón	Día 5
1	32,9	14,4	1	22,1
2	33	39,1	2	12,7
3	28,5	30,2	3	22,7
4	53,2	36,1	4	5,5
5	33	36,4	5	23,2
6		40,4	media	17,2+/-8***
media	36,1+/-9,7*	32,8+/-9,7**		

*Emulsión del día 2 > oral del día 5, P < 0,01.

**Emulsión del día 4 > oral del día 5, P < 0,01.

TABLA 6

Niveles de fenretinida en xenoinjertos de tumores murinos

(emulsión de fenretinida, 1,0 mg, i.p., dos veces al día, durante 2 ó 4 días)

Niveles en xenoinjerto de glioma C6 (µg/g)

Emulsión i.p.

ratón	**Día 2**	**Día 4**
1	9,9	4,5
2	7,1	10,3
3	9,7	7,3
4	28,8	7,3
5	7,6	9,3
6		7,5
media	12,6+/-9,1	7,7+/-2,0

Lo anterior es ilustrativo de la presente invención y no debe interpretarse como limitativo de la misma. La invención se define mediante las siguientes reivindicaciones, incluyéndose equivalentes de las reivindicaciones en la misma.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica para administración parenteral, que comprende una retinida y un disolvente que puede dispersar o solubilizar dicha retinida,

comprendiendo dicho disolvente un aceite de ricino alcoxilado y un alcohol,

estando dicha retinida dispersada o solubilizada en dicha composición en una cantidad de al menos 1 mg de retinida por ml de disolvente.

2. Composición según la reivindicación 1, en la que dicha retinida es fenretinida.

3. Composición según cualquiera de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que dicho aceite de ricino alcoxilado es un aceite de ricino polietoxilado.

4. Composición según cualquier reivindicación anterior, en la que dicho alcohol es etanol.

5. Composición según cualquier reivindicación anterior, en la que dicho aceite de ricino alcoxilado está incluido en dicho disolvente en una cantidad que oscila desde el 30 hasta el 70% en volumen, y dicho alcohol está incluido en dicho disolvente en una cantidad que oscila desde el 30 hasta el 70% en volumen.

6. Composición según cualquier reivindicación anterior, que comprende además agua.

7. Uso de una composición según cualquier reivindicación anterior, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno hiperproliferativo.

8. Composición en emulsión farmacéutica para administración parenteral, comprendiendo dicha composición, en combinación:

(a) una fase hidrófila;

(b) desde el 2 hasta el 40% en volumen por volumen de un lipoide farmacológicamente aceptable como una fase hidrófoba dispersa como partículas en dicha fase hidrófila;

(c) desde el 0,01 hasta el 2% en peso por volumen de una retinida;

(d) desde el 0 hasta el 10% en volumen por volumen de un disolvente;

(e) desde el 0,01 hasta el 10% en peso por volumen de un tensioactivo no iónico para estabilizar dicha emulsión; y

(f) desde el 0 hasta el 10% en peso por volumen de un agente isotónico;

teniendo dicha composición un pH de aproximadamente 5 a 10.

9. Composición según la reivindicación 8, en la que dicha retinida es fenretinida, y opcionalmente está presente a aproximadamente del 0,1 al 0,5% en peso por volumen.

10. Composición según cualquiera de la reivindicación 8 ó 9, en la que el disolvente está presente en una cantidad de al menos el 0,01% en volumen por volumen y se selecciona del grupo que consiste en etanol, dimetilsulfóxido (DMSO) y etilacetamida (DMA).

11. Composición según la reivindicación 10, en la que el disolvente es etanol a aproximadamente del 0,01 al 5,0% en volumen por volumen.

12. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en la que el lipoide se selecciona del grupo que consiste en aceite de soja, aceite de cártamo, aceite de girasol, aceite de borraja, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de linaza, aceite de sésamo, aceite de palmiste, aceite de algodón, triglicéridos de cadena media procedentes de destilados de aceite de coco, aceite de grosella negra y mezclas de los mismos.

13. Composición según la reivindicación 12, en la que dicho lipoide es aceite de soja a del 10 al 30% en volumen por volumen.

14. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, en la que el tensioactivo no iónico se selecciona del grupo que consiste en fosfolípidos de huevo, ésteres de ácido graso de polioxietileno, o copolímeros de bloque de polioxipropileno y polioxietileno.

15. Composición según la reivindicación 14, en la que el tensioactivo no iónico es fosfolípido de huevo a aproximadamente el 2 por ciento en peso por volumen.

16. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 15, en la que el agente isotónico está presente en una cantidad de aproximadamente el 1 al 3% en peso por volumen, y opcionalmente en la que el agente isotónico es glicerina a aproximadamente el 1% en peso por volumen.

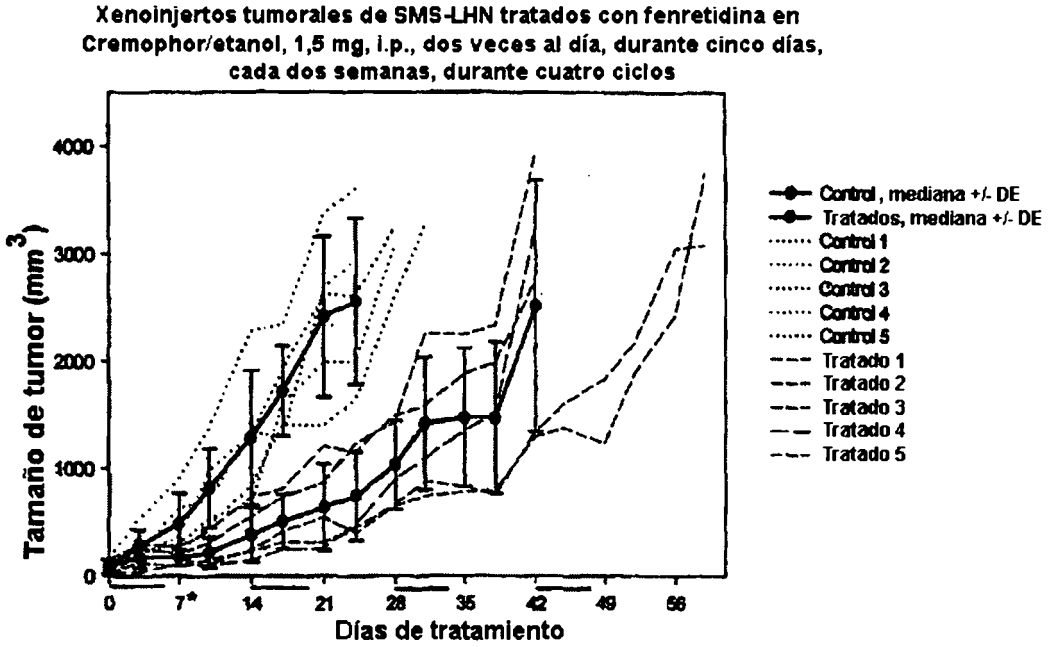
17. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 16, en la que la cantidad de retinida es de aproximadamente el 0,1 al 0,5% en peso por volumen, el disolvente es etanol deshidratado a del 0,0 al 5,0% en volumen por volumen, la cantidad de dicho lipoide es de aproximadamente el 10 al 30% en volumen por volumen, la cantidad de fosfolípidos de huevo es de aproximadamente el 1 al 5% en peso por volumen, el agente isotónico es glicerina a aproximadamente el 1% en peso por volumen y el pH es de desde 5,0 hasta 10,0.

18. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 17, en la que dichas partículas tienen desde 5 hasta 1000 nanometros de diámetro, y opcionalmente en la que dichas partículas tienen desde 50 hasta 400 nanometros de diámetro.

19. Uso de una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 18 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos hiperproliferativos.

FIGURA 1.

Efectos de fenretidina sobre el crecimiento de xenoinjertos tumorales



* Volumen de tumor tratado medio tras el Día 7 menor que el volumen de tumor control medio, *intervalo de valor de P* = 0,02 a < 0,01.

* Tiempo medio para alcanzar el volumen de tumor de 2000 mm^3. Tratados frente a control (T/C x 100) = 220%.