



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0716950-7 A2



(22) Data de Depósito: 12/09/2007
(43) Data da Publicação: 29/10/2013
(RPI 2234)

(51) *Int.Cl.*:
B23D 31/00
B21D 51/26

(54) Título: COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA,
DISPOSITIVO PARA USO INTRACORPÓREO,
MÉTODO PARA INIBIR PROLIFERAÇÃO CELULAR,
COMPOSTO, E, MÉTODO PARA PREPARAR UM
COMPOSTO

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 13/09/2006 US 60/825531

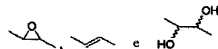
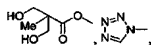
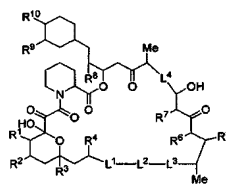
(73) Titular(es): Elixir Medical Corporation

(72) Inventor(es): John Yan, Vinayak D. Bhat, Xiaoxia Zheng

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & Cia.

(86) Pedido Internacional: PCT US2007078317 de
12/09/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/033956de
20/03/2008



“COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, DISPOSITIVO PARA USO INTRACORPÓREO, COMPOSTO, E, MÉTODO PARA PREPARAR UM COMPOSTO”

REFERÊNCIAS CRUZADAS AOS PEDIDOS RELACIONADOS

5 Este pedido reivindica o benefício do Pedido Provisório U.S. No. 60/825.531, depositado aos 13 de Setembro de 2006, cuja divulgação é aqui incorporada como referência.

DECLARAÇÃO QUANTO A ALGUNS DIREITOS DOS INVENTORES
FEITA SOB DESENVOLVIMENTO OU PESQUISA FEDERALMENTE
10 PATROCINADO(A)

Não aplicável

REFERÊNCIA A UMA "LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS", UMA TABELA
OU A UM APÊNDICE DE LISTA DE PROGRAMA DE COMPUTADOR
APRESENTADA EM UM DISCO COMPACTO.

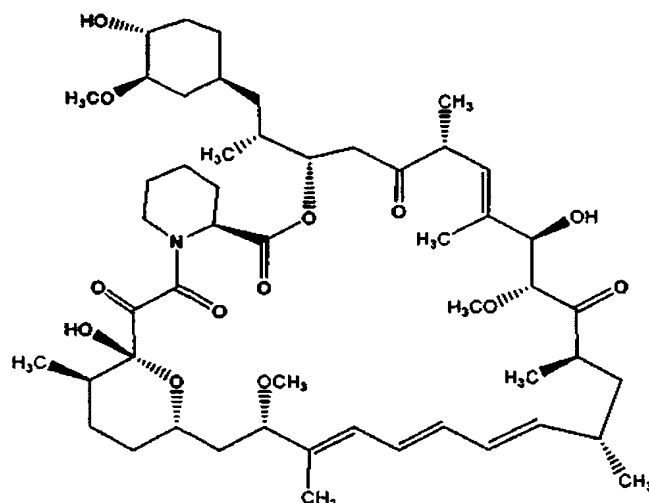
15 Não aplicável

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se às estruturas de lactonas
macrocíclicas desmetiladas, hidroxiladas, desmetil-hidroxiladas e epoxidadas,
suas sínteses, composições farmacêuticas e uso para aplicações sistêmicas e
20 terapêuticas sítio-específicas.

FUNDAMENTOS

Rapamicina (Sirolimus) é uma lactona macrocíclica natural de
31 membros [$C_{51}H_{79}N_1O_{13}$; MWt = 914,2] produzida por *Streptomyces*
hygroscopicus e encontrada nos anos 1970s (Pat US No. 3.929.992 ;
25 3.993.749). Rapamicina (estrutura mostrada abaixo) foi aprovada pela Food
and Drug Administration (FDA) para a profilaxia de rejeição de transplante
renal em 1999.



Rapamicina assemelha-se a tacrolimus (liga na mesma proteína ligante intracelular ou imunofilina conhecida como FKBP-12) mas difere em seu mecanismo de ação. Enquanto que tacrolimus e ciclosporina inibem a ativação de célula-T pelo bloqueio de transcrição de gene de linfocina (e.g., IL2), sirolimus inibe a ativação de célula-T e a proliferação de linfócito T pela ligação em alvo de mamífero de rapamicina (mTOR). Rapamicina pode atuar em sinergia com ciclosporina ou tacrolimus na supressão do sistema imune.

Rapamicina também é útil na prevenção ou no tratamento de lúpus eritematoso sistêmico [Pat. U.S. No. 5.078.999], inflamação pulmonar [Pat. U.S. No. 5.080.899], diabetes mellitus dependente de insulina [Pat. U.S. No. 5.321.009], distúrbios de pele, tais como psoríase [Pat. U.S. No. 5.286.730], distúrbios intestinais [Pat. U.S. No. 5.286.731], proliferação de célula de músculo liso e espessamento da íntima após lesão vascular [Pat. U.S. Nos. 5.288.711 e 5.516.781], linfoma / leucemia de célula-T de adulto [Pedido de Patente Européia 525.960 A1], inflamação ocular [Pat. U.S. No. 5.387.589], carcinomas malignos [Pat. U.S. No. 5.206.018], doença inflamatória cardíaca [Pat. U.S. No. 5.496.832], anemia [Pat. U.S. No. 5.561.138] e aumento de renovação de neurito [Parker, E. M. et al, Neuropharmacology 39, 1913-1919, 2000].

Embora rapamicina possa ser usada para tratar várias

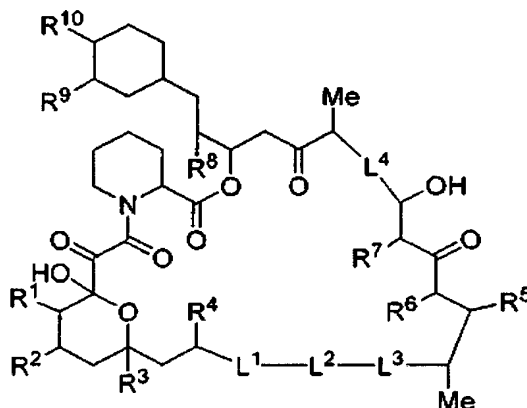
condições doentes, a utilidade do composto como uma droga farmacêutica tem sido restrita por sua biodisponibilidade muito baixa e variável e por sua potência imunossupressiva alta e toxicidade alta potencial. Também, rapamicina é apenas muito ligeiramente solúvel em água. Para suplantar estes problemas, pró-drogas e análogos do composto têm sido sintetizados. Pró-drogas solúveis em água preparadas por derivação de posições 31 e 42 anteriormente posições 28 e 40) de rapamicina (da estrutura de rapamicina para formar pró-drogas de glicinato, propionato, e pirrolidino butirato têm sido descritas (Pat. U.S. No. 4.650.803). Alguns dos análogos de rapamicina descritos na técnica incluem os análogos monoacilados e diacilados (Pat. U.S. No. 4.316.885), análogos acetilados (Pat. U.S. No. 5.151.413), silil-éteres (Pat. U.S. No. 5.120.842), hidróxi-ésteres (Pat. U.S. No. 5.362.718), bem como análogos alquilados, arilados, alquenilados, e alquinilados (Pat. U.S. Nos. 5.665.772; 5.258.389; 6.384.046; WO 97/35575).

Pró-drogas e análogos de rapamicina são sintetizados por síntese química, onde etapas de síntese adicionais são exigidas para proteger e desproteger certas posições. Análogos também podem ser sintetizados biologicamente, onde a cepa *Streptomyces* é geneticamente modificada para produzir análogos de rapamicina. Os análogos necessitam manter posições necessárias para ligação de proteína ou outras interações celulares e não gerar impedimento estérico com o objetivo de preservar sua atividade. A segurança destes análogos exige testes extensivos por série de experimentação pré-clínicas e clínicas.

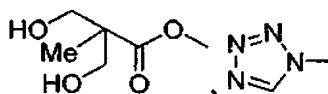
A presente invenção compreende novas lactonas macrocíclicas e novos usos de lactonas macrocíclicas, onde as composições podem ser sintetizadas química ou biologicamente, e que preservam pelo menos algumas propriedades imunossupressoras, anti-proliferativas, anti-fúngicas e anti-tumorais para uso em aplicações sistêmicas e sítio-específicas.

SUMÁRIO BREVE DA INVENÇÃO

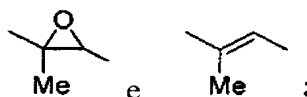
Em uma modalidade, a presente invenção proporciona uma composição farmacêutica e um excipiente farmacêuticamente aceitável e um composto de fórmula:



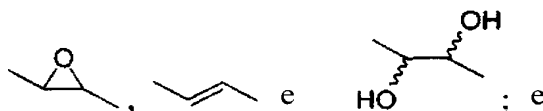
5 sendo que R¹, R², R³, R⁵, R⁶ e R⁸ são cada um independentemente um membro selecionado do grupo consistindo de H, C₁₋₆ alquila e OH; R⁴, R⁷ e R⁹ são cada um independentemente selecionados do grupo consistindo de C₁₋₆ alcóxi e OH; R¹⁰ é um membro selecionado do grupo consistindo de H, -OH, -OP(O)Me₂,



10 -O-(CH₂)_n-OH e -O-(CH₂)_m-O-(CH₂)_o-CH₃, sendo que os subscritos n e m são cada um independentemente de 2 a 8 e subscrito o é de 1 a 6; cada um de L¹ e L⁴ são independentemente selecionados do grupo consistindo de:



cada um de L² e L³ são independentemente selecionados do grupo consistindo de:

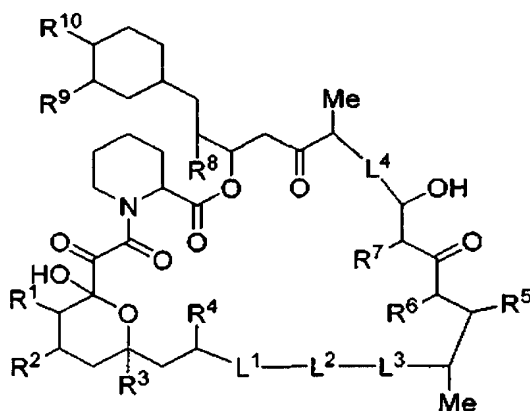


15 sais, hidratos, isômeros, metabólitos e pró-drogas dos mesmos. Em uma segunda modalidade, a presente invenção proporciona

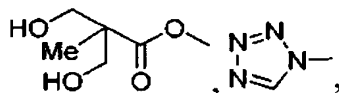
um dispositivo para uso intracorpóreo, o dispositivo compreendendo um implante; e pelo menos uma fonte de um composto da presente invenção.

Em uma terceira modalidade, a presente invenção proporciona um método de inibir proliferação celular por administração a um sujeito em
5 necessidade da mesma, de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto da presente invenção.

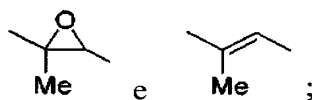
Em uma quarta modalidade, a presente invenção proporciona compostos de lactona macrocíclica de seguinte fórmula:



sendo que R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , R^6 e R^8 são cada um
10 independentemente um membro selecionado do grupo consistindo de H, C_{1-6} alquila e OH; R^4 , R^7 e R^9 são cada um independentemente selecionados do grupo consistindo de C_{1-6} alcóxi e OH; R^{10} é um membro selecionado do grupo consistindo de H, -OH, -OP(O)Me₂:

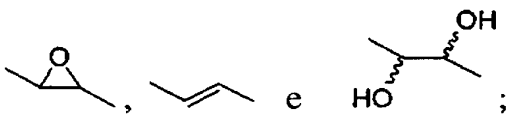


-O-(CH₂)_n-OH e -O-(CH₂)_m-O-(CH₂)_o-CH₃, sendo que os
15 subscritos n e m são cada um independentemente de 2 a 8 e subscrito o é de 1 a 6; cada um de L¹ e L⁴ são independentemente selecionados do grupo consistindo de:



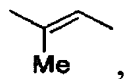
cada um de L² e L³ são independentemente selecionados do

grupo consistindo de:



com a condição de que quando R^1 , R^6 e R^8 são Me, R^3 e R^5 são H, R^4 , R^7 e R^9 são OMe,

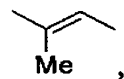
R^{10} é OH, L^2 e L^3 são $-\text{CH}=\text{CH}-$, e L^1 e L^4 são



5 R^2 é diferente de OH;

com a condição de que quando R^1 , R^6 e R^8 são Me, R^2 , R^3 e R^5 são H, R^7 e R^9 são OMe,

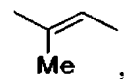
R^{10} é OH, L^2 e L^3 são $-\text{CH}=\text{CH}-$, e L^1 e L^4 são



R^4 é diferente de OH;

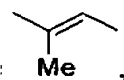
10 com a condição de que quando R^1 , R^6 e R^8 são Me, R^2 , R^3 e R^5 são H, R^4 e R^7 são OMe,

R^{10} é OH, L^2 e L^3 são $-\text{CH}=\text{CH}-$, e L^1 e L^4 são

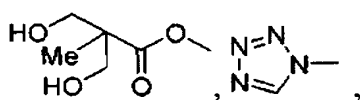


R^9 é diferente de OH;

15 com a condição de que quando R^1 , R^6 e R^8 são Me, R^2 , R^3 e R^5 são H, R^4 , R^7 e R^9 são OMe, L^2 e L^3 são $-\text{CH}=\text{CH}-$, e L^1 e L^4 são



R^{10} é diferente de OH, $-\text{OP}(\text{O})\text{Me}_2$,



$-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ e $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_o-\text{CH}_3$; e sais, hidratos, isômeros, metabólitos e pró-drogas dos mesmos.

Em uma quinta modalidade, a presente invenção proporciona um método de preparar um composto da presente invenção, o método compreendendo contatar uma lactona macrocíclica com um ácido para substituir um grupo alcóxi por um nucleófilo, preparando deste modo um
5 composto da presente invenção.

Em uma sexta modalidade, a presente invenção proporciona um método de preparar um composto da presente invenção, o método compreendendo contatar uma lactona macrocíclica com um agente de epoxidação para modificar um grupo alqueno para um epóxido, preparando
10 deste modo um composto da presente invenção.

DESCRIÇÃO BREVE DOS DESENHOS

Figura 1 mostra a estrutura de lactonas macrocíclicas com alguns sítios potenciais para modificações químicas para obter os compostos da presente invenção. Áreas marcadas com um quadrado são sítios para
15 desmetilação, e áreas marcadas por círculo A são sítios para hidroxilação e sítios C=C (C17=C18, C19=C20, C21=C22, C29=C30) são sítios para epoxidação.

Figura 2A-2AZ mostra compostos da presente invenção.

Figura 3 mostra um exemplo de configuração de stent tendo
20 uma estrutura expansível.

Figura 4 mostra um cromatograma de HPLC preparativa de Composto AR.

Figura 5 mostra um espectro de Próton-RMN de Composto AR.

Figura 6 mostra resultados de cromatografia líquida e espectro de massa de Composto AR.

Figura 7(a) mostra um cromatograma de HPLC analítica de Composto AR.

Figura 7(b) mostra um cromatograma de HPLC analítica de

Composto AR com isômeros.

Figura 8 mostra proliferação percentual de células de músculo liso de humano após exposição a concentrações variadas de rapamicina e Composto AR.

5 Figura 9 mostra estenose em angiografia coronariana quantitativa (QCA) do Stent eluindo Composto AR em comparação com stent Cypher eluindo rapamicina após implantação de 28 dias em um modelo de artéria coronariana porcina.

10 Figura 10 mostra concentração em tecido de Composto AR em instantes de tempo diferentes em um modelo de artéria coronariana porcina.

Figura 11 mostra percentagem de Composto AR liberado do stent em um modelo de artéria coronariana porcina.

15 Figura 12(a) mostra inibição de IL-6, MMP-9 e MCP-1 liberadas por macrófagos ativados por exposição à lactona macrocíclica Composto AR e Sirolimus em concentração de 10 nM.

Figura 12(b) mostra inibição de IL-10 liberadas por macrófagos ativados por exposição à lactona macrocíclica Composto AR e Sirolimus em concentração de 10 nM

20 Figura 13 mostra proliferação percentual de células de músculo liso de humano após exposição a concentrações variadas de 17,18-29,30-bis-epóxido-lactona macrocíclica e Composto AR.

Figura 14 mostra a síntese de 16-O-desmetil-lactona macrocíclica da presente invenção.

25 Figura 15 mostra síntese de 19,20-bis-hidróxi-lactona macrocíclica.

Figura 16 mostra síntese de 17,18-29,30-bis-epóxido-lactona macrocíclica.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

I. Definições

Como aqui usado, o termo "ácido" refere-se a qualquer composto químico que, quando dissolvido em água, dá uma solução com um pH menor do que 7,0. Ácidos são geralmente descritos como um composto que denota um íon hidrogênio (H^+) (Bronsted-Lowry) ou como um aceitante de par de elétrons (ácido de Lewis). Ácidos úteis na presente invenção incluem, mas não são limitados a, HCl, H_2SO_4 , HNO_3 e ácido acético. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros ácidos são úteis na presente invenção.

Como aqui usado, "administrar" refere-se à administração sistêmica e local ou uma sua combinação tal como administração oral, administração como um supositório, contato tópico, parenteral, intravascular, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intralesional, intranasal, pulmonar, mucosal, transdérmica, administração subcutânea, administração intratecal, liberação através de um dispositivo temporário tal como cateter, balão poroso, liberação através de implante tal como bomba osmótica, prótese tal como stents de eluição de droga ou outros ao sujeito. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros modos e métodos de administrar os compostos da presente invenção são úteis na presente invenção.

Como aqui usado, o termo "alcóxi" refere-se à alquila com a inclusão de um átomo de oxigênio, por exemplo, metóxi, etóxi, etc. "Alcóxi halo-substituída" é como definida para alcóxi onde alguns dos ou todos os átomos de hidrogênio estão substituídos por átomos de halogênio. Por exemplo, alcóxi halo-substituída inclui trifluorometóxi, etc. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros grupos alcóxi são úteis na presente invenção. são úteis na presente invenção.

Como aqui usado, o termo "alquila" refere-se a um radical alifático, saturado, linear ou ramificado tendo o número de átomos de carbono indicado. Por exemplo, refere-se a um radical alifático, saturado, linear ou ramificado tendo o número de átomos de carbono indicado. Por exemplo, C_1 -

C₆ alquila inclui, mas não é limitado a, metila, etila, propila, butila, pentila, hexila, iso-propila, iso-butila, sec-butila, terc-butila, etc. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros grupos alquila são úteis na presente invenção.

5 Como aqui usado, o termo "lúmen do corpo" refere-se ao revestimento ou à cavidade de uma artéria, veia ou um órgão.

 Como aqui usado, o termo "contatar" refere-se ao processo de trazer para contato pelo menos duas espécies distintas de tal modo que possam reagir. Deve ser percebido, contudo, que o produto de reação
10 resultante pode ser produzido diretamente de uma reação entre os reagentes adicionados ou de um intermediário de um ou mais dos reagentes adicionados que podem ser produzidos na mistura reacional.

 Como aqui usado, o termo "hidrato" refere-se a um composto que está complexado com pelo menos uma molécula de água. Os compostos
15 da presente invenção podem estar complexados com de 1 a 100 moléculas de água.

 Como aqui usado, o termo "implante" refere-se a um dispositivo médico inserido dentro de um corpo com o propósito de tratar uma condição. Implantes incluem, mas não são limitados a, dispositivos de eluição
20 de droga.

 Como aqui usado, os termos "inibição", "inibe" e "inibidor" referem-se a um composto que proíbe, reduz, diminui ou minora, ou a um método de proibir, reduzir, diminuir ou minorar uma ação ou função específica.

25 Como aqui usado, o termo "intracorpóreo" refere-se a um corpo de mamífero.

 Como aqui usado, o termo "isômero" refere-se aos compostos da presente invenção que possuem átomos de carbono assimétricos (centros ópticos) ou ligações duplas, os racematos, diastereômeros, enanciômeros,

isômeros geométricos, isômeros estruturais e isômeros individuais são todos intencionados para estarem incluídos dentro do escopo da presente invenção.

Como aqui usado, o termo "órgão" refere-se a qualquer órgão de um mamífero, tal como, mas não limitado a, coração, pulmões, cérebro, olhos, estômago, baço, ossos, pâncreas, rins, fígado, intestinos, útero, cólon, ovário, sangue, pele, músculo, tecido, próstata, glândulas mamárias e bexiga. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros órgãos são úteis na presente invenção.

Como aqui usado, o termo "perácido" refere-se a um ácido no qual um grupo -OH de ácido tem sido substituído por um grupo -OOH. Perácidos podem ser ácidos peróxi-carboxílicos de fórmula $R-C(O)-OOH$, onde o grupo R pode ser grupos tais como H, alquila, alqueno ou arila. Perácidos incluem, mas não são limitados a, ácido peróxi-acético, e ácido meta-cloro-peróxi-benzóico (MCPBA). Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros perácidos são úteis na presente invenção.

Como aqui usado, o termo "peróxido" refere-se a um composto contendo uma ligação simples de oxigênio. Exemplos de peróxidos incluem, mas não são limitados a, peróxido de hidrogênio. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros peróxidos são úteis na presente invenção.

Como aqui usado, o termo "excipiente farmacêuticamente aceitável" refere-se a uma substância que auxilia na administração de um agente ativo a um sujeito e na absorção por um sujeito. Excipientes farmacêuticos úteis na presente invenção incluem, mas não são limitados a, polímeros, solventes, antioxidantes, aglutinantes, cargas, desintegrantes, lubrificantes, revestimentos, edulcorantes, flavorizantes, estabilizadores, colorantes, metais, cerâmica e semi-metais. Veja abaixo para discussão adicional de excipientes farmacêuticamente aceitáveis. Uma pessoa experiente na técnica outros excipientes farmacêuticos são úteis na presente invenção.

Como aqui usado, o termo "polímero" refere-se a uma molécula composta de unidades estruturais repetidas, ou monômeros, conectadas por ligações químicas covalentes. Polímeros úteis na presente invenção são descritos abaixo. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros polímeros são úteis na presente invenção.

Como aqui usado, o termo "pró-droga" refere-se aos compostos que são capazes de liberar o agente ativo dos métodos da presente invenção, quando a pró-droga é administrada a um sujeito mamífero. Liberação do ingrediente ativo ocorre in vivo. Pró-drogas podem ser preparadas por técnicas conhecidas por uma pessoa experiente na técnica. Estas técnicas geralmente modificam grupos funcionais apropriados em um dado composto. Estes grupos funcionais modificados contudo regeneram grupos funcionais originais por manipulação rotineira ou in vivo. Pró-drogas dos agentes ativos da presente invenção incluem agentes ativos nos quais é modificado um grupo hidroxila, amidino, guanidino, amino, carboxílico ou um grupo similar.

Como aqui usado, o termo "sal" refere-se aos sais de ácido ou de base dos compostos usados nos métodos da presente invenção. Exemplos ilustrativos de sais farmaceuticamente aceitáveis são sais de ácidos minerais (ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido fosfórico, e semelhantes), sais de ácidos orgânicos (ácido acético, ácido propiônico, ácido glutâmico, ácido cítrico, e semelhantes), sais de amônio quaternário (iodeto de metila, iodeto de etila, e semelhantes). Informação adicional sobre sais farmaceuticamente aceitáveis adequados pode ser encontrada em Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, que é aqui incorporado como referência.

Sais farmaceuticamente aceitáveis dos compostos ácidos da presente invenção são sais formados com bases, a saber sais catiônicos tais como sais de metal alcalino e de metal alcalino-terroso, tais como sais de

sódio, lítio, potássio, cálcio, magnésio, bem como sais de amônio, tais como sais de amônio, trimetil-amônio, dietil-amônio, e tris-(hidróxi-metil)-metil-amônio.

5 Similarmente sais de adição de ácido, tais como de ácidos minerais, ácidos orgânicos carboxílicos e sulfônicos, e.g. ácido clorídrico, ácido metano-sulfônico, ácido maleico, também são possíveis desde que um grupo básico, tal como piridila, constitua parte da estrutura.

10 Formas neutras dos compostos podem ser regeneradas pelo contato do sal com uma base ou um ácido e isolamento do composto parental na maneira convencional. A forma parental do composto difere das várias formas de sal em certas propriedades físicas, tais como solubilidade em solventes polares, mas sob outros aspectos os sais são equivalentes à forma parental do composto para os propósitos da presente invenção.

15 Como aqui usado, o termo "fonte" refere-se a uma localização no dispositivo da presente invenção proporcionando um fornecimento do composto da presente invenção ou um fornecimento de um agente terapêutico. O dispositivo da presente invenção pode ter mais do que uma fonte, tal como uma primeira e uma segunda. Cada fonte pode ter um composto e uma composição diferente e ser usada para tratar uma indicação diferente.

20

 Como aqui usado, o termo "sujeito" refere-se aos animais tais como mamíferos, incluindo, mas não limitados a, primatas (*e.g.*, humanos), vacas, ovelha, cabras, cavalos, porcos, cães, gatos, coelhos, ratos, camundongos e semelhantes. Em certas modalidades, o sujeito é um humano.

25 Como aqui usado, o termo "agente terapêutico" refere-se a qualquer agente, composto ou molécula biológica que tem um efeito terapêutico a quem o agente terapêutico é administrado.

 Como aqui usados, os termos "dose ou quantidade terapeuticamente eficaz" ou "dose ou quantidade terapeuticamente suficiente"

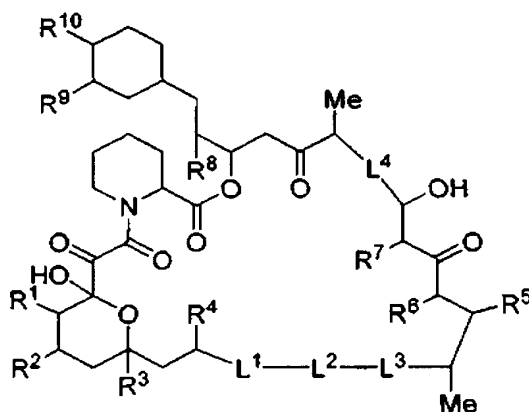
ou "dose ou quantidade eficaz ou suficiente" referem-se a uma dose que produz efeitos terapêuticos para os quais é administrada. A dose exata dependerá do propósito do tratamento, e será determinável por uma pessoa experiente na técnica usando técnicas conhecidas (veja, *e.g.*, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compositing* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999); e Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Edition, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins). Em células sensibilizadas, a dose terapeuticamente eficaz pode muitas vezes ser menor do que a dose terapeuticamente eficaz convencional para células não-sensibilizadas.

Como aqui usado, o termo "prótese vascular" refere-se ao sistema circulatório de um mamífero.

II. Compostos da presente invenção

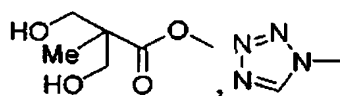
Lactonas macrocíclicas, seus sais, pró-drogas, e isômeros serão chamados coletivamente como "lactonas macrocíclicas" nesta invenção.

Os compostos da presente invenção são compostos de lactona macrocíclica de seguinte fórmula:



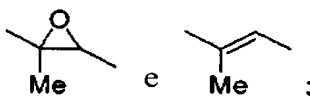
sendo que R¹, R², R³, R⁵, R⁶ e R⁸ são cada um independentemente um membro selecionado do grupo consistindo de H, C₁₋₆ alquila e OH; R⁴, R⁷ e R⁹ são cada um independentemente selecionados do grupo consistindo de C₁₋₆ alcóxi e OH; R¹⁰ é um membro selecionado do

grupo consistindo de H, -OH, -OP(O)Me₂,

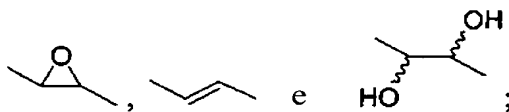


-O-(CH₂)_n-OH e -O-(CH₂)_m-O-(CH₂)₆-CH₃, sendo que os subscritos n e m são cada um independentemente de 2 a 8 e subscrito 0 é de 1 a 6; cada um de L¹ e L⁴ são independentemente selecionados do grupo

5 consistindo de:

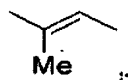


cada um de L² e L³ são independentemente selecionados do grupo consistindo de:



com a condição de que quando R¹, R⁶ e R⁸ são Me, R³ e R⁵ são H, R⁴, R⁷ e R⁹ são OMe,

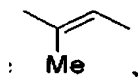
10 R¹⁰ é OH, L² e L³ são -CH=CH-, e L¹ e L⁴ são



R² é diferente de OH;

com a condição de que quando R¹, R⁶ e R⁸ são Me, R², R³ e R⁵ são H, R⁷ e R⁹ são OMe,

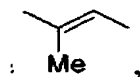
R¹⁰ é OH, L² e L³ são -CH=CH-, e L¹ e L⁴ são



15 R⁴ é diferente de OH;

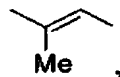
com a condição de que quando R¹, R⁶ e R⁸ são Me, R², R³ e R⁵ são H, R⁴ e R⁷ são OMe,

R¹⁰ é OH, L² e L³ são -CH=CH-, e L¹ e L⁴ são



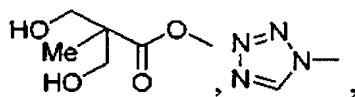
R^9 é diferente de OH;

com a condição de que quando R^1 , R^6 e R^8 são Me, R^2 , R^3 e R^5 são H, R^4 , R^7 e R^9 são OMe, L^2 e L^3 são $-\text{CH}=\text{CH}-$, e L^1 e L^4 são



5

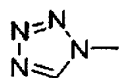
R^{10} é diferente de OH, $-\text{OP}(\text{O})\text{Me}_2$,



$-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ e $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_o-\text{CH}_3$;

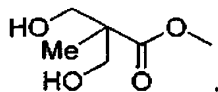
e sais, hidratos, isômeros, metabólitos e pró-drogas dos mesmos.

Em algumas modalidades, R^{10} é



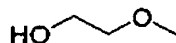
10

Em algumas outras modalidades, R^{10} é

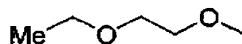


Em outras modalidades, R^{10} é $-\text{OP}(\text{O})\text{Me}_2$.

Em ainda outras modalidades, R^{10} é



Em outra modalidade, R^{10} é

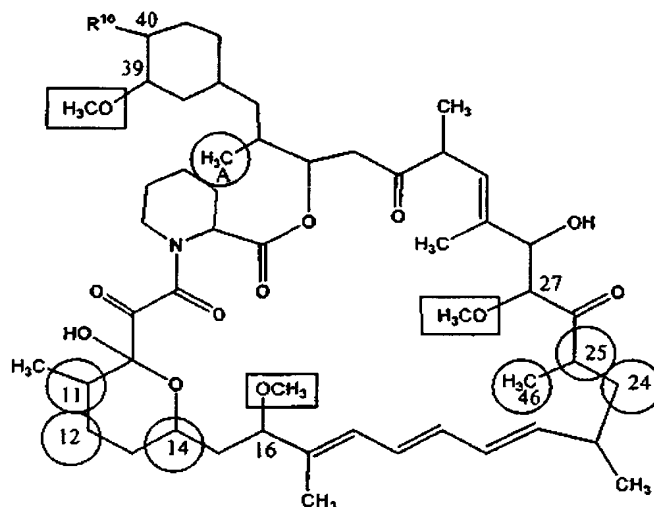


15 Em uma outra modalidade, o composto é um composto de Figura 2. Em outras modalidades, pelo menos um de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 e R^9 é OH. Em ainda outras modalidades, R^4 é OH.

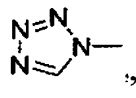
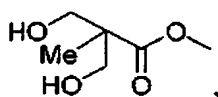
A invenção proporciona compostos de lactona macrocíclica que são descritos em detalhe com Fórmulas IA, IB e IC.

Em uma modalidade, a composição contém lactonas macrocíclicas que incluem lactonas macrocíclicas hidroxiladas, desmetiladas, hidróxi-desmetiladas e epoxidadas.

A estrutura de certas lactonas macrocíclicas com alguns sítios potenciais para modificações químicas para obter compostos da presente invenção é mostrada abaixo.



sendo que R¹⁰ é um membro selecionado do grupo consistindo de -OH,



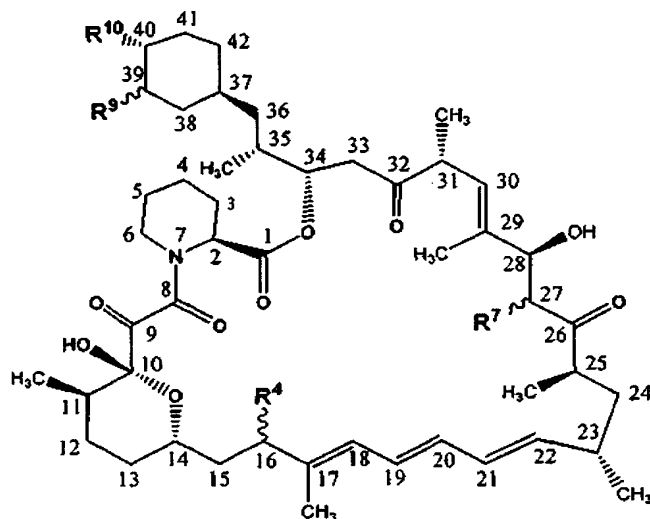
-OP(O)Me₂, -R^aOH, onde R^a é uma alquila, tal como -(CH₂)₂ a
 10 (CH₂)₇ e -R^bOR^c, onde R^b é C₂₋₆ alquilenos e R^c é C₁₋₅ alquila, tal como 40-O-(etóxi-etil)-rapamicina.

Em algumas modalidades, os compostos da presente invenção incluem certas lactonas macrocíclicas desmetiladas, tais como 16-O-desmetil-lactona macrocíclica, 39-O-desmetil-lactona macrocíclica, 27-O-desmetil-lactona macrocíclica, 16, 27-bis-O-desmetil-lactona macrocíclica, 27, 39-bis-O-desmetil-lactona macrocíclica, 16, 39-bis-O-desmetil-lactona macrocíclica,

15

individualmente ou em combinação umas com as outras, como mostrado em Fórmula IA.

Fórmula IA



sendo que

5 Cada um de R^4, R^7 e R^9 são selecionados do grupo consistindo de $-OCH_3$ e $-OH$.

R⁴ e R⁷ são ambos, independentemente, selecionados do grupo consistindo de -OH e -OCH₃.

10 R⁷ e R⁹ são ambos, independentemente, selecionados do grupo
consistindo de -OH e -OCH₃.

R⁴ e R⁹ são ambos, independentemente, selecionados do grupo consistindo de -OH e -OCH₃.

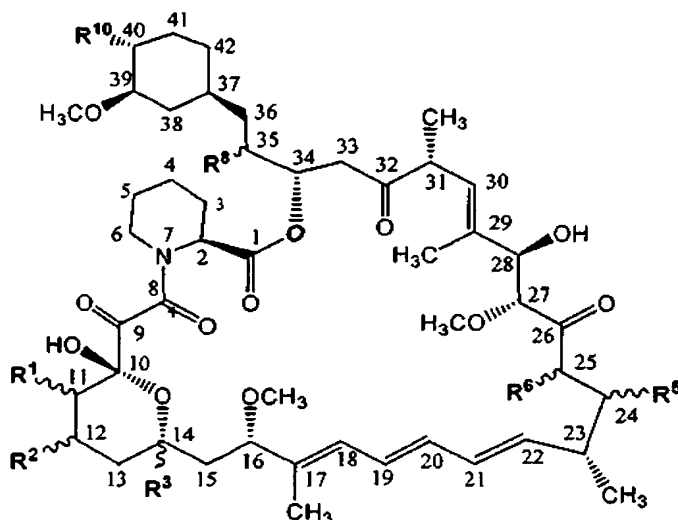
R⁴, R⁷ e R⁹ são cada um, independentemente, selecionados do grupo consistindo de -OH e -OCH₃.

15 E sendo que R^{10} é como descrito acima.

Em outra modalidade, os compostos da presente invenção incluem composições de hidroxil-lactona macrocíclica, tais como 11-hidroxil-lactona macrocíclica, 12-hidroxil-lactona macrocíclica, 14-hidroxil-lactona macrocíclica, 24-hidroxil-lactona macrocíclica, 25-hidroxil-lactona macrocíclica, 35-hidroxil-lactona macrocíclica, individualmente ou em

combinação umas com as outras, como mostrado em Fórmula IB.

Fórmula IB



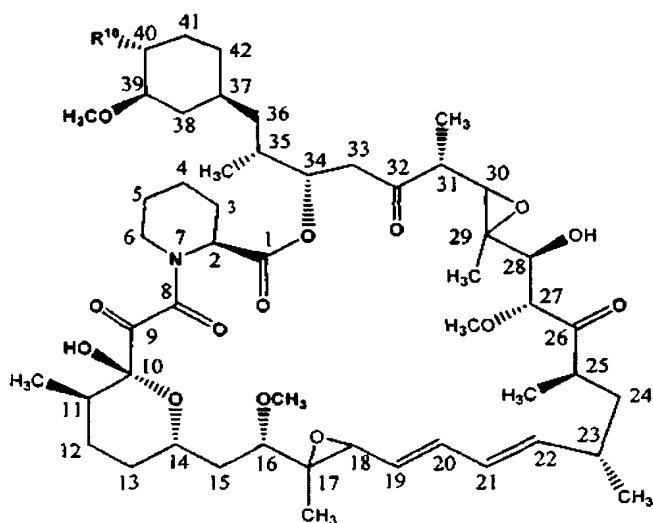
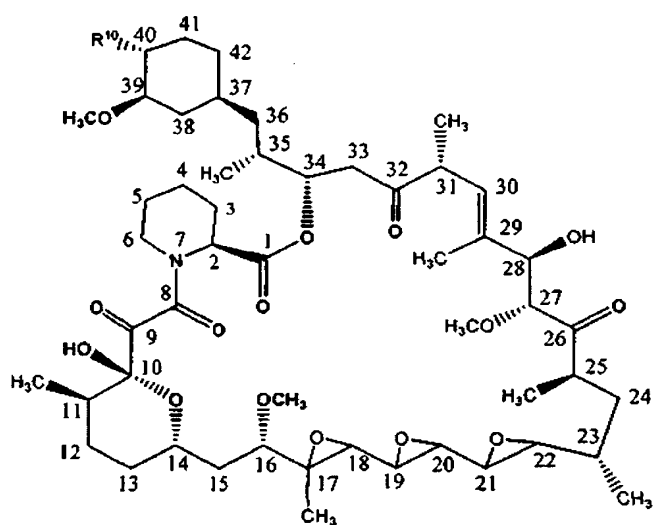
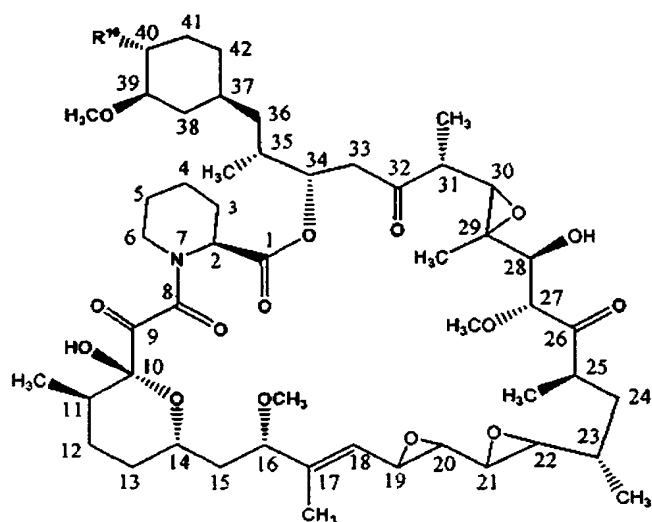
sendo que

5 Cada um de R¹, R⁶ e R⁸ são selecionados do grupo consistindo de -CH₃ e -OH.

Cada um de R², R³ e R⁵ são selecionados do grupo consistindo de -H e -OH.

E sendo que R¹⁰ é como descrito acima.

10 Em outra modalidade, os compostos da presente invenção incluem compostos de lactona macrocíclica epoxidada, tais como 19, 20-21, 22-29, 30 tris-epóxido-lactona macrocíclica, 17, 18-19, 20-21, 22 tris-epóxido-lactona macrocíclica e 17, 18-29, 30 bis-epóxido-lactona macrocíclica, como mostrado em Fórmula IC.

Fórmula IC

E sendo que R¹⁰ é como descrito acima.

Em outra modalidade, os compostos da presente invenção são uma combinação de Fórmula IA e Fórmula IB, incluindo composição de desmetil-hidróxi-lactona macrocíclica tal como 14-hidróxi-39-O-desmetil-lactona macrocíclica, 16,39-bis-O-desmetil-24-hidróxi-lactona macrocíclica, 16,27-bis-O-desmetil-24-hidróxi-lactona macrocíclica, 27,39-bis-O-desmetil-24-hidróxi-lactona macrocíclica individualmente ou em combinação umas com as outras.

Em outra modalidade, os compostos da presente invenção são uma combinação de Fórmula IA e Fórmula IC, incluindo composição de epóxido-desmetil-lactona macrocíclica tais como 17,18-19,20-bis-epóxido-16-O-desmetil-lactona macrocíclica, 17,18-29,30-bis-epóxido-16-O-desmetil-lactona macrocíclica, individualmente ou em combinação umas com as outras.

Em ainda outra modalidade, os compostos da presente invenção são uma combinação de Fórmula IA, Fórmula IB e Fórmula IC, incluindo composição de epóxido-desmetil-hidroxil-lactona macrocíclica tais como 17,18-19,20-bis-epóxido-16-O-desmetil-24-hidróxi-lactona macrocíclica, 17,18-29,30-bis-epóxido-16-O-desmetil-24-hidróxi-lactona macrocíclica, individualmente ou em combinação umas com as outras.

Esta invenção também cobre as composições de hidratos, sais, isômeros, pró-drogas, metabólitos e derivados de compostos da presente invenção de Fórmula I A, IB e IC.

Estruturas de modalidades preferidas (A,B,C,... AA,AB,AC,... AX,AY,AZ) dentre os compostos da presente invenção de Fórmula IA, IB e IC e suas combinações são mostradas em Tabela 1, juntamente com algumas em Figuras 2A-2AZ.




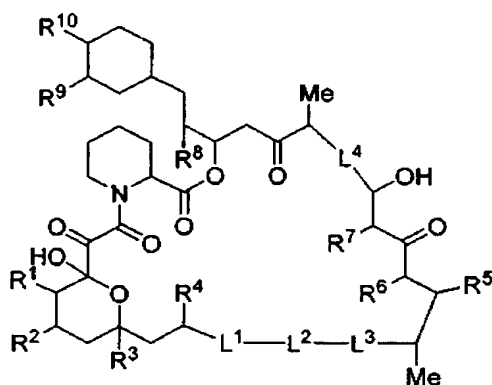



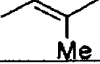
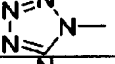
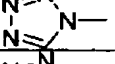
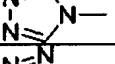
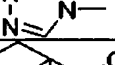
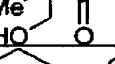


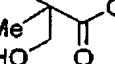
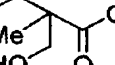

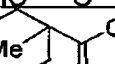
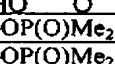
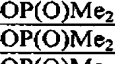
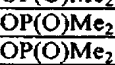
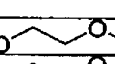
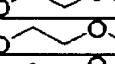
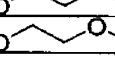
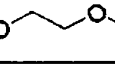
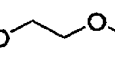
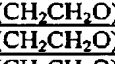
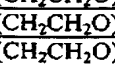







( inclui ambos estereocentros  e )

Tabela 1. Tabela de compostos preferidos.



| | R ¹ | R ² | R ³ | R ⁴ | R ⁵ | R ⁶ | R ⁷ | R ⁸ | R ⁹ | R ¹⁰ | L ¹ | L ² | L ³ | L ⁴ |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| * | Me | H | H | OMe | H | Me | OMe | Me | OMe | OH | | | | |
| A | | | | | | | | OH | OH | | | | | |
| B | | | | | | | OH | | | | | | | |
| C | OH | | | | | | | | | | | | | |
| D | | OH | | | | | | | | | | | | |
| E | | | OH | | | | | | | | | | | |
| F | | | | | OH | | | | | | | | | |
| G | | | | | | OH | | | | | | | | |
| H | | | | | | | | | | | | | | |
| I | | | | OH | | | | | | | | | | |
| J | | | | | | | | OH | | | | | | |
| K | | | | | | | OH | | | | | | | |

| | R ¹ | R ² | R ³ | R ⁴ | R ⁵ | R ⁶ | R ⁷ | R ⁸ | R ⁹ | R ¹⁰ | L ¹ | L ² | L ³ | L ⁴ |
|----|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---|--|---|---|---|
| * | Me | H | H | OMe | H | Me | OMe | Me | OMe | OH |  |  |  |  |
| L | OH | | | | | | | | |  | | | | |
| M | | OH | | | | | | | |  | | | | |
| N | | | | | OH | | | | |  | | | | |
| O | | | | | | OH | | | |  | | | | |
| P | | | | | | | | | OH |  | | | | |
| Q | | | | OH | | | | | |  | | | | |
| R | | | | | | | OH | | |  | | | | |
| S | OH | | | | | | | | |  | | | | |
| T | | OH | | | | | | | |  | | | | |
| U | | | | | OH | | | | |  | | | | |
| V | | | | | | OH | | | |  | | | | |
| W | | | | OH | | | | | |  | | | | |
| X | | | | | | | | | OH |  | | | | |
| Y | | | | | | | OH | | |  | | | | |
| Z | OH | | | | | | | | |  | | | | |
| AA | | OH | | | | | | | |  | | | | |
| AB | | | | | OH | | | | |  | | | | |
| AC | | | | | | OH | | | |  | | | | |
| AD | | | OH | | | | | | OH |  | | | | |
| AE | | | | | OH | | | | |  | | | | |
| AF | | | | | | OH | | | |  | | | | |
| AG | OH | | | | | | | | |  | | | | |
| AH | | OH | | | | | | | |  | | | | |
| AI | | | | | | | | OH | |  | | | | |
| AJ | | | | | | | | | |  |  |  |  | |
| AK | | | | OH | | | OH | | | | | | | |
| AL | | | | OH | | | | | | | | | | |
| AM | | | | | | | | | OH | | | | | |
| AN | | | | | | | OH | | | | | | | |
| AO | OH | | | | | | | | | | | | | |
| AP | | OH | | | | | | | | | | | | |

5

5

5



5

S na posição-16 e todos os outros isômeros do composto.

A invenção cobre compostos com diferentes formas polimórficas. Isto inclui 16-O-desmetil-lactona macrocíclica tendo formas polimórficas diferentes. Por exemplo, forma polimórfica diferente de 16-O-desmetil-lactona macrocíclica é obtida do uso de dicloro-metileno e do uso de uma mistura de metanol e água.

Tem havido numerosos esquemas diferentes propostos para lactonas macrocíclicas. Para evitar confusão, quando lactonas macrocíclicas específicas são aqui nomeadas, os nomes são dados com referência à lactona macrocíclica usando o esquema de numeração das fórmula química acima. Esta invenção também cobre todas as lactonas macrocíclicas que têm nome diferente devido a um esquema de numeração diferente se o mesmo grupo funcional existe na mesma localização dentro da estrutura química. Por exemplo, 39-O-desmetil-lactona macrocíclica é o mesmo composto que 41-O-desmetil-lactona macrocíclica e 16-O-desmetil-lactona macrocíclica é o mesmo composto que 7-O-desmetil-lactona macrocíclica.

Os compostos da presente invenção podem ser preparados por uma variedade de métodos. Em algumas modalidades, os compostos da presente invenção são sintetizados biologicamente por modificação genética de cepas de organismos para produzir os compostos da presente invenção ou por outros meios.

Em outra modalidade os compostos da presente invenção são preparados usando síntese química. Síntese química dos compostos da presente invenção pode utilizar a estrutura 17-18, 19-20, 21-22 trieno em lactonas macrocíclicas, que facilita a substituição nucleofílica catalisada por ácido do grupo C16 metóxi e permite a introdução de numerosas substituições diferentes e permite a manipulação seletiva do domínio efetor de lactona macrocíclica. O grupo C16 metóxi em lactonas macrocíclicas é manipulado com reagentes ácidos para produzir os compostos da presente invenção. Por

exemplo, pode ser realizada substituição dos grupos C16 metóxi com nucleófilos diferentes tais como alcoóis, tióis, e grupos aromáticos ricos em elétrons. Este método de síntese pode ser conduzido sem etapas de proteção e desproteção.

5 O método de síntese de usando reagentes ácidos com compostos tendo grupos funcionais trieno pode ser aplicado em outros compostos tendo grupos funcionais trieno para sintetizar análogos de composto correspondente proporcionando um método de síntese sem etapas de proteção e desproteção.

10 Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona um método de preparar um composto da presente invenção, o método compreendendo contatar uma lactona macrocíclica com um ácido para substituir um grupo alcóxi por um nucleófilo, preparando deste modo um composto da presente invenção. Em algumas outras modalidades, a lactona
15 macrocíclica é rapamicina. Em outras modalidades, o nucleófilo é um membro selecionado do grupo consistindo de -OH, -SH e grupos aromáticos ricos em elétrons. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros métodos são úteis para preparar os compostos da presente invenção.

Síntese de desmetil-lactona macrocíclica é proporcionada em
20 Figura 14 usando 16-O-desmetil-lactona macrocíclica como um exemplo. Síntese de hidróxi-lactona macrocíclica é proporcionada em Figura 15 usando 19,20-bis-hidróxi-lactona macrocíclica como um exemplo. Síntese de epóxido-lactona macrocíclica é proporcionada em Figura 16 usando 17,18-29,30-bis-epóxido-lactona macrocíclica como um exemplo.

25 Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um método de preparar um composto da presente invenção, o método compreendendo contatar uma lactona macrocíclica com um agente adequado tal como um peróxido ou perácido, para modificar um grupo alqueno para um epóxido, preparando deste modo um composto da presente invenção.

Perácidos úteis nos métodos da presente invenção incluem, mas não são limitados a, ácidos peróxi-carboxílicos da Fórmula $R-C(O)-OOH$, onde o grupo R pode ser grupos tais como H, alquila, alqueno ou arila. Em algumas modalidades, o perácido é ácido peróxi-acético ou ácido meta-cloro-peróxi-benzóico (MCPBA). Peróxidos úteis nos métodos da presente invenção incluem, mas não são limitados a, peróxido de hidrogênio. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros reagentes de epoxidação são úteis na presente invenção.

Os compostos da presente invenção estão opcionalmente deuterados.

Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona compostos da presente invenção que têm uma potência similar à da lactona macrocíclica parental correspondente. Em outra modalidade, a presente invenção proporciona compostos da presente invenção que são menos potentes do que a lactona macrocíclica parental correspondente com o objetivo de afetar o perfil dos compostos.

III. Liberação de compostos da presente invenção

Os compostos da presente invenção podem ser administrados em qualquer maneira apropriada. Em algumas modalidades, os compostos são administrados oralmente, intramuscularmente, intraperitonealmente, subcutaneamente, pulmonarmente, mucosalmente, transdermicamente, intravascularmente e outros. Em outras modalidades, os compostos são administrados sítio-especificamente através de meios de liberação de droga temporária ou permanente ou uma combinação de meios sistêmicos e sítio-específicos. Exemplos incluem, mas não são limitados a cateter, stent, envoltório vascular, bomba, derivação ou outro meio de liberação de droga temporária ou permanente.

A. Dispositivo

Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona um

dispositivo para uso intracorpóreo, o dispositivo compreendendo uma prótese vascular; e pelo menos uma fonte de um composto da presente invenção.

Em outras modalidades, a presente invenção proporciona um dispositivo configurado para liberar o composto a um órgão ou lúmen de corpo dentro de um corpo intracorpóreo para inibir proliferação celular ou migração celular. Em uma outra modalidade, o dispositivo está configurado para liberar o composto a um órgão ou lúmen de corpo dentro de um corpo intracorpóreo para inibir proliferação de célula de músculo liso.

Em outra modalidade da presente invenção o dispositivo de liberação de droga um dispositivo tal como um implante incluindo implantes de enxerto, implantes vasculares, implantes não-vasculares, próteses luminais implantáveis, implantes de fechamento de ferimento, implantes de liberação de droga, suturas, implantes de liberação biológica, implantes de trato urinário, implantes inter-uterinos, implantes de órgão, implantes oftálmicos, implantes de osso incluindo placas de osso, parafusos de osso, implantes dentais, discos espinhais, ou semelhantes.

O implante tipicamente permite um ou mais dos seguintes: suportar, conter, segurar junto, fixar, obstruir, fechar, manter, liberar droga, liberar agentes biológicos - para um osso, massa de tecido, conduto, vaso, órgão ou lúmen de corpo para a preservação ou o tratamento de condições de doença, tais como por exemplo doenças hiperproliferativas, restenose, doença cardiovascular, inflamação, cicatrização de ferimento, câncer, aneurisma, doença diabética, aneurisma aórtico abdominal, hipercalcemia, ou outras.

O implante da presente invenção pode ser formado de metal, liga metálica, polímero, cerâmica, semi-metal, nanocompósitos ou combinação dos mesmos. Por exemplo, um implante pode ser feito de metal tal como tântalo, ferro, magnésio, molibdênio ou outros; de uma liga metálica degradável ou não-degradável tal como aço inoxidável 316L, aço carbono, liga de magnésio, NI-Ti, Co-Cr tal como L605, MP35 ou outra; de um

polímero que é degradável ou não-degradável tal como poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), poliésteres, poliamida, copolímeros ou outros ou misturas de polímeros; combinação de metais ou ligas de metal tais como implante feito de combinação de camadas de aço inoxidável e tântalo ou outros; nanocompósitos tais como nanofibras de carbono ou nanotúbulos de carbono ou outros.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um dispositivo sendo que o implante é uma prótese vascular. Em algumas modalidades, a prótese vascular compreende uma estrutura expansível. Em outras modalidades, a prótese vascular compreende um stent, enxerto, ou uma armação formada pelo menos em parte de uma treliça aberta. Em ainda outras modalidades, a prótese vascular é um stent.

Em outra modalidade, os compostos da presente invenção podem ser aplicados adjacentes à superfície do implante. Por exemplo os compostos da presente invenção podem ser incorporados dentro do implante, contidos dentro de um revestimento, ou transportados sobre o implante.

Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona um dispositivo compreendendo uma prótese vascular sendo que a prótese vascular tem uma superfície voltada para o tecido e luminal, e sendo que o composto está associado pelo menos uma das superfícies voltadas para o tecido ou luminal.

Em uma outra modalidade, os compostos da presente invenção são aplicados sobre todas as superfícies de implante. Em outra modalidade, os compostos da presente invenção são aplicados apenas na superfície luminal ou abluminal. Em ainda outra modalidade, os compostos da presente invenção são aplicados apenas em áreas de estresse baixo ou de estresse alto.

Em outra modalidade, os compostos da presente invenção estão contidos dentro de um filamento ou filamentos erodível(eis) ou não-erodível(eis) quantidade eficaz é/são adjacentes ao implante.

Um exemplo da configuração de stent para suportar um composto da presente invenção é ilustrado em FIG. 3 em um estado contraído. O corpo de stent é formado de múltiplos anéis 110. Os anéis são formados de coroas 120 e escoras 130 em uma sinuosa geralmente expansível, tal como, zigue-zague, serrilhada, onda sinusoidal ou outra. O corpo é unido por ligações ou conectores 140. É entendido que os conectores podem ser de qualquer comprimento ou forma, ou pode não ser necessários se as coroas são diretamente conectadas umas nas outras. O stent tem um diâmetro de estado contraído típico de entre 0,25 mm e 4 mm, ou mais preferivelmente entre 0,7 mm e 1,5 mm, e um comprimento de entre 5 mm e 100 mm. Em seu estado expandido, o diâmetro do stent é tipicamente de pelo menos o dobro até 10 vezes ou mais daquele do stent em seu estado contraído. Assim, um stent com um diâmetro contraído de entre 0,7 mm e 1,5 mm pode expandir radialmente para 2 mm a 10mm ou mais.

Stents de eluição de droga com compostos potentes de lactona macrocíclica tal como rapamicina (Cypher™) têm resultado em perda luminal tardia dentro da faixa de aproximadamente 0,01 mm a 0,2 mm em aproximadamente 4 meses a 12 meses de supervisão angiográfica. A perda luminal tardia com stents de Metal nú tem variado de aproximadamente 0,70 mm a 1,2 mm para o mesmo período de tempo. Perda luminal tardia menor tipicamente diminuiu a estenose percentual. Contudo, perda luminal tardia menor com stents de eluição de droga em comparação com stents de Metal nu em alguns casos resulta em cobertura de tecido inadequada da superfície do stent que potencialmente pode aumentar incidência de trombose de stent tardia.

Em uma modalidade preferida, a perda luminal tardia para stent suportando compostos da presente invenção após aproximadamente 4 a 12 meses após implantação é maior do que a perda luminal tardia para stent transportando a lactona macrocíclica parental correspondente em 0,05 mm a

0,6 mm, preferivelmente em 0,1 mm a 0,4 mm, mais preferivelmente em 0,15 a 0,3 mm. Por exemplo, perda luminal tardia após implantação varia de 0,01 mm a 0,6 mm, preferivelmente de 0,1 mm a 0,5 mm e muito mais preferivelmente de 0,2 mm a 0,4 mm. Em outra modalidade, a presente invenção proporciona perda luminal tardia para stent suportando compostos da presente invenção similar a um stent suportando a lactona macrocíclica correspondente. Em outra modalidade preferida, a presente invenção proporciona perda luminal tardia para stent suportando compostos da presente invenção sendo mais alta do que para um stent suportando a lactona macrocíclica correspondente. Lúmen tardio mais alto pode proporcionar cobertura de tecido aumentada do stent que pode melhorar a segurança do stent.

Em outra modalidade preferida, a estenose percentual aproximadamente 4 a 12 meses após implantação para um stent suportando compostos da presente invenção é maior em 1 a 30 por cento do que uma estenose percentual para um stent suportando a lactona macrocíclica correspondente, preferivelmente de 3 a 20 por cento, mais preferivelmente de 5 a 15 por cento. Em ainda outra modalidade preferida, a presente invenção proporciona estenose percentual para um stent suportando compostos da presente invenção similar a um stent suportando a lactona macrocíclica correspondente. Em outra modalidade preferida, a presente invenção proporciona estenose percentual para um stent suportando compostos da presente invenção mais alta do que um stent suportando a lactona macrocíclica correspondente. Em outra modalidade preferida, a estenose percentual para um stent suportando compostos da presente invenção é mais alta do que um stent suportando a lactona macrocíclica correspondente mas menor do que o stent de Metal nu. Estenose mais alta pode proporcionar cobertura de tecido aumentada do stent que pode melhorar a segurança do stent.

Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona um dispositivo sendo que a quantidade de compostos da presente invenção sobre o implante é menor do que cerca de 1 g/cm^2 . Em outras modalidades, a quantidade de compostos sobre o implante pode variar de cerca de 1 nanograma/ cm^2 a cerca de 1.000 micrograma/ cm^2 , preferivelmente de cerca de 1 micrograma/ cm^2 a cerca de 500 micrograma/ cm^2 , mais preferivelmente de cerca de 10 micrograma/ cm^2 a cerca de 400 micrograma/ cm^2 .

Em uma outra modalidade, a presente invenção proporciona um dispositivo sendo que a concentração do composto da presente invenção no tecido adjacente ao implante é de cerca de 0,001 ng/g de tecido a cerca de 1.000 $\mu\text{g/g}$ de tecido, preferivelmente de cerca de 1 ng/g de tecido a cerca de 500 $\mu\text{g/g}$ de tecido, mais preferivelmente de cerca de 100 ng/g de tecido a cerca de 100 $\mu\text{g/g}$ de tecido.

Em outra modalidade, os compostos da presente invenção podem ser liberados do implante durante um período variando de 1 dia a 2 anos, preferivelmente de 3 dias a 6 meses, mais preferivelmente de 1 semana a 3 meses. Em outras modalidades, os compostos da presente invenção podem ser liberados do implante durante um período maior do que 1 dia, preferivelmente maior do que 2 semanas, mais preferivelmente maior do que 1 mês. Em outra modalidade, os compostos da presente invenção podem exigir mais do que 2 anos para serem liberados totalmente do stent. Em algumas modalidades, a quantidade de composto liberada durante um período de tempo dado é pelo menos 25%. Em outras modalidades, a quantidade de composto liberada é pelo menos 50%. Em ainda outras modalidades, a quantidade de composto liberada é pelo menos 75%. Em ainda outras modalidades, a quantidade de composto liberada pode ser pelo menos 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ou 99%.

Em uma outra modalidade, a presente invenção proporciona um dispositivo sendo que pelo menos 75% do composto é liberado do

dispositivo em um período de cerca de 1 dia a cerca de 2 anos. Em outra modalidade, pelo menos 90% do composto é liberado do dispositivo em um período de cerca de 3 dia a cerca de 6 meses. Em ainda outra modalidade, pelo menos 90% do composto é liberado do dispositivo em um período de cerca de 1 semana a cerca de 3 meses.

Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona um dispositivo que adicionalmente inclui um agente terapêutico, tais como aqueles descritos abaixo. Em algumas outras modalidades, o agente terapêutico é liberado antes da, concorrente com a, ou subsequente à liberação do composto. Em outras modalidades, o composto é liberado de uma primeira fonte e o agente terapêutico é liberado de uma segunda fonte. Em ainda outras modalidades, o composto e o agente terapêutico são liberados de uma única fonte.

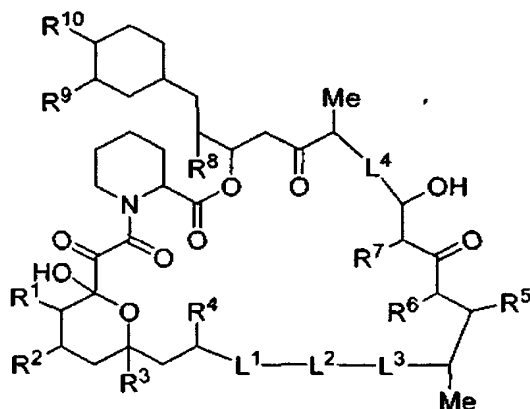
B. Administração

Os compostos da presente invenção podem ser administrados sistemicamente em uma base de dose diária, intermitente ou de um tempo. A dose sistêmica diária pode variar de 0,1 mg a 20 mg preferivelmente 0,5 mg a 10 mg, muito mais preferivelmente de 1 mg a 5 mg por dia. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outras doses também são úteis na presente invenção.

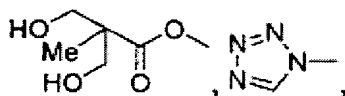
Os compostos da presente invenção podem ser liberados do implante em taxas variando de cerca de 1 nanograma/cm²/dia a cerca de 1.000 micrograma /cm²/dia, preferivelmente de cerca de 1 micrograma/cm²/dia a cerca de 200 micrograma/cm²/dia, mais preferivelmente de cerca de 5 micrograma /cm² /dia a cerca de 100 micrograma /cm² /dia.

C. Formulações farmacêuticas

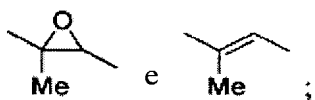
Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona uma composição farmacêutica e um excipiente farmacêuticamente aceitável e um composto de fórmula:



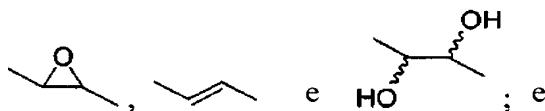
sendo que R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , R^6 e R^8 são cada um independentemente um membro selecionado do grupo consistindo de H, C_{1-6} alquila e OH; R^4 , R^7 e R^9 são cada um independentemente selecionados do grupo consistindo de C_{1-6} alcóxi e OH; R^{10} é um membro selecionado do grupo consistindo de H, -OH, -OP(O)Me₂;



-O-(CH₂)_n-OH e -O-(CH₂)_m-O-(CH₂)_o-CH₃, sendo que os subscritos n e m são cada um independentemente de 2 a 8 e subscrito o é de 1 a 6; cada um de L^1 e L^4 são independentemente selecionados do grupo consistindo de:



cada um de L^2 e L^3 são independentemente selecionados do grupo consistindo de:



sais, hidratos, isômeros, metabólitos e pró-drogas dos mesmos.

Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona uma composição farmacêutica sendo que o excipiente farmacêuticamente aceitável é um membro selecionado do grupo consistindo de um polímero, um solvente, um antioxidante, um aglutinante, uma carga, um desintegrante, um

lubrificante, um revestimento, um edulcorante, um flavorizante, um estabilizador, um colorante, um metal, uma cerâmica e um semi-metal. Em outras modalidades, o excipiente farmacêuticamente aceitável é um polímero.

Os ingredientes ativos da presente invenção podem ser misturados com agentes de transporte, diluentes, adjuvantes, excipientes, ou veículos farmacêuticamente aceitáveis, tais como agentes conservantes, cargas, polímeros, agentes desintegrantes, agentes de deslizamento, agentes umectantes, agentes emulsificadores, agentes de suspensão, agentes edulcorantes, agentes flavorizantes, agentes perfumantes, agentes lubrificantes, agentes acidulantes, e agentes dispersantes, dependendo da natureza da administração e das formas de dosagem. Tais ingredientes, incluindo excipientes e agentes de transporte farmacêuticamente aceitáveis que podem ser usados para formular formas de dosagem orais, são descritos no "Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association" (1986), aqui incorporado em sua totalidade como referência. Exemplos de agentes de transporte farmacêuticamente aceitáveis incluem água, etanol, polióis, óleos vegetais, gorduras, polímeros, incluindo polímeros formadores de gel e não-formadores de gel, e misturas adequadas do mesmo. Exemplos de excipientes incluem amido, amido pré-gelatinizado, Avicel, lactose, açúcar de leite, citrato de sódio, carbonato de cálcio, fosfato de dicálcio, e mistura de verniz. Exemplos de agentes desintegrantes incluem amido, ácidos algínicos, e certos silicatos complexos. Exemplos de lubrificantes incluem estearato de magnésio, lauril-sulfato de sódio, talco, bem como poli(etileno-glicóis) de peso molecular alto. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros excipientes diferentes podem ser usados nas formulações de acordo com a presente invenção e a lista aqui fornecida não é completa.

Revestimentos de polímero não-degradáveis ou lentamente degradáveis incluem, mas não são limitados a, poliuretano, polietilenos-imina,

copolímero de etileno / vinil álcool, silicone, C-flex, náilons, poliamida, poliimida, poli(tetrafluoro-etileno) (PTFE), parylen, parylast, poli(metacrilato de metila), copolímero de poli(metacrilato de n-butila), ou misturado com poli(etileno / acetato de vinila), poli(metacrilato de metila), poli(metacrilato de 2-hidróxi-etila), poli(metacrilatos de etileno-glicol), poli(cloreto de vinila), poli(dimetil-siloxano), poli(etileno / acetato de vinila), policarbonato, géis de poliacrilamida, e semelhante, incluindo outras substâncias poliméricas sintéticas ou naturais; misturas, copolímeros, ou suas combinações.

Revestimentos de polímero biodegradável adequados incluem, mas não são limitados a, poli(ácido láctico), polilactatos, poli(ácido glicólico), poliglicolatos e copolímeros e isômeros, polidioxanona, poli(glutamato de etila), poli(hidróxi-butirato), poli(hidróxi-valerato) e copolímeros, policaprolactona, polianidrido, poli(orto-ésteres); poli(éter-ésteres), poli(etileno-glicóis), poli(óxido de etileno), poli(carbonato de trimetila), poli(carbonato de etileno), copolímeros de poli(carbonato de etileno) e poli(carbonato de trimetila), poli(carbonato de propileno), poli(imino-carbonatos), polímeros baseados em amido, butirato acetato de celulose, poliéster-amidas, poliéster-aminas, policianoacrilatos, polifosfazenos, N-vinil-2-pirrolidona, poli(anidrido maleico), compostos de amônio quaternário incluindo cloreto de estearil-amônio e cloreto de benzil-amônio, copolímeros e outros poliésteres alifáticos, ou seus copolímeros adequados incluindo copolímeros de poli(ácido L-lático) e poli(e-caprolactona); misturas, copolímeros, ou combinações dos mesmos.

Revestimentos naturais adequados incluem: fibrina, albumina, colágeno, gelatina, glicosaminoglicanos, oligossacarídeos e polissacarídeos, condroitina, sulfatos de condroitina, hidróxi-apatita, fosfolipídeos, fosforilcolina, glicolipídeos, ácidos graxos, proteínas, celulose, e misturas, copolímeros, ou combinações dos mesmos.

Revestimentos não poliméricos adequados incluem

revestimentos metálicos tais como tungstênio, magnésio, cobalto, zinco, ferro, bismuto, tântalo, ouro, platina, aço inoxidável tal como 316L, 304, ligas de titânio; revestimentos de cerâmica tal com óxido de silício; semi-metais tal como carbono, revestimentos nanoporosos; ou combinações dos mesmos.

5 Em algumas modalidades, o excipiente farmacologicamente aceitável é um polímero selecionado do grupo consistindo de poliuretano, polietileno-imina, copolímero de etileno / vinil-álcool, silicone, C-flex, náilons, poliamida, poliimida, poli(tetrafluoro-etileno) (PTFE), parylene, parylast, poli(metacrilato), poli(cloreto de vinila), poli(dimetil-siloxano),
10 poli(etileno / acetato de vinila), policarbonato, géis de poliacrilamida, poli(metacrilato de metila), poli(metacrilato de n-butila), copolímero de poli(metacrilato de butila) ou misturado com poli(etileno / acetato de vinila), poli(metacrilato de metila), poli(metacrilato de 2-hidróxi-etila), poli(metacrilatos de etileno-glicol), poli(carbonato de etileno), copolímero de
15 poli(L-lactídeo-glicolídeo), copolímero de L-lactídeo - carbonato de trimetileno e poli(L-lactídeo). Em uma outra modalidade, o polímero é poli(metacrilato de n-butila).

 Em uma outra modalidade, a presente invenção proporciona uma composição na qual o composto está presente em uma quantidade de
20 pelo menos 25% (p/p) em uma mistura de o composto e o polímero. Em outra modalidade, o composto está presente em uma quantidade de pelo menos 50% (p/p). Em uma outra modalidade, o composto está presente em uma quantidade de pelo menos 75% (p/p). Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outras composições são úteis na presente invenção.

25 Em outra modalidade, os compostos da presente invenção podem ser aplicados sobre um stent sem um revestimento. Em outra modalidade, compostos da presente invenção podem ser aplicados sobre um stent em combinação com um revestimento de polímero tal como em uma matriz de polímero - compostos da presente invenção. Os compostos da

presente invenção podem estar total ou parcialmente cristalizados ou em uma forma amorfa. O polímero pode ser não-degradável, parcialmente degradável ou totalmente degradável. O revestimento também pode ser um revestimento não-polimérico tal como um revestimento metálico. Em outra modalidade, os compostos da presente invenção podem ser aplicados sobre um stent sozinhos ou contidos em um revestimento com revestimento de topo de polímero ou de não-polímero. Em outra modalidade, o stent inclui um revestimento subjacente disposto entre a superfície do stent e os compostos da presente invenção ou a matriz de polímero - compostos da presente invenção.

10 Revestimentos subjacentes adequados podem ser poliméricos tais como paralyne C, parylene N, etileno vinil-álcool (EVOH), policaprolactona, acetato de etil-vinila hidroxilado (EVA), ou outros ou combinações dos mesmos ou não-poliméricos tais como metálico ou cerâmico ou outros.

Os revestimentos podem ser aplicados por qualquer um de diferentes modos que incluem mas não são limitados a pulverização, deposição ultra-sônica, imersão, dispersão de jato de tinta, deposição de plasma, implantação de íon, borriço, evaporação, deposição de vapor, pirólise, galvanoplastia, revestimento de descarga incandescente, ou outros ou combinação dos mesmos.

20 A espessura do revestimento pode variar de 1 nanômetro a 100 micrômetros, preferivelmente de 100 nanômetros a 50 micrômetros, mais preferivelmente de 1 micrômetro a 20 micrômetros.

Os compostos da presente invenção podem ser combinados com antioxidantes ou estabilizadores para prevenir degradação devido à oxidação ou outros meios. Antioxidantes incluem mas não são limitados a hidróxi-tolueno butilado (BHT), sulfato ferroso, ácido etileno-diamino-tetra-acético (EDTA), ou outros. Estabilizadores incluem, mas não são limitados a, anglene, hidroquinona, quinina, metabissulfito de sódio ou outros. Antioxidantes e estabilizadores podem ser combinados com os compostos

25

diretamente ou misturados com a formulação de composto tal como matriz de polímero - composto para reduzir a mudança de conformação ou a degradação durante os processos de manufatura e aumentar a vida de prateleira ou a vida de armazenagem dos compostos ou do implante contendo o composto. A quantidade de antioxidantes tal como BHT nos compostos pode variar de 0,01% a 10%, preferivelmente de 0,05% a 5% e muito mais preferivelmente de 0,1% a 1%. A quantidade de estabilizadores tal como amileno nos compostos pode variar de 0,001% a 0,1%, preferivelmente de 0,005% a 0,05%, muito mais preferivelmente de 0,01% a 0,02%. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros antioxidantes e estabilizadores são úteis na presente invenção.

Os compostos da presente invenção podem ser administrados em combinação com um agente terapêutico tal como agentes anti-plaquetas, agentes anti-trombóticos, agente antiinflamatório, agentes anti-proliferativos, imunossuppressores, agente anti-câncer ou outros agentes ou combinações dos mesmos. Uma pessoa experiente na técnica perceberá que outros agentes terapêuticos são úteis na presente invenção.

Os agentes terapêuticos podem ser incorporados sobre o stent juntamente com os compostos da presente invenção e/ou separadamente dos compostos da presente invenção. Pelo menos uma porção do agente terapêutico pode ser liberada do stent antes da, concorrentemente com a ou após a liberação dos compostos da presente invenção do stent. O agente terapêutico também pode ser dado separadamente através de administração sistêmica ou sítio-específica antes da, durante a ou após a liberação dos compostos da presente invenção.

Por exemplo, compostos da presente invenção são usados com agentes anti-plaquetas ou anti-trombóticos tais como heparina, clopidogrel, Coumadina, aspirina, ticlid ou outros. Em outro exemplo, compostos da presente invenção são dados com agentes antiinflamatórios tais como

aspirina, diclofenac, indometacina, sulindac, cetoprofeno, flurbiprofeno, ibuprofeno, naproxeno, piroxicam, tenoxicam, tolmetina, ceterolac, oxaprosin, ácido mefenâmico, fenoprofeno, nambumetona (relafeno), acetaminofeno, e misturas dos mesmos; inibidores de COX-2, tais como nimesulida, NS-398, flosulida, L-745337, celecoxib, rofecoxib, SC-57666, DuP-697, parecoxib sódio, JTE-522, valdecoxib, SC-58125, etoricoxib, RS-57067, L-748780, L-761066, APHS, etodolac, meloxicam, S-2474, tacrolimus, e suas misturas; glicocorticóides, tais como hidrocortisona, cortisona, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, meprednisona, triancinolona, parametasona, fluprednisolona, betametasona, dexametasona, fludrocortisona, desoxicorticosterona, ou outros análogos dos acima ou combinações dos mesmos.

Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona uma composição onde menos do que cerca de 5% do composto é metabolizado a rapamicina. Em algumas outras modalidades, menos do que cerca de 1% do composto é metabolizado a rapamicina. Em ainda outras modalidades, menos do que cerca de 0,1% do composto é metabolizado a rapamicina.

Em outras modalidades, a presente invenção proporciona uma composição em uma forma de dosagem, tendo uma dose sistêmica diária do composto de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg. Em algumas outras modalidades, a dose sistêmica diária do composto é de cerca de 0,5 mg a cerca de 10 mg. Em outra modalidade, a dose sistêmica diária do composto é de cerca de 1 mg a cerca de 5 mg.

IV. Tratamento

Os compostos da presente invenção podem ser usados para tratar condições responsivas à classe dos compostos comumente conhecidos como trienos macrocíclicos ou lactonas macrocíclicas.

Os compostos da presente invenção podem ser usados para

tratar doenças em mamíferos sozinhos ou em combinação com outros agentes, incluindo condições tais como:

a) Tratamento e prevenção de rejeição aguda ou crônica de transplante de tecido ou órgão, e.g. para o tratamento de pacientes recipientes de transplantes de coração, pulmão, coração-pulmão combinados, fígado, rim, pâncreas, pele ou córnea. Também podem ser usados para a prevenção de doença de hospedeiro-versus-enxerto, tais como após transplante de medula óssea.

b) Tratamento e prevenção de vasculopatias de transplante, e.g. aterosclerose.

c) Tratamento e prevenção de migração e proliferação celular para espessamento de membrana íntima de vaso, obstrução de vaso sanguíneo, aterosclerose vascular obstrutiva, restenose.

d) Tratamento e prevenção de doença autoimune e de condições inflamatórias, tais como condições inflamatórias com uma etiologia incluindo componente autoimune tal como artrite (por exemplo artrite reumatóide, artrite crônica progrediente e artrite deformante) e doenças reumáticas.

e) Tratamento e prevenção de asma.

f) Tratamento de condições de resistência a multi-drogas tais como câncer resistente a multi-drogas ou AIDS resistente a multi-drogas.

g) Tratamento de distúrbios proliferativos, e.g. tumores, câncer, distúrbio de pele hiperproliferativa e semelhante.

h) Tratamento de infecções tais como fúngica, bacteriana e viral.

i) Tratamento ou prevenção de proliferação celular em derivações vasculares.

j) Tratamento ou prevenção de doenças e condições oftálmicas.

A potência de Composto AR e rapamicina (Sirolimus) para inibir proliferação celular de humano é demonstrada em um modelo *in vitro*. O teste é descrito em Exemplo 2 e os resultados são mostrados em Figura 8. Composto AR inibiu o crescimento de células de músculo liso sobre uma
5 faixa de concentrações como demonstrado em Figura 8.

Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona um método de inibir proliferação celular ou migração celular por administração a um sujeito em necessidade da mesma, de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da presente invenção.

10 Em outras modalidades, a presente invenção proporciona um método no qual o composto da presente invenção é administrado sistêmica, localmente ou via uma combinação dos mesmos.

Em algumas outras modalidades, a administração do composto da presente invenção é via administração oral, administração como um
15 supositório, administração por contato tópico, parenteral, intravascular, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intralesional, intranasal, pulmonar, mucosal, transdérmica, oftálmica, subcutânea ou intratecal.

Em ainda outras modalidades, a administração do composto da presente invenção é via liberação através de um dispositivo temporário ou um
20 implante. Em outra modalidade, o dispositivo temporário é selecionado do grupo consistindo de um cateter e um balão poroso. Em ainda outra modalidade, o implante é uma prótese vascular. Em ainda outras modalidades, a prótese vascular compreende uma estrutura expansível. Em outra modalidade, a prótese vascular compreende um stent, enxerto, ou uma
25 armação formada pelo menos em parte de uma treliça aberta.

Em uma modalidade, a concentração de inibição (IC_{50}) de compostos da presente invenção é aproximadamente igual à IC_{50} de sua lactona macrocíclica parental (antes das modificações em Figura 1). Em outra modalidade, a IC_{50} é maior do que a IC_{50} de sua lactona macrocíclica parental

correspondente. Em ainda outra modalidade, a IC_{50} é menor do que a IC_{50} de sua lactona macrocíclica parental correspondente. Por exemplo, a IC_{50} é duas a mil vezes menor do que a IC_{50} de sua lactona macrocíclica parental correspondente.

5 Em uma modalidade preferida, a IC_{50} de um composto da presente invenção é 1,5 a 1.000 vezes maior do que sua lactona macrocíclica parental correspondente, preferivelmente 2 a 100 vezes maior do que a lactona macrocíclica parental correspondente e mais preferivelmente 5 a 50 vezes maior do que a lactona macrocíclica parental correspondente. Em outra
10 modalidade a IC_{50} de um composto da presente invenção é de cerca de 0,1 nM a cerca de 1 μ M, preferivelmente de cerca de 1 nM a cerca de 0,5 μ M, mais preferivelmente de cerca de 5 nM a cerca de 100 nM.

Outros meio de medir a efetividade dos compostos da presente invenção incluem a medição de concentração eficaz (EC_{50}). Em uma
15 modalidade, a EC_{50} é aproximadamente igual à EC_{50} da lactona macrocíclica parental correspondente. Em outra modalidade, a EC_{50} é maior do que a EC_{50} da lactona macrocíclica parental correspondente. Em ainda outra modalidade, a EC_{50} é menor do que a EC_{50} da lactona macrocíclica parental correspondente.

20 Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona um método no qual a dose eficaz do composto é de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg. Em algumas outras modalidades, a dose eficaz do composto é de cerca de 0,5 mg a cerca de 10 mg. Em ainda outras modalidades, a dose eficaz do composto é de cerca de 1 mg a cerca de 5 mg.

25 Os compostos, as composições e os dispositivos da presente invenção são úteis para inibição de citocina. Citocina pró-inflamatória IL-6 é sintetizada em resposta aos diversos estímulos inflamatórios e atua como uma proteína regulatória chave na cascata inflamatória. IL-6 desempenha um papel importante na estimulação de resposta de fase aguda após lesão, incluindo a

liberação de fibrinogênio e proteína reativa-C.

IL-6 também pode estar diretamente envolvida em restenose, como tem sido mostrado em estimular o recrutamento de leucócito para dentro de parede de vaso, e proliferação vascular de célula de músculo liso, fatores que são essenciais para a patogênese de doenças hiperproliferativas tal como restenose.

Metaloproteinases de matriz (MMP-9) desempenham um papel chave em migração e proliferação celulares incluindo condições tais como crescimento de neoíntima e remodelagem vascular após implantação de stent. Liberação de MMPs causa aumentos em matriz extracelular, rica em proteoglicano que aumenta a migração de célula de músculo liso após lesão vascular.

Níveis de MMP-9 ativa de plasma podem ser um prognosticador independente útil de ISR de stent de Metal nu. ("Elevated Plasma Active Matrix Metalloproteinase-9 Level Is Associated With Coronary Artery In-Stent Restenosis", *Arterioscler Thromb Vase Biol.* 2006; 26:e121-e125.)

Proteína 1 quimioatraente de monócito (MCP-1) é um agente quimioatraente de monócito potente secretado por muitas células in vitro, incluindo células endoteliais e de músculo liso vascular. Tem sido mostrado que eliminação de gene de MCP-1 ou bloqueio de sinais de MCP-1 diminui aterogênese em camundongos hipercolesterolêmicos. Tem sido mostrado que MCP-1 desempenha um papel em patogênese de hiperplasia neoíntima em macacos. ("Importance of Monocyte Chemoattractant Protein-1 Pathway in Neointimal Hyperplasia After Periarterial Injury in Mice and Monkeys", *Circ Res.* 2002;90:1167-1172.) MCP-1 também é fortemente expressada em um subconjunto pequeno de células em regiões ricas em macrófago de lesões ateroscleróticas de coelho e de humano ("Expression of Monocyte Chemoattractant Protein 1 in Macrophage-Rich Areas of Human and Rabbit

Atherosclerotic Lesions", PNAS, Vol 88, 5252-5256). Inibição de MCP-1 pode ter um impacto terapêutico sobre tratamento e prevenção de condições doentias inflamatórias, proliferativas e outras condições inflamatórias discutidas acima.

Interleucina-10 (IL-10) é uma citocina antiinflamatória com um efeito inibitório poderoso sobre monócitos. Tem sido mostrado que IL-10 reduz hiperplasia íntima pós-lesão ("Interleukin-10 Inhibits Intimal Hyperplasia After Angioplasty or Stent Implantation in Hypercholesterolemic Rabbits" Circulation. 2000;101:908-916). Produção endógena de IL-10 por monócitos de humano em resposta às estimulação de LDL inibe a produção de IL-12, indicando uma ação regulatória cruzada de IL-10 que pode contrabalançar a resposta pró-inflamatória.

Pode ser avaliado que todas as modalidades mostradas na presente invenção podem ser utilizadas sozinhas ou em combinação com outras modalidades ou exemplos nesta invenção.

V. Exemplos

Exemplo 1: Preparação de 16-O-desmetil-lactona macrocíclica (Composto AR)

Lactona macrocíclica rapamicina (1,000 mg, 10,75 mmol) em 500 ml de acetonitrila foi tratada com 500 ml de ácido clorídrico 0,1 N. A solução resultante foi agitada na temperatura ambiente por cerca de 28 horas. Então a mistura reacional foi extraída com dicloro-metano em um funil de separação. As camadas orgânicas foram lavadas com água e salmoura, então lavadas com tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH=7,4) duas vezes ou até pH=7, então lavadas três vezes com água destilada (DI). Finalmente a camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ e deixada em um refrigerador durante a noite. Concentração em vácuo deu um pó quase brando de Composto AR (aprox. 820 mg).

Composto AR foi purificado por HPLC preparativa em uma

coluna Ascentis C18 (21,2 mm x 250mm, 10 μ m) de SUPECO usando Metanol:água (80:20) como fase móvel de 0-12 min então mudada para Metanol 100% de 12,01-20min em uma vazão de fluxo de 15 ml/min. A concentração de carregamento foi 350 mg/ml e o volume de injeção foi 100 μ L. O composto foi monitorado por absorvância em UV a 254 nm. Sob estas condições, Composto AR foi eluído entre 9,0 e 11,5 min enquanto que os materiais iniciais e subprodutos foram eluídos entre 17,0 e 20,0 min.

A HPLC preparativa também pode ser conduzida usando um gradiente de acetonitrila : água (partindo de 70:30) como fase móvel e monitorada por absorvância em UV a 278 nm. O cromatograma de HPLC preparativa usando este método de preparação é mostrado em Figura 4.

As frações contendo o Composto AR foram colhidas e reunidas juntas, então o solvente foi evaporado pelo uso de um rotovac e secagem por congelamento para dar um pó quase branco de Composto AR.

^1H RMN (CDCl_3 , 400MHz, mistura de rotâmeros de amida trans:cis, deslocamentos químicos entre parênteses referem-se ao rotâmero maior) é apresentado em Figura 5. δ , ppm 0,532 (q, $J=12\text{Hz}$, 1H), 0,890 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 3H), 0,921 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 3H), 0,931 (d, $J=6,4\text{Hz}$, 3H), 0,971 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 3H), 0,991 (d, $J=6,6\text{Hz}$, 3H), 1,005 (d, $J=6,4\text{Hz}$, 3H), 1,686 (s, 3H), 1,772 (s, 3H), 1,773 (s, 3H), 1,823 (s, 3H), 3,330 (s, 3H), 3,380 (s, 3H), 3,859 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 1H), 4,001 (d, $J=3,6\text{Hz}$, 1H), 4,03-4,07 (m, 1H), 4,22 (br, 1H), 5,21-5,28 (m, 3H), 5,336 (d, $J=11,6\text{Hz}$, 1H), 5,384 (dd, $J=14,8, 9,6\text{Hz}$, 1H), 6,117 (dd, $J=14,4, 10,8\text{Hz}$, 1H), 6,243 (dd, $J=14,4, 10,4\text{ Hz}$, 1H), 6,376 (dd, $J=14,8, 11,2\text{Hz}$, 1H).

Comparado com RMN de próton do composto parental, o desaparecimento do pico em 3,14 ppm demonstra a desmetilação da posição C16 apenas e a completitude da reação. (Veja *Journal of Antibiotics* 1991, 44(6), 688 para indicação de espectro de RMN para rapamicina.)

A estrutura química de Composto AR foi depois verificada por

experimentos espectrométricos de massa. Os padrões de fragmentação indicaram a presença de m/z 900 enquanto que Rapamicina proporciona m/z 914 sob as mesmas condições. Os resultados de experimentos de cromatografia líquida e de espectroscopia de massa são fornecidos em Figura 6 que mostra a identificação de Composto AR com m/z 900.

O teor total de Composto AR foi determinado por uma HPLC em fase reversa usando uma coluna Supelco C18 (4,6 mm x 150mm, 5 μ m) de Sigma Aldrich usando metano : água (90:10) como fase móvel e uma vazão de fluxo de 1 ml/min. Composto AR foi monitorado por absorbância em UV a 254 nm. Composto AR teve um tempo de retenção de 7,97 min. Figura 7 mostra o cromatograma de HPLC analítica de Composto AR com teor total de >98%. A pureza de Composto AR foi determinada por uma HPLC em fase rever usando uma coluna YMC ODS-AL C18 (4,6 mm x 250mm, 5 μ m) de Waters Corporation usando uma fase móvel em gradiente de acetonitrila : água e uma vazão de fluxo de 1,0 ml/min. Figura 7b mostra isômeros maiores de Composto AR com uma pureza > 98% conforme monitorada por absorbância em UV a 278nm.

Como um meio para minimizar a oxidação do composto AR, 0,1% p/p de Hidróxi-Tolueno Butilado (BHT) foi adicionado após HPLC preparativa.

Exemplo 2: Atividade Biológica de Composto AR

Potência do composto AR foi demonstrada por teste de cultura de célula de músculo liso de humano *in vitro*. As quantidades de timidina incorporada para amostras de Composto AR de concentrações variadas (0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, e 1 μ M) e de rapamicina de concentrações variadas (0,0005, 0,001, 0,01, e 0,1 μ M) foram medidas após exposição por tempos diferentes 1, 3 e 8 horas. As IC_{50} para Composto AR e rapamicina foram aproximadamente 0,05 e 0,01 μ M, respectivamente, após células de músculo liso serem expostas ao Composto AR e à rapamicina por períodos de

tempo mais curtos de 1 e 3 horas (como mostrado em Tabela 1 e Figura 8). As IC_{50} de Composto AR e rapamicina foram de aproximadamente 0,005 e 0,001 μM , respectivamente, após as células de músculo liso serem expostas ao Composto AR e à rapamicina por 8 horas. A IC_{50} de Composto AR foi aproximadamente cinco vezes mais alta do que aquela de rapamicina.

Tabela I: Dados de proliferação percentual de células de músculo liso de humano após exposição a concentrações variadas de rapamicina e Composto AR

Composto AR

| | | | | | |
|--|-------|------|------|-----|-----|
| Concentração (micromolar) | 0,005 | 0,01 | 0,05 | 0,1 | 0,5 |
| Proliferação % após exposição de uma hora ao Composto AR | 84 | 66 | 54 | 55 | 57 |
| Proliferação % após exposição de três horas ao Composto AR | 69 | 56 | 50 | 52 | 48 |
| Proliferação % após exposição de oito horas ao Composto AR | 52 | 38 | 40 | 36 | 35 |

Rapamicina

| | | | | |
|--|--------|-------|------|-----|
| Concentração (micromolar) | 0,0005 | 0,001 | 0,01 | 0,1 |
| Proliferação % após exposição de uma hora à Rapamicina | 105 | 75 | 54 | 50 |
| Proliferação % após exposição de três horas à Rapamicina | 79 | 63 | 48 | 39 |
| Proliferação % após exposição de oito horas à Rapamicina | 57 | 51 | 40 | 38 |

Exemplo 3: Preparação de Stents Contendo Composto AR

15 mg poli(metacrilato de n-butila) (PBMA) foram dissolvidos em 3 mL de dicloro-metano na temperatura ambiente. 10 mg de Composto AR foram adicionados em um frasco e dissolvidos em 2 mL de dicloro-metano com ou sem 0,1% (p/p) de BHT. As soluções foram combinadas e adicionalmente diluídas com 10 mL de dicloro-metano.

Um borrifador ultra-sônico controlado por microprocessador foi usado para aplicar 450 μg da solução de PBMA contendo droga na superfície inteira de um stent de metal a 18 mm (disponível na Elixir Medical Corp, Sunnyvale, Calif). Após revestimento, o stent foi deixado em uma câmara de vácuo. O stent foi então montado no balão de um cateter de

transferência de PTCA de 3,0 mm x 20 mm. O cateter foi então inserido em um rolo e embalado em uma bolsa Tyvek®. A bolsa foi esterilizada por óxido de etileno. A bolsa Tyvek® foi depois embalada em uma bolsa de folha com eliminadores de oxigênio e purga de nitrogênio e selada a vácuo.

5 Exemplo 4: Teste In vivo de Stents Eluindo Composto AR

A eficácia de um sistema de stent eluindo Composto AR (como preparado acima) de Exemplo 3 foi avaliada por comparação de resultados angiográficos de 28 ± 2 dias em artérias coronarianas porcinas ao sistema de stent eluindo rapamicina, Cypher™ Coronary Stent (Cordis Corporation) no modelo de artéria coronariana porcina não-doente.

O modelo suíno não-aterosclerótico foi escolhido porque este modelo tem sido usado extensivamente para estudos de stent e angioplastia resultando em um volume grande de dados sobre propriedades de resposta vascular e sua correlação com resposta vascular de humano (Schwartz et al, Circulation. 2002; 106:1867-1873). Os animais foram alojados e cuidados de acordo com o "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" como estabelecido pelo National Research Council.

Todos os animais foram pré-tratados com aspirina (325mg) e clopidogrel (75mg) por dose oral iniciando pelo menos 3 dias antes da intervenção e continuando durante o estudo. Após indução de anestesia, a artéria femoral direita ou esquerda foi acessada usando técnicas padrão e uma bainha arterial foi introduzida e avançada para dentro da artéria.

Angiografia de vaso foi realizada sob orientação fluoroscópica, um cateter guia 7 Fr. foi inserida através da bainha e avançado para a localização apropriada onde nitroglicerina intracoronariana foi administrada. Um segmento de artéria coronária variando de 2,25 a 4,0 mm de diâmetro de lúmen médio foi escolhido e um fio guia de 0,36 mm foi inserido. Angiografia Coronariana Quantitativa (QCA) foi realizada para documentar o diâmetro de vaso de referência.

O stent apropriadamente dimensionado foi avançado até o sítio de disposição. O balão foi inflado em uma velocidade constante para uma pressão suficiente para alcançar uma razão de balão para artéria de 1,30:1,0. Pressão foi mantida por aproximadamente 10 segundos. Angiografia foi realizada para documentar o diâmetro e a desobstrução do vaso após o procedimento.

Angiografia de acompanhamento foi realizada no ponto final designado para cada um dos animais. Cada angiograma foi qualitativamente avaliado para evidencia de migração de stent, estreitamento de lúmen, aposição de stent, presença de dissecação ou aneurismas, e características de fluxo. Sob completitude da angiografia de acompanhamento, os animais foram mortos.

Os corações foram colhidos de cada animal e as artérias coronárias foram borrifadas com formalina tamponada 10% a de 100 a 120 mm Hg. Os corações foram imersos em formalina tamponada 10%. Quaisquer lesões de miocárdio ou observações incomuns foram relatadas.

Parâmetros angiográficos medidos ou calculados incluíram:

- Diâmetro de lúmen médio de vaso marginal (proximal e distal) (pós-stent e final apenas)
- Diâmetro de lúmen médio da região alvo (todos os angiogramas)
- Diâmetro de lúmen mínimo (MLD) da região alvo (pós-stent e final apenas)
- Diâmetro de estenose $[1 - (MLD/RVD)] \times 100\%$ onde RVD é um cálculo do diâmetro de referência na posição da obstrução (medida obtida por uma técnica de regressão linear iterativa baseada em programa de computador para gerar uma intrapolação de um vaso projetado sem a lesão) (angiograma final apenas)
- Razão de balão para artéria [diâmetro luminal médio de balão/pré-stent]

- Razão de stent para artéria [diâmetro luminal médio de pós-stent/pré-stent]
- Taxa de perda tardia [MLD final-MLD pós-stent]

Todos os animais sobreviveram até o ponto final designado.

5 Não houve incidentes documentados de migração de stent, má posição de stent, dissecação persistente ou evidência de aneurisma. Três pontos de dados afastados (oclusão total ou oclusão quase total) para Stent Cypher foram excluídos. A estenose percentual média para o stent de composto AR (dose de droga de aprox. 10 micrograma/mm de comprimento) foi $25,7 \pm 17,8$ (n=15) 10 em comparação com dados reunidos de Stent Cypher destes e prévios estudos com protocolos similares que proporcionaram uma estenose percentual média de $20,21 \pm 11,45$ (n=22) para stents Cypher. (Figura 9).

Os stents eluindo Composto AR neste exemplo quando implantados no modelo porcino por 28 dias resultaram em estenose percentual 15 mais alta em comparação com o Stent Cypher.

Exemplo 5: Farmacocinética In vivo de Stents Eluindo Composto AR

Avaliação farmacocinética do sistema de stent - composto AR de Exemplo 3 foi realizada em 6 horas, 3 dias, 7 dias, e 28 dias no modelo de 20 artéria coronária porcina. Os procedimentos de intervenção foram similares ao estudo angiográfico *in vivo* descrito em Exemplo 4 até implantação de stent.

O stent apropriadamente dimensionado foi avançado até o sítio de disposição. O balão foi inflado em uma velocidade constante até uma pressão suficiente para alcançar uma razão de balão para artéria de 1:1. Pressão foi mantida por aproximadamente 10 segundos. Angiografia foi 25 realizada para documentar diâmetro e desobstrução de vaso após procedimento. Foi implantado um total de 9 stents (3 por instante de tempo).

No instante de tempo apropriado os animais foram mortos e os corações extirpados. O segmento com stent incluindo aproximadamente 10 mm de vaso proximal e 10 mm distal à seção com stent foi extirpado. As

seções proximal e distal foram separadas e armazenadas em frascos separados. O tecido circundando o stent foi cuidadosamente removido de stent e cada um foi deixado em frascos separados. Todos foram congelados a -70°C antes de serem analisados usando cromatografia líquida - espectroscopia de massa (LCMS).

Todos os animais sobreviveram até o ponto final designado. As concentrações médias em tecido do composto AR e as taxas de liberação do stent são apresentadas em Figuras 10 e 11. O Stent eluindo Composto AR, neste exemplo demonstra a liberação de Composto AR do stent com mais do que 40% da droga liberada em 7 dias.

Exemplo 6: Preparação de 17,18-29, 30-bis-epóxido-lactona macrocíclica (AS)

Adicionar 0,8 mL de NaOH 5% - MeOH e 2 mL de H₂O₂ 30% em uma solução de 1 grama de Rapamicina em 40 mL de metanol. A mistura reacional foi agitada na temperatura ambiente por 24 horas. Se TLC indicou que alguma rapamicina ainda estava não reagida, mistura adicional de 0,8 mL de NaOH 5% - MeOH e 2 mL H₂O₂ 30% foram adicionados na solução de reação. Agitação continuou na temperatura ambiente até que TLC indicasse que a reação estava completa. A solução foi extraída 3 vezes com salmoura. As camadas orgânicas foram combinadas e lavadas com salmoura e água, secas sobre MgSO₄ anidro, filtradas sobre MgSO₄ anidro e a solução foi evaporada para deixar um produto bruto. O produto bruto foi adicionalmente purificado usando placa de TLC e dando 0,40g (rendimento de 40%) de pó amarelo claro. ¹H RMN (CDCl₃) (*mistura ~4:1 de confômeros, apenas sinais de confômero maior listados*). Mudanças maiores comparadas com rapamicina δ (ppm) 1,75(s, 1H), 1,98(s, 1H), 6,71(ddd, 5H, J1=16Hz, J2=8Hz, J3=2,8Hz). ¹³C DEPT 135 RMN (CDCl₃) (*mistura ~4:1 de confômeros, apenas sinais de confômero maior listados*) δ (ppm) 152, 140, 133, 128, 127, 126, 84, 83, 76, 74, 67, 59, 56, 44, 43, 41, 40, 36, 35, 34, 33,

31, 29, 28, 22, 21, 20, 17, 16, 15, 13. Espectro de massa $m/z=962$ com Rapamicina $m/z=930$.

Exemplo 7: Atividade Biológica de 17,18-29,30-bis-epóxido-lactona macrocíclica (AS)

Potência de 17,18-29, 30-bis-epóxido-lactona macrocíclica foi demonstrada por teste de cultura de célula de músculo liso *in vitro*. As quantidades de timidina incorporadas para amostras de 17,18-29, 30-bis-epóxido-lactona macrocíclica de concentrações variadas (0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, e 1 μM) e de Composto AR de concentrações variadas (0,0005, 0,001, 0,01, e 0,1 μM) foram medidas após exposição por 8 horas. As IC_{50} de 17,18-29,30-bis-epóxido-lactona macrocíclica e de Composto AR foram aproximadamente 0,1 e 0,005 μM , respectivamente, após células de músculo liso serem expostas à 17,18-29,30-bis-epóxido-lactona macrocíclica e ao Composto AR por 8 horas (Figura 13). A IC_{50} de 17,18-29,30-bis-epóxido-lactona macrocíclica foi aproximadamente 20 vezes maior do que aquela de Composto AR.

Exemplo 8: Preparação de 17,18-19,20-21,22-tris-epóxido-lactona macrocíclica (AY)

Ácido m-cloro-peróxi-benzóico 0,93g (3,22 mmol) foi adicionado em uma solução de 0,50g (0,5371mmol) de rapamicina em 10 mL de CHCl_3 na temperatura ambiente. A mistura foi agitada na temperatura ambiente por 24 horas. Se TLC indicou que alguma rapamicina ainda não estava reagida, ácido m-cloro-peróxi-benzóico adicional 0,50g e 5 mL de CHCl_3 foram adicionados. Agitação foi continuada na temperatura ambiente até que nenhuma Rapamicina fosse indicada por TLC. Após completitude da reação, a solução foi diluída com dicloro-metano, tratada com sulfito de sódio aquoso até as lavagens darem um teste negativo com papel de amido-iodeto. Isto garante que todo o perácido em excesso tenha sido destruído e a camada aquosa foi extraída com várias porções de CH_2Cl_2 . A camada orgânica foi

lavada com duas porções de 20 mL de bicarbonato de sódio 5% para remover ácido benzóico. Os extratos orgânicos combinados foram lavados com água, secos com MgSO_4 anidro, filtrados e evaporados para deixar um sólido branco bruto 0,46g. O produto bruto foi adicionalmente purificado usando placa de TLC. MS m/z 978 com Rapamicina m/z 930.

Exemplo 9: Inibição de Citocina por Lactona Macroclíca:

Em estudos de cultura de célula, macrófagos foram ativados para secretarem citocinas como IL-6, MMP-9, MCP-1 e IL-10 pelo tratamento das células para lipopolissacarídeo (LPS) de *E. coli*. Inibição destas citocinas sob tratamento dos macrófagos ativados com Composto AR e rapamicina com concentração de 10 nM foi testada usando ensaio ELISA. A inibição de citocinas pró-inflamatórias indutoras de migração e proliferação celulares sob exposição a uma lactona macroclíca é apresentada em Figura 12(a). As inibições de citocina IL-10 antiinflamatória sob exposição à lactona macroclíca Composto AR e Sirolimus são apresentadas em Figura 12(b).

Níveis de MMP-9 nos 1º, 3º e 7º dias após implantação de stent estavam positivamente correlacionados com o índice de perda tardia 6 meses após a implantação de stent ("Elevated matrix metalloproteinase expression after stent implantation is associated with restenosis". Int J Cardiol. 2006; 112(1):85-90).

Composto AR e Sirolimus não mostraram inibição significativa de liberação de IL-6. Composto AR significativamente reduziu a produção de ambas as citocinas MMP-9 e MCP-1 em comparação com Sirolimus que aumentou a produção de MMP-9 e não influenciou a produção de MCP-1.

Composto AR e Sirolimus não mostraram quaisquer diferenças em inibição de liberação de IL-6. Por outro lado, Composto AR reduziu a produção de citocina MMP-9 enquanto que Sirolimus aumentou a produção de MMP-9. Composto AR reduziu a produção de citocina MCP-1 em

comparação com Sirolimus que não influenciou a produção de MCP-1. Ambos Composto AR e Sirolimus inibiram a produção de citocina antiinflamatória IL-10.

Compostos reivindicados na presente invenção, tal como Composto AR podem proporcionar resposta terapêutica melhor com níveis mais altos de efeito antiinflamatório (tal como inibição maior de citocina pró-inflamatória MCP-1) e níveis mais altos de efeito anti-proliferativo de células e anti-migratório de células (tal como inibição maior de citocina pró-proliferativa e migração MMP-9).

Exemplo 10: Teste de Stents eluindo Composto AR em Teste Clínico com Humano:

Teste clínico do stent revestido de composto AR foi conduzido em 15 sujeitos humanos. Segurança do stent revestido de composto AR foi avaliada clinicamente através da avaliação de eventos cardíacos adversos maiores definidos como: morte, infarto miocárdial (ambas onda-Q e onda não-Q), e revascularização de lesão alvo. Eficácia foi avaliada através de resultados de ultra-som intravascular (IUVS) e angiográficos em 4 meses. O ponto final primário de estudo foi perda luminal tardia em-stent angiográfica. Pontos finais secundários foram Eventos Cardíacos Adversos Maiores (MACE) e avaliação de IUVS e angiográfica adicional. O estudo clínico foi aprovado pelo Comitê de Ética local e todos os pacientes assinaram um consentimento informado aprovado ético antes de entrarem no estudo clínico.

Todos os pacientes foram pré-tratados com aspirina e ticlopidina (500 mg) por via oral iniciando pelo menos 1 dia antes ou no dia do procedimento índice. Aspirina (>100mg/dia e Clopidogrel (75mg/dia) foram continuados por pelo menos seis meses. De acordo com a prática percutânea padrão do hospital, a artéria femoral esquerda ou direita foi acessada usando técnicas padrão e uma bainha arterial foi introduzida e avançada para dentro da artéria.

Angiografia de vaso de procedimento índice foi realizada sob orientação fluoroscópica, um cateter guia 6 ou 7 Fr. foi inserido através da bainha e avançado até a localização apropriada; nitroglicerina intracoronariana foi administrada. Um segmento de artéria coronária variando de 3,0 mm a 3,5 mm de diâmetro de lúmen médio foi escolhido e um fio guia de 0,36 mm foi inserido. Angiografia Coronariana Quantitativa (QCA) foi realizada para documentar o diâmetro de vaso de referência. Pré-dilatação da lesão foi realizada antes da implantação de stent usando técnica padrão.

Após pré-dilatação, o stent apropriadamente dimensionado (3,0 mm x 18 mm ou 3,5 mm x 18 mm) foi avançado até o sítio de disposição. O balão foi inflado em uma velocidade constante para uma pressão suficiente para totalmente posicionar o stent. Pressão foi mantida por aproximadamente 30 segundos. Após dilatação o stent pôde ser conduzido conforme a necessidade para garantir boa aposição do stent na parede do vaso. Imagem angiográfica e de ultra-som intravascular (IVUS) foi obtida e registrada.

Angiografia de acompanhamento e IVUS foram realizados no ponto final designado de 4 meses para cada paciente. Cada angiograma foi quantitativamente avaliado para evidência de estreitamento de lúmen, aposição de stent, e características de fluxo.

Parâmetros Angiográficos e IVUS medidos ou calculados incluíram:

- Diâmetro de lúmen médio de vaso marginal (proximal e distal) (pós-stent e final)
- Diâmetro de lúmen médio da região alvo (todos os angiogramas)
- Diâmetro de lúmen mínimo (MLD) da região alvo (pós-stent e final apenas)
- Diâmetro de estenose $[1 - (MLD/RVD)] \times 100\%$ onde RVD é um cálculo do diâmetro de referência na posição da obstrução (medida obtida por uma técnica de regressão linear iterativa baseada em

programa de computador para gerar uma intrapolação de um vaso projetado sem a lesão) (angiograma final apenas).

- Perda luminal tardia em-stent [MLD final-MLD pós-stent]
- Volume neointimal percentual em-stent conforme avaliado por IVUS

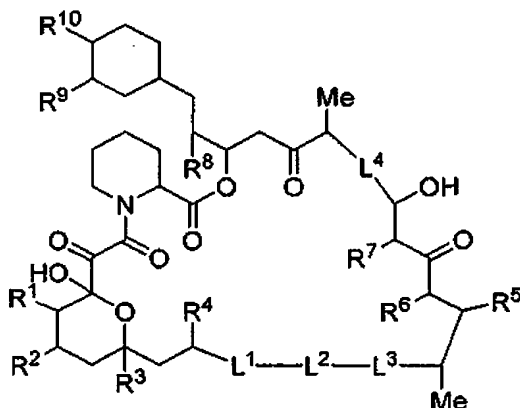
Todos os pacientes foram submetidos ao acompanhamento angiográfico e clínico de 4 mês. Nenhum paciente experimentaram quaisquer eventos cardíacos adversos maiores durante o período de acompanhamento. Resultados angiográficos demonstraram que o ponto final primário de perda luminal tardia em-stent angiográfica foi $0,16 \pm 0,32$ mm. análise por IVUS foi conduzida em 13 dos 15 pacientes e os resultados demonstraram volume percentual neointimal em-stent de $3,7 \pm 2,7\%$.

Como uma comparação, stent Cypher foi testado em um estudo piloto e demonstrou segurança clínica similar sem eventos clínicos e resultados angiográficos em 4 meses de perda luminal tardia em-stent para o grupo de liberação lenta (a formulação comercialmente disponível corrente) de $0,09 \pm 0,3$ mm e volume neointimal percentual em-stent por IVUS de $0,3 \pm 0,6\%$ (Sousa, JE, Circulation 2001; 103; 192-195).

Embora a invenção acima tenha sido descrita em algum detalhe por meio de ilustração e exemplo para os propósitos de clareza de entendimento, uma pessoa experiente na técnica perceberá que certas mudanças e modificações podem ser praticadas dentro do escopo das reivindicações anexadas. Em adição, cada referência aqui fornecida é incorporada como referência em sua totalidade na mesma extensão como se cada referência fosse individualmente incorporada como referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de compreender um excipiente farmacêuticamente aceitável e um composto de Fórmula:

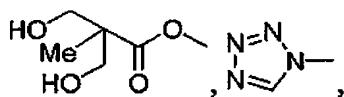


5 sendo que

R¹, R², R³, R⁵, R⁶ e R⁸ são cada um independentemente um membro selecionado do grupo consistindo de H, C₁₋₆ alquila e OH;

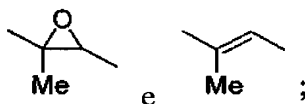
R⁴, R⁷ e R⁹ são cada um independentemente selecionados do grupo consistindo de C₁₋₆ alcóxi e OH;

10 R¹⁰ é um membro selecionado do grupo consistindo de H, -OH, -OP(O)Me₂,



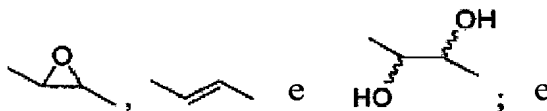
-O-(CH₂)_n-OH e -O-(CH₂)_m-O-(CH₂)_o-CH₃, sendo que os subscritos n e m são cada um independentemente de 2 a 8 e subscrito o é de 1 a 6;

15 cada um de L¹ e L⁴ são independentemente selecionados do grupo consistindo de:



cada um de L² e L³ são independentemente selecionados do

grupo consistindo de:



saís, hidratos, isômeros, metabólitos e pró-fármacos dos mesmos.

2. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o excipiente farmacêuticamente aceitável é um membro selecionado do grupo consistindo de um polímero, um solvente, um antioxidante, um aglutinante, uma carga, um desintegrante, um lubrificante, um revestimento, um edulcorante, um flavorizante, um estabilizador, um colorante, um metal, uma cerâmica e um semi-metal.

3. Composição de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que o polímero é selecionado do grupo consistindo de poliuretano, polietileno-imina, copolímero de etileno / vinil-álcool, silicone, C-flex, náilons, poliamida, poliimida, poli(tetrafluoro-etileno) (PTFE), parylene, parylast, poli(metacrilato), poli(cloreto de vinila), poli(dimetil-siloxano), poli(etileno / acetato de vinila), policarbonato, géis de poliacrilamida, poli (metacrilato de metila), poli(metacrilato de n-butila), poli (metacrilato de butila) copolímero ou misturado com poli(etileno / acetato de vinila), poli(metacrilato de metila), poli (metacrilato de 2-hidróxi-etila), poli(metacrilatos de etileno-glicol), poli(carbonato de etileno), copolímero de poli(L-lactídeo-glicolídeo), copolímero de L-lactídeo - carbonato de trimetileno e poli(L-lactídeo).

4. Composição de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que em uma mistura do composto e do polímero:

(a) o composto está presente em uma quantidade de pelo menos 25% (p/p);

(b) o composto está presente em uma quantidade de pelo menos 50% (p/p); ou

(c) o composto está presente em uma quantidade de pelo menos 75% (p/p).

5. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que:

5 (a) menos do que cerca de 5% do composto é metabolizado a rapamicina;

(b) menos do que cerca de 1% do composto é metabolizado a rapamicina;

10 (c) menos do que cerca de 0,1% do composto é metabolizado a rapamicina;

(d) em uma forma de dosagem tendo uma dose sistêmica diária do composto de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg;

(e) em uma forma de dosagem tendo uma dose sistêmica diária do composto de cerca de 0,5 mg a cerca de 10 mg; ou

15 (f) em uma forma de dosagem tendo uma dose sistêmica diária do composto de cerca de cerca de 1 mg a cerca de 5 mg.

6. Dispositivo para uso intracorpóreo, caracterizado pelo fato de compreender:

um implante; e

20 pelo menos uma fonte de um composto como definido na reivindicação 1, opcionalmente em que:

(a) o dispositivo é configurado para liberar o composto a um órgão ou lúmen de corpo dentro de um corpo intracorpóreo para inibir proliferação celular;

25 (b) o dispositivo é configurado para liberar o composto a um órgão ou lúmen de corpo dentro de um corpo intracorpóreo para inibir proliferação de célula de músculo liso e inflamação;

(c) o implante é uma prótese vascular;

(d) o implante é uma prótese vascular compreendendo uma

estrutura expansível;

(e) o implante é uma prótese vascular compreendendo um stent, um enxerto, ou uma armação formada pelo menos em parte de uma treliça aberta; ou

5 (f) o implante é uma prótese vascular compreendendo uma estrutura expansível e tendo uma superfície voltada para o tecido e lúmen, e sendo que o composto está associado com pelo menos uma dentre as superfícies voltadas para o tecido ou lúmen.

10 7. Dispositivo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que:

(a) a quantidade de composto sobre o dispositivo é de cerca de 1 nanograma/cm² a cerca de 1.000 micrograma/cm²;

(b) a quantidade de composto sobre o dispositivo é de cerca de 1 micrograma/cm² a cerca de 500 micrograma/cm²;

15 (c) a quantidade de composto sobre o dispositivo é de cerca de 10 micrograma/cm² a cerca de 400 micrograma/cm²;

(d) a concentração do composto em tecido adjacente é de cerca de 0,001 ng/g de tecido a cerca de 1,000 µg/g de tecido;

20 (e) a concentração do composto em tecido adjacente é de cerca de 1 ng/g de tecido a cerca de 500 µg/g de tecido;

(f) a concentração do composto em tecido adjacente é de cerca de 100 ng/g de tecido a cerca de 100 µg/g de tecido;

(g) pelo menos 75% do composto é liberado do dispositivo em um período de cerca de 1 dia a cerca de 2 anos;

25 (h) pelo menos 90% do composto é liberado do dispositivo em um período de cerca de 3 dia a cerca de 6 meses; ou

(i) pelo menos 90% do composto é liberado do dispositivo em um período de cerca de 1 semana a cerca de 3 meses.

8. Dispositivo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado

pelo fato de que:

(a) o dispositivo adicionalmente inclui um agente terapêutico;

(b) o dispositivo adicionalmente inclui um agente terapêutico, em que o agente terapêutico é um membro selecionado do grupo consistindo de um agente anti-plaqueta, agente anti-trombótico, agente antiinflamatório, agente anti-proliferativo, agente imunossupressor, e agente anti-câncer;

(c) o dispositivo adicionalmente inclui um agente terapêutico que é liberado antes da, concorrente com a, ou subsequente à liberação do composto;

(d) o dispositivo adicionalmente inclui um agente terapêutico que é liberado antes da, concorrente com a, ou subsequente à liberação do composto, em que o composto é liberado de uma primeira fonte e o agente terapêutico é liberado de uma segunda fonte; ou

(e) o dispositivo adicionalmente inclui um agente terapêutico que é liberado antes da, concorrente com a, ou subsequente à liberação do composto, em que o composto e o agente terapêutico são liberados de uma fonte única.

9. Composto como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser para uso em um método terapêutico para inibir proliferação celular por administração do referido composto a um sujeito em necessidade do mesmo.

10. Composto de acordo com a reivindicação 9 para uso no referido método, caracterizado pelo fato de que o composto é administrado:

(a) sistemicamente, localmente ou via uma combinação dos mesmos; ou

(b) via administração oral, administração como um supositório, administração por contato tópico, parenteral, intravascular, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intralesional, intranasal, pulmonar, mucosal, transdérmica, oftálmica, subcutânea, ou intratecal.

11. Composto de acordo com a reivindicação 9 para uso no referido método, caracterizado pelo fato de que a administração do composto é via liberação através de:

(a) um dispositivo temporário, em que o dispositivo temporário é preferencialmente selecionado do grupo consistindo de um cateter e um balão poroso; ou

(b) um dispositivo de implante como definido na reivindicação

6.

12. Composto de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que:

(a) a IC_{50} do composto é de cerca de 0,1 nM a cerca de 1 μ M;

(b) a IC_{50} do composto é de cerca de 1 nM a cerca de 0,5 μ M;

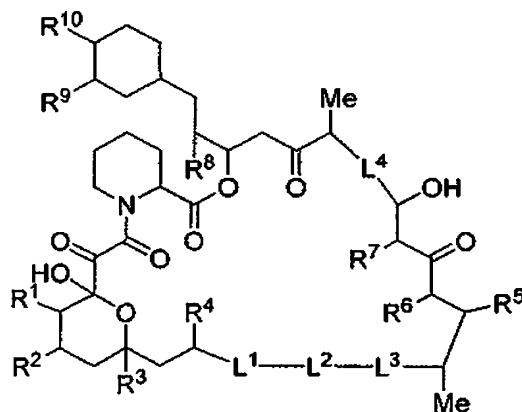
(c) a IC_{50} do composto é de cerca de 5 nM a cerca de 100 nM;

(d) o composto é administrado em uma dose eficaz de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg;

(e) o composto é administrado em uma dose eficaz de cerca de 0,5 mg a cerca de 10 mg; ou

(f) o composto é administrado em uma dose eficaz de cerca de 1 mg a cerca de 5 mg.

13. Composto, caracterizado pelo fato de ser de Fórmula:

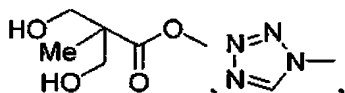


em que

R^1, R^2, R^3, R^5, R^6 e R^8 são cada um independentemente um membro selecionado do grupo consistindo de H, C_{1-6} alquila e OH;

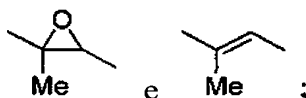
R^4, R^7 e R^9 são cada um independentemente selecionados do grupo consistindo de C_{1-6} alcóxi e OH;

5 R^1 é um membro selecionado do grupo consistindo de H, -OH, -OP(O)Me₂,

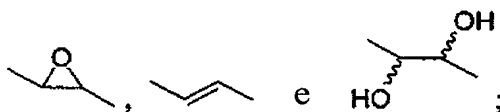


-O-(CH₂)_n-OH e -O-(CH₂)_m-O-(CH₂)_o-CH₃, sendo que os subscritos n e m são cada um independentemente de 2 a 8 e subscrito o é de 1 a 6;

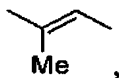
10 cada um de L¹ e L⁴ são independentemente selecionados do grupo consistindo de:



cada um de L² e L³ são independentemente selecionados do grupo consistindo de:

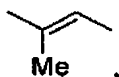


15 com a condição de que quando R^1, R^6 e R^8 são Me, R^3 e R^5 são H, R^4, R^7 e R^9 são OMe, R^{10} é OH, L² e L³ são -CH=CH-, e L¹ e L⁴ são



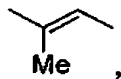
R^2 é diferente de OH;

com a condição de que quando R^1, R^6 e R^8 são Me, R^2, R^3 e R^5 são H, R^7 e R^9 são OMe, R^{10} é OH, L² e L³ são -CH=CH-, e L¹ e L⁴ são



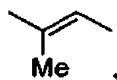
R^4 é diferente de OH;

com a condição de que quando R^1 , R^6 e R^8 são Me, R^2 , R^3 e R^5 são H, R^4 e R^7 são OMe, R^{10} é OH, L^2 e L^3 são $-\text{CH}=\text{CH}-$, e L^1 e L^4 são

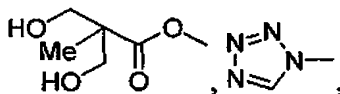


R^9 é diferente de OH;

5 com a condição de que quando R^1 , R^6 e R^8 são Me, R^2 , R^3 e R^5 são H, R^4 , R^7 e R^9 são OMe, L^2 e L^3 são $-\text{CH}=\text{CH}-$, e L^1 e L^4 são



R^{10} é diferente de OH, $-\text{OP}(\text{O})\text{Me}_2$,

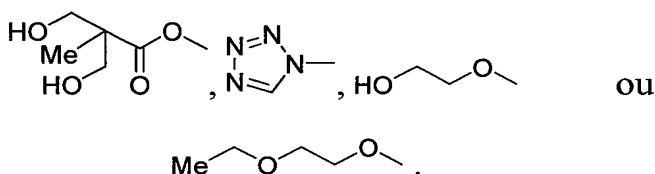


$-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ e $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_o-\text{CH}_3$; e

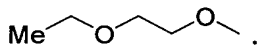
saís, hidratos, isômeros, metabólitos e pró-fármacos dos

10 mesmos.

14. Composto de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que R^{10} é $-\text{OP}(\text{O})\text{Me}_2$,



ou



15 15. Composto de acordo com a reivindicação 13 ou 14, caracterizado pelo fato de que pelo menos um de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 e R^9 é OH, preferencialmente em que R^4 é OH.

16. Composto de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que composto é um composto de Figura 2.

20 17. Método para preparar um composto como definido na reivindicação 13, caracterizado pelo fato de compreender:

(a) contatar uma lactona macrocíclica com um ácido para

substituir um grupo alcóxi por um nucleófilo, preparando deste modo um composto como definido na reivindicação 13; ou

(b) contatar uma lactona macrocíclica com um agente de epoxidação para modificar um grupo alqueno para um epóxido, preparando
5 deste modo um composto como definido na reivindicação 13.

18. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado
pelo fato de que:

(a) a lactona macrocíclica é rapamicina;

(b) o nucleófilo é um membro selecionado do grupo
10 consistindo de -OH, -SH e grupos aromáticos ricos em elétrons; ou

(c) o agente de epoxidação é um membro selecionado do grupo consistindo de um perácido e peróxido.

Fig. 2a

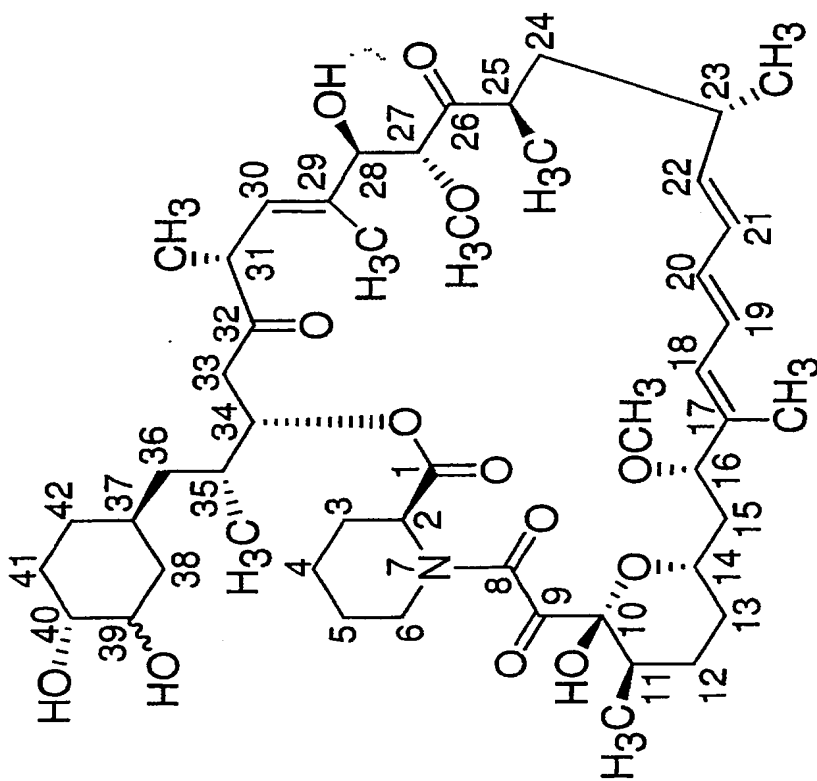


Fig. 2b

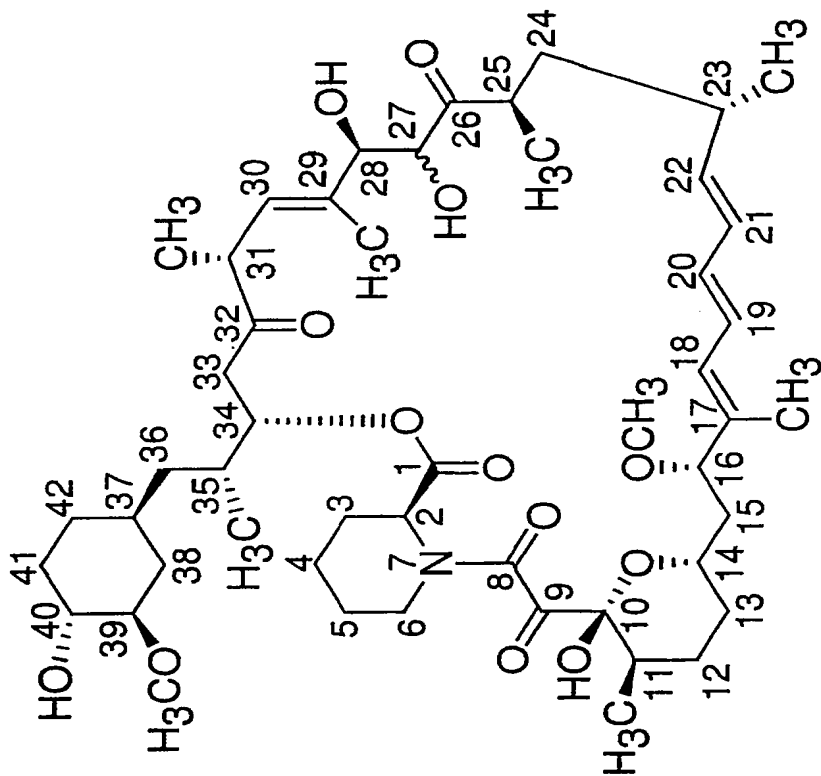


Fig. 2d

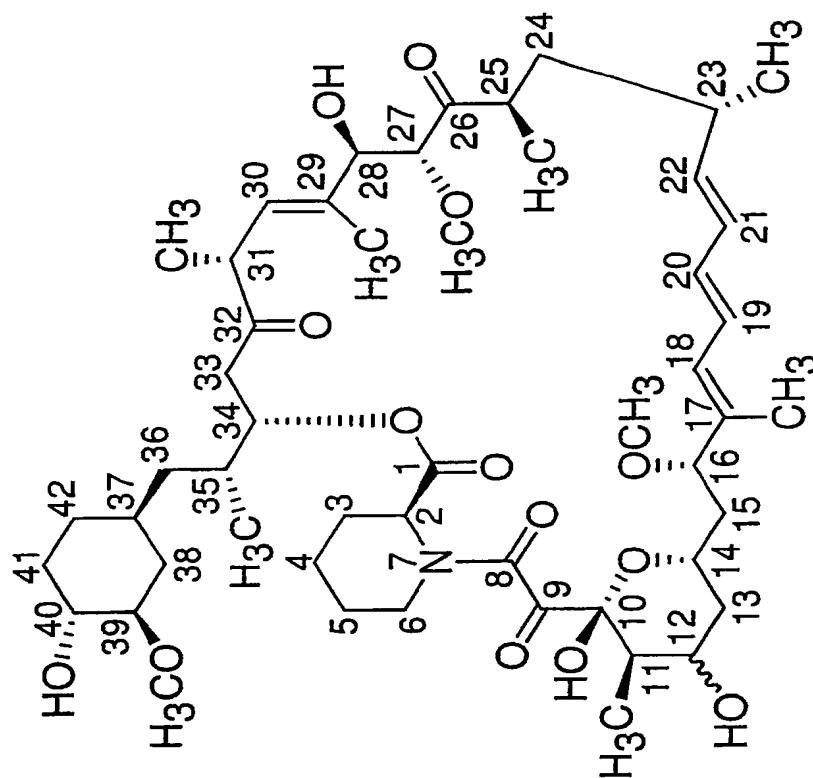


Fig. 2c

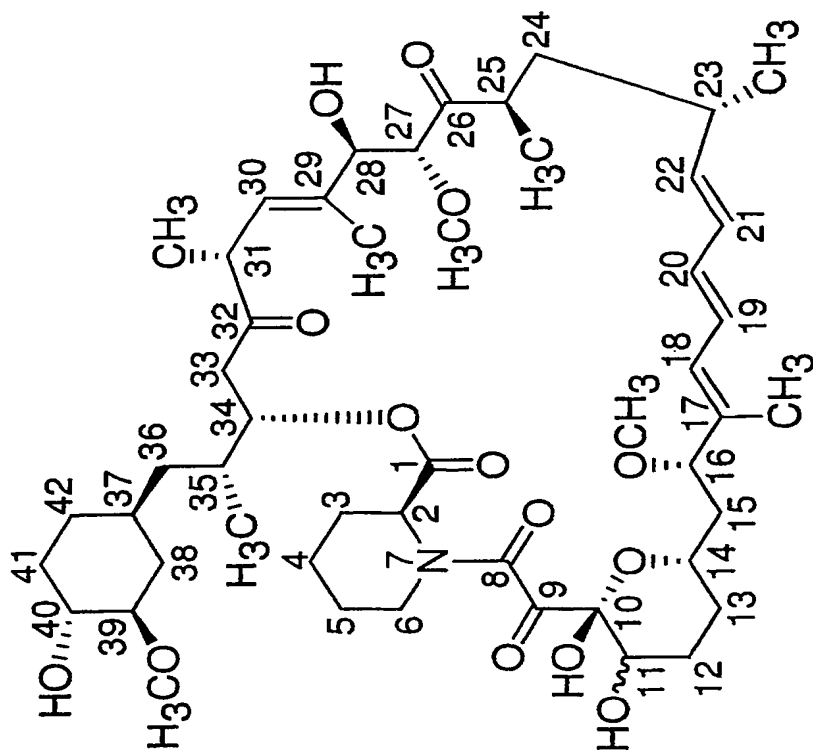


Fig. 2f

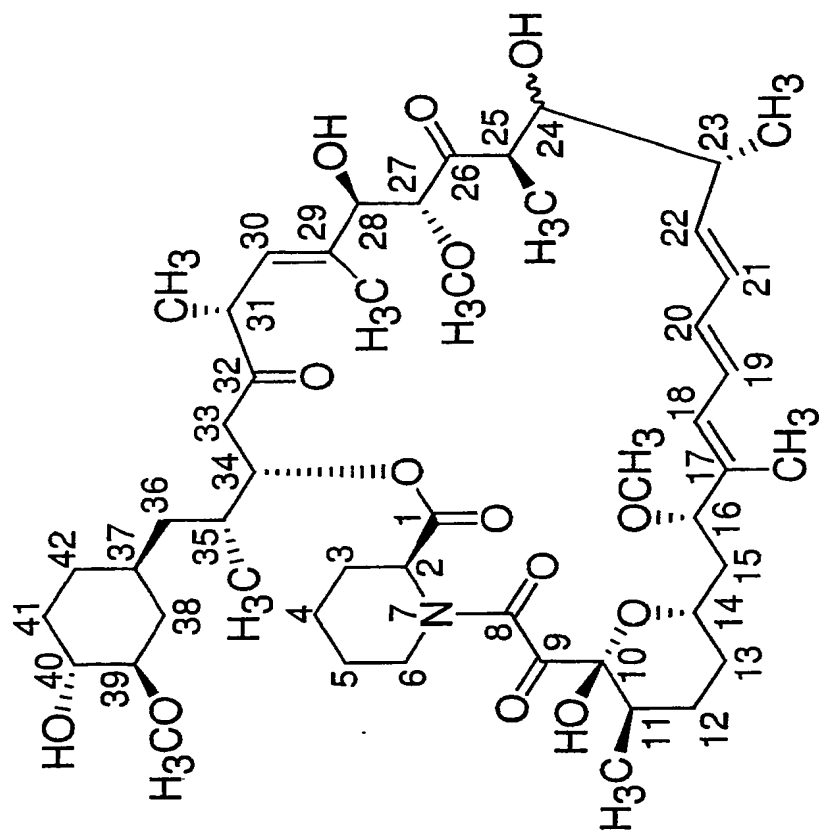


Fig. 2e

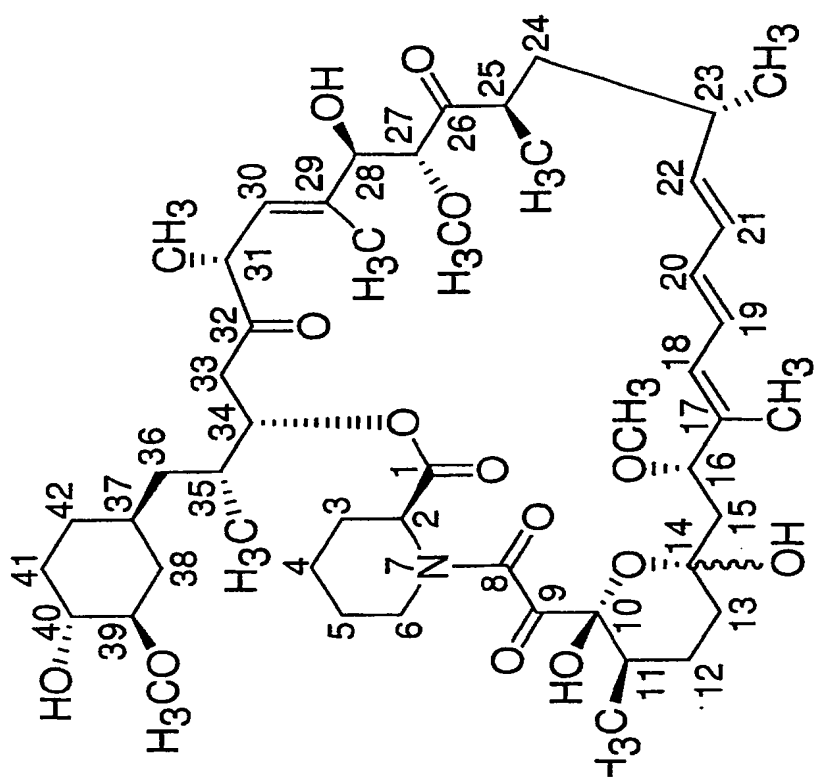


Fig. 2h

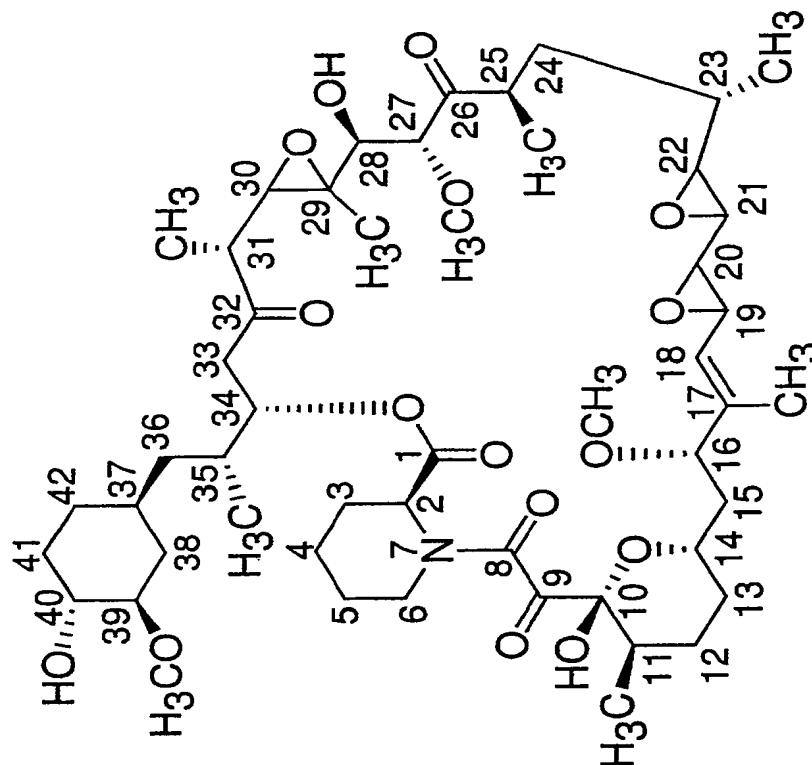


Fig. 2g

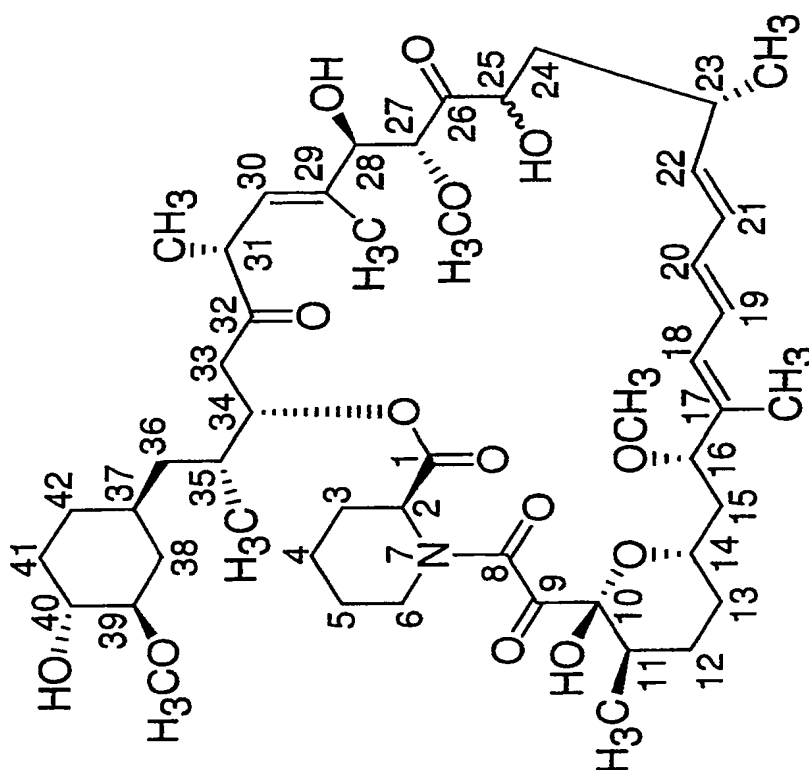


Fig. 2j

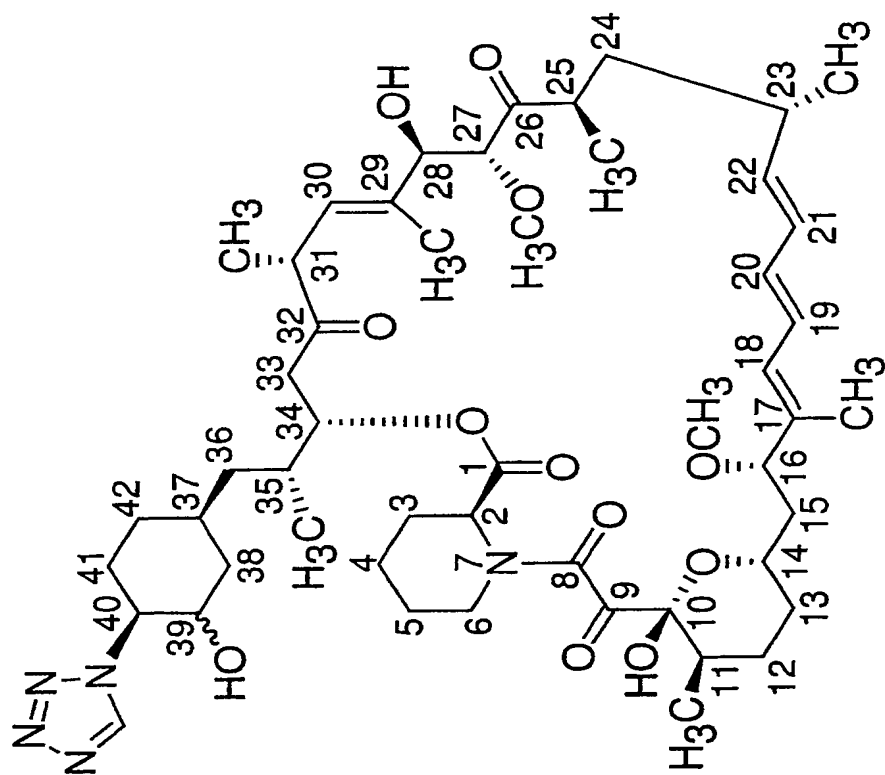


Fig. 2i

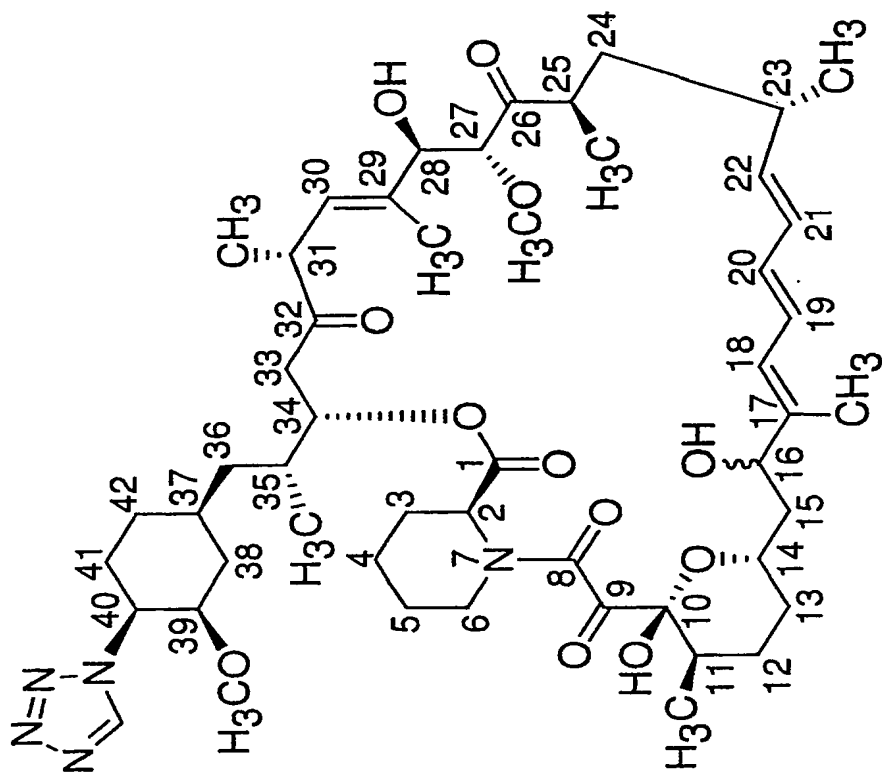


Fig. 2l

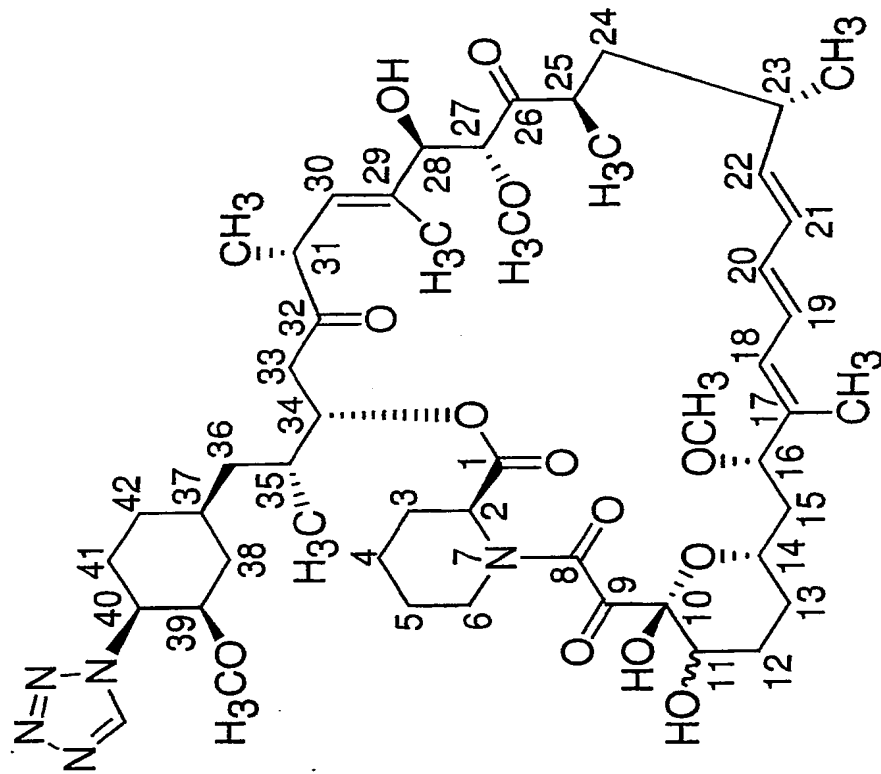


Fig. 2k

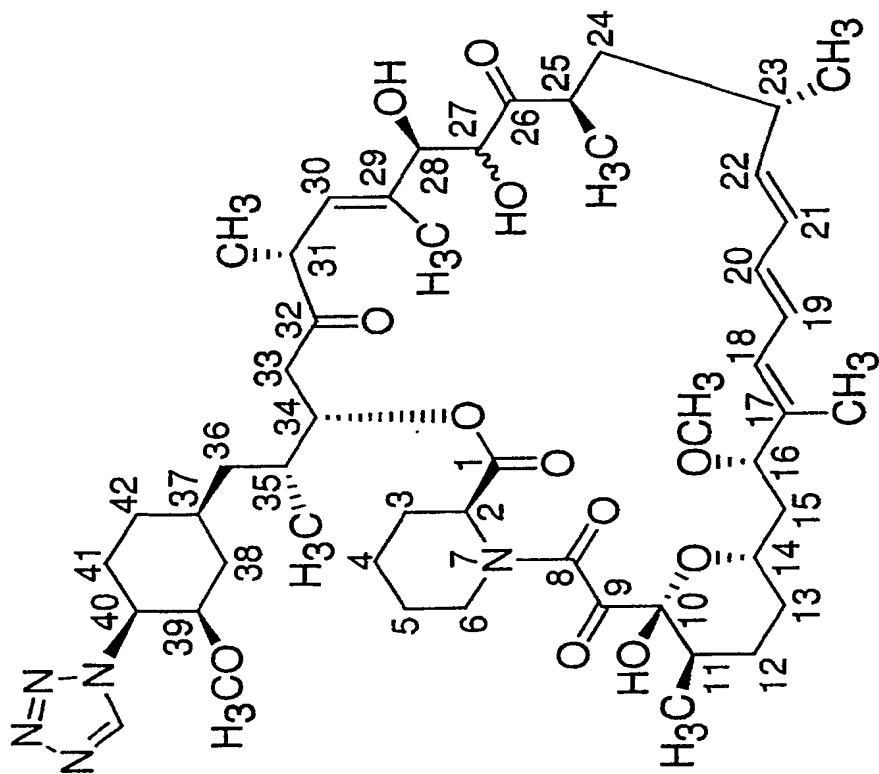


Fig. 2n

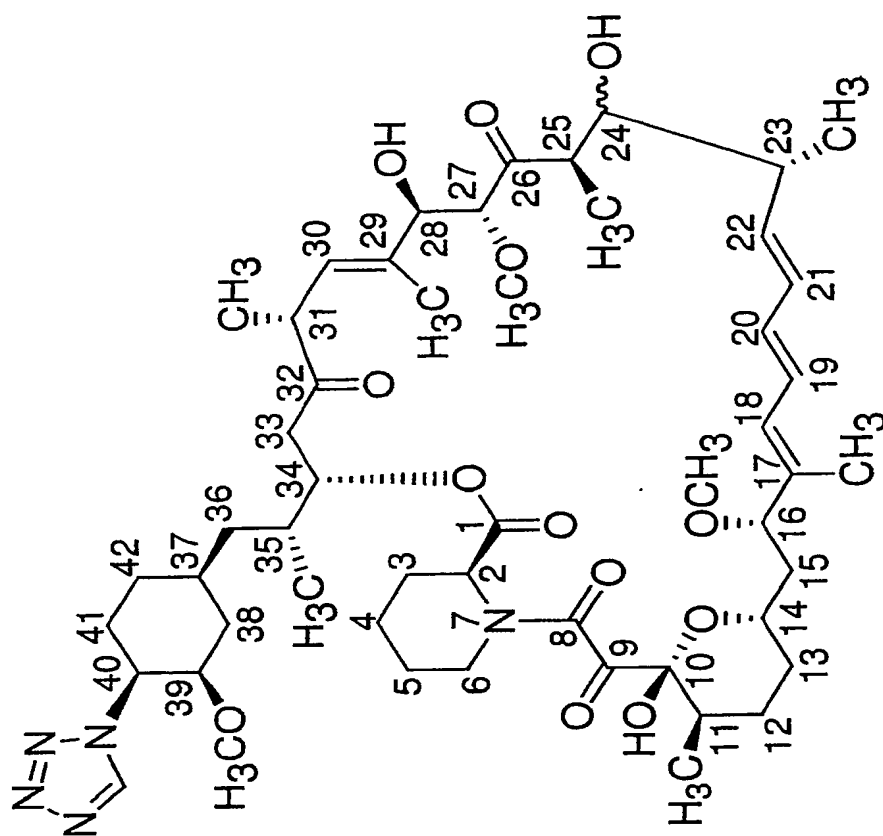


Fig. 2m

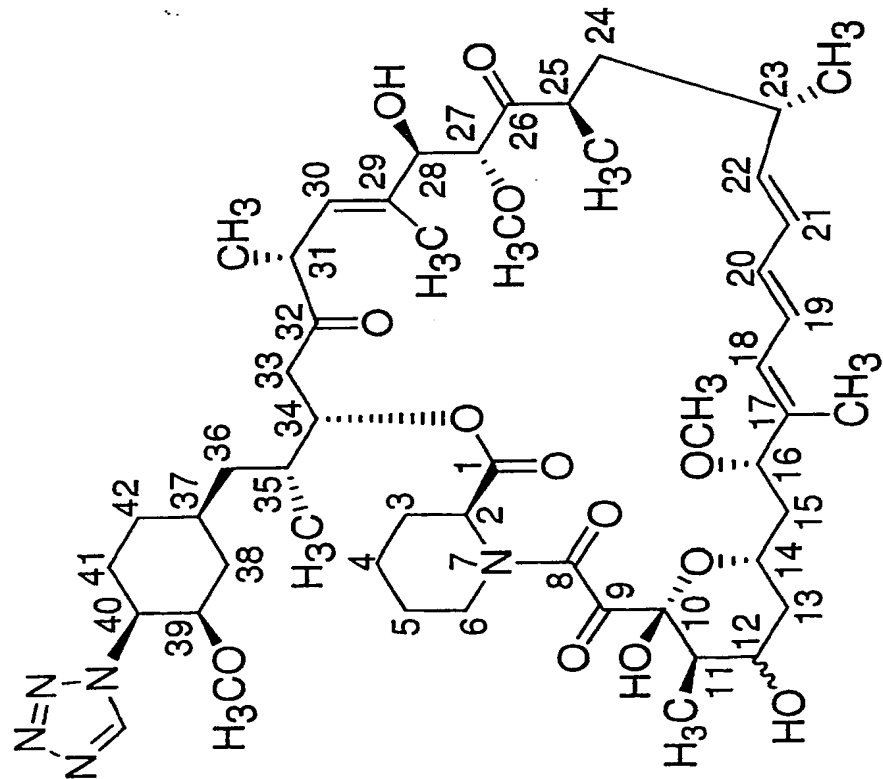


Fig. 2p

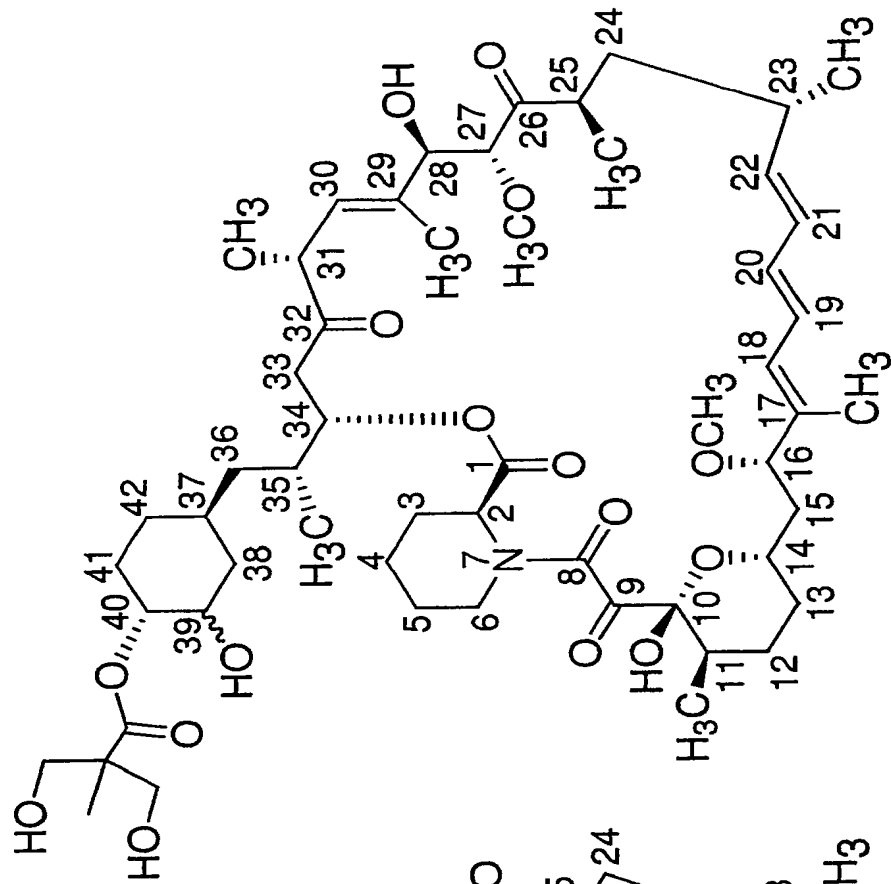


Fig. 2o

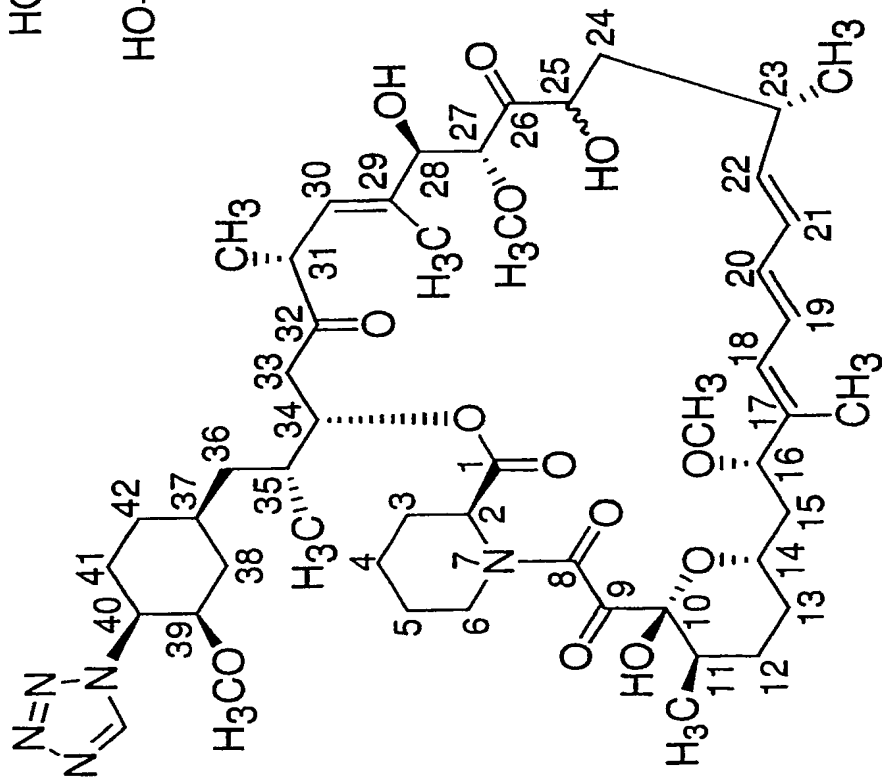


Fig. 2r

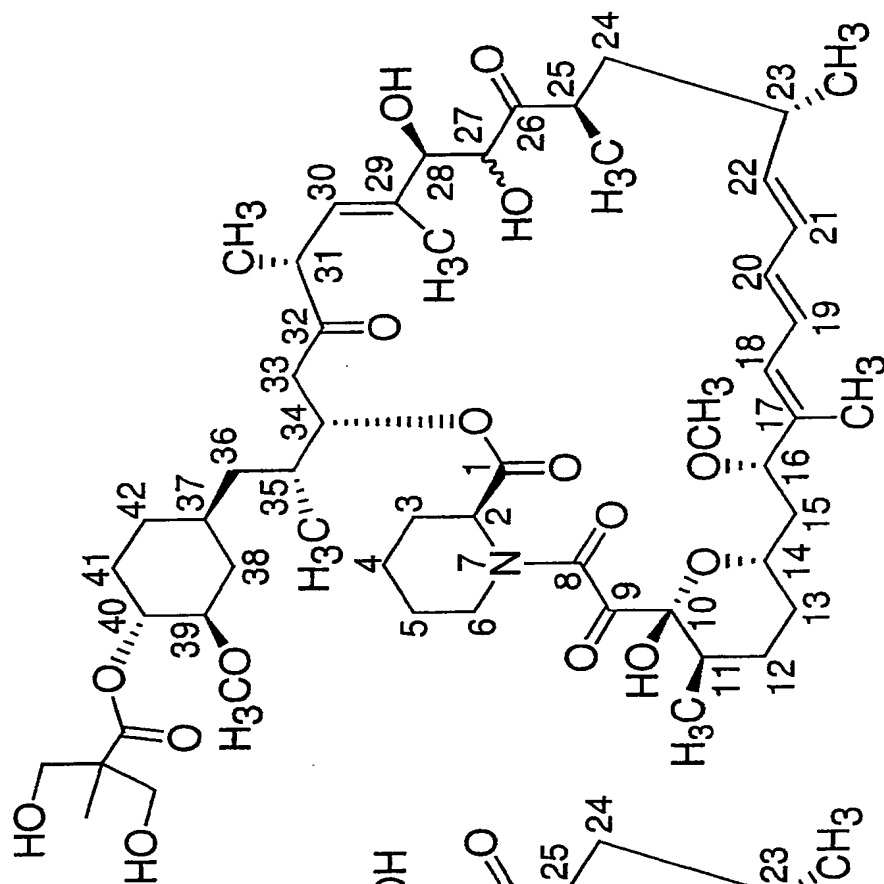


Fig. 2q

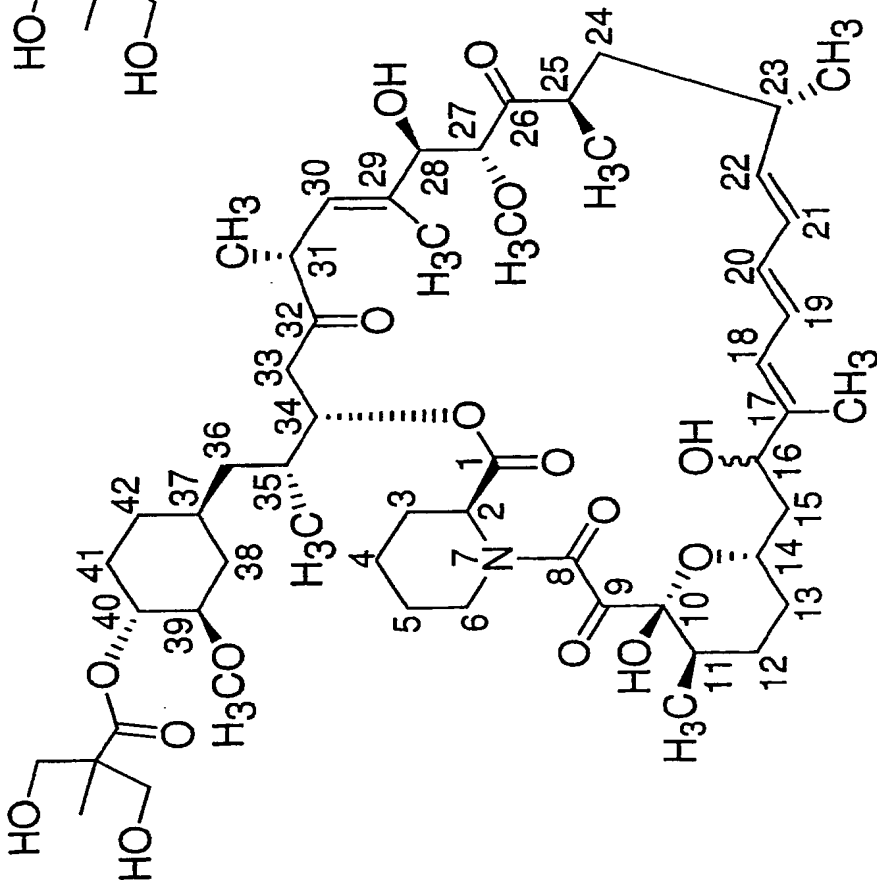


Fig. 2t

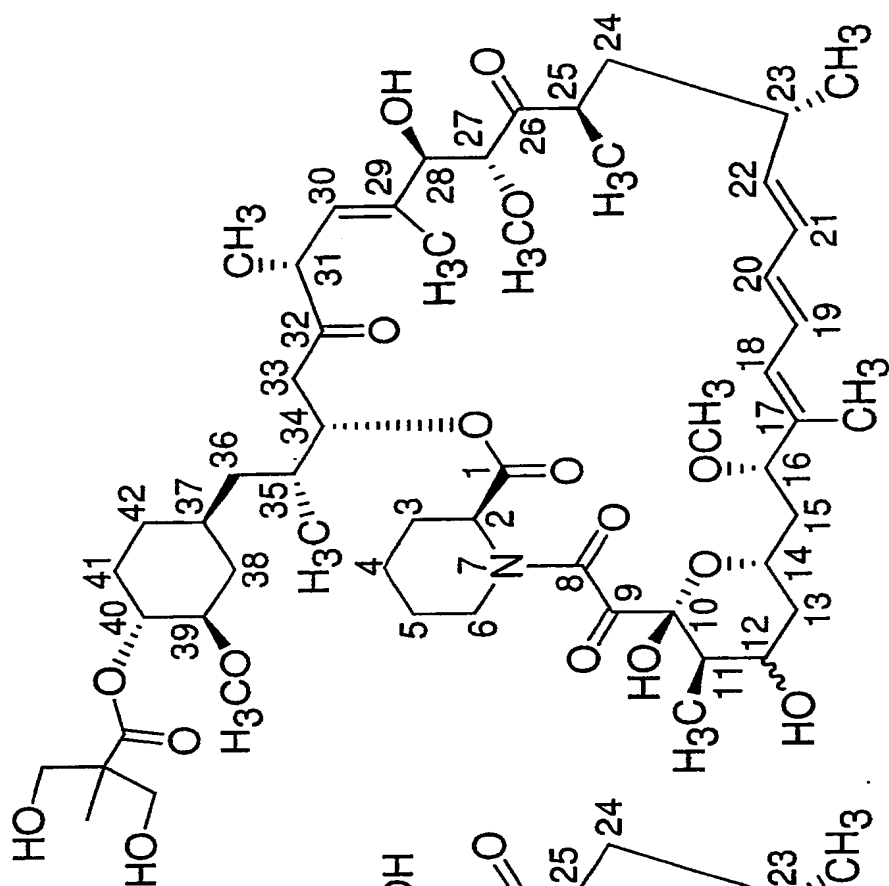


Fig. 2s

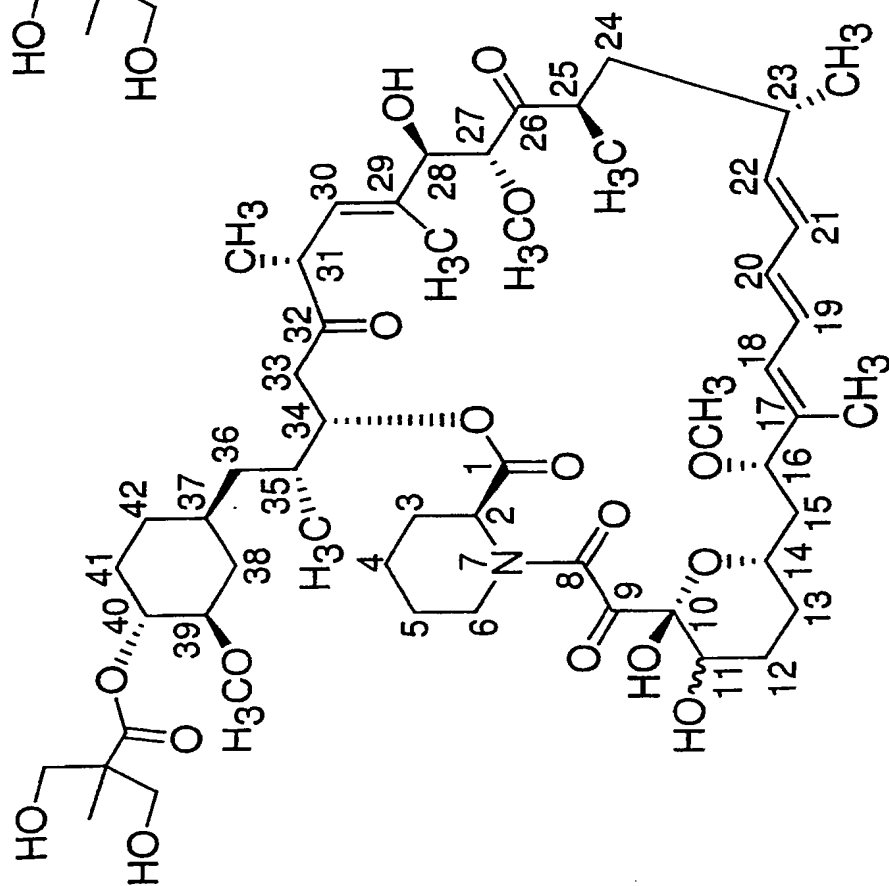


Fig. 2v

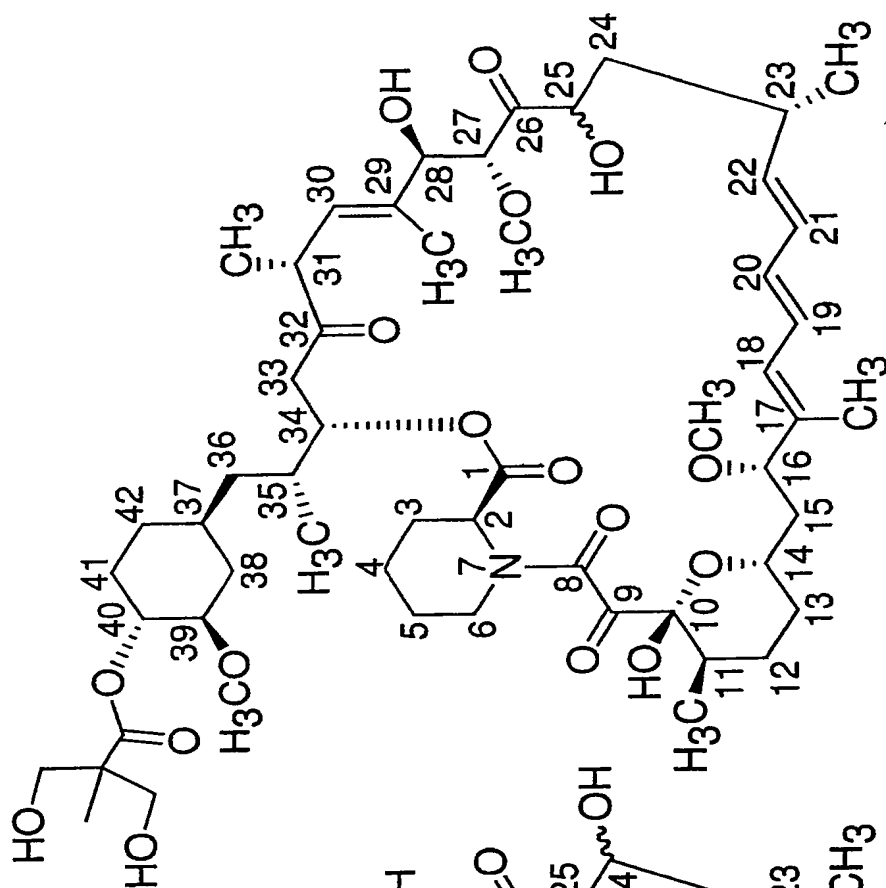


Fig. 2u

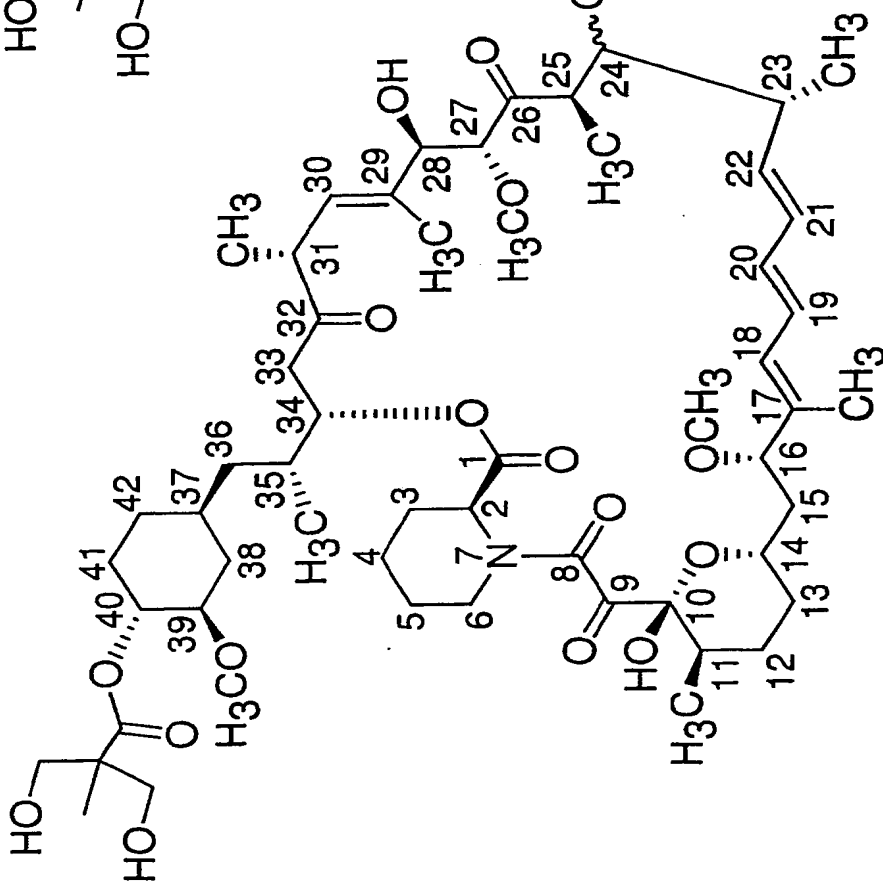


Fig. 2x

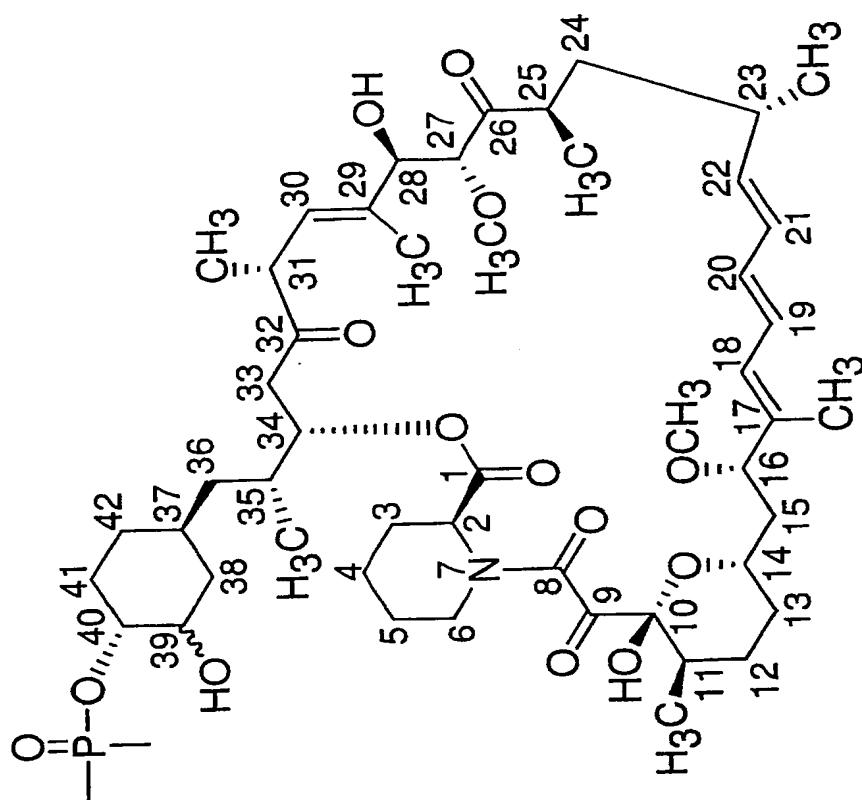


Fig. 2w

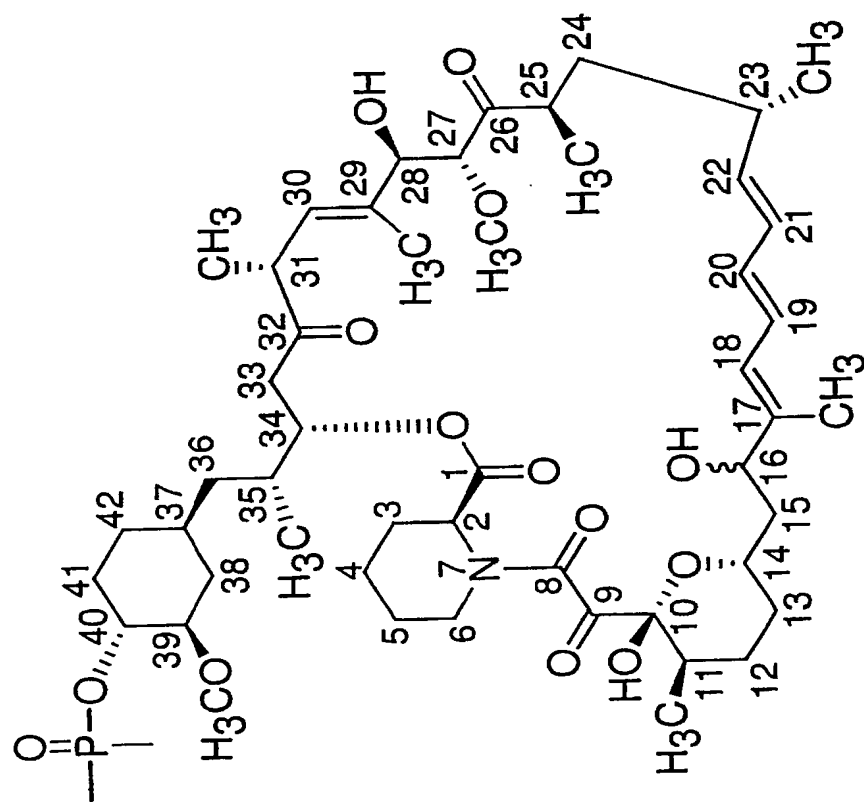


Fig. 2z

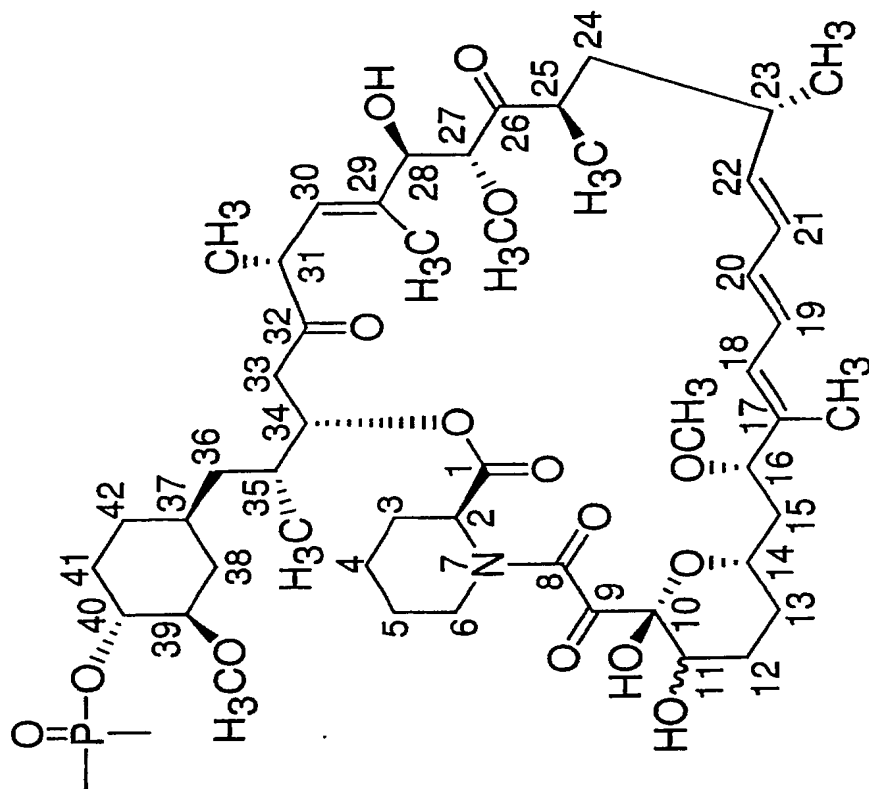


Fig. 2y

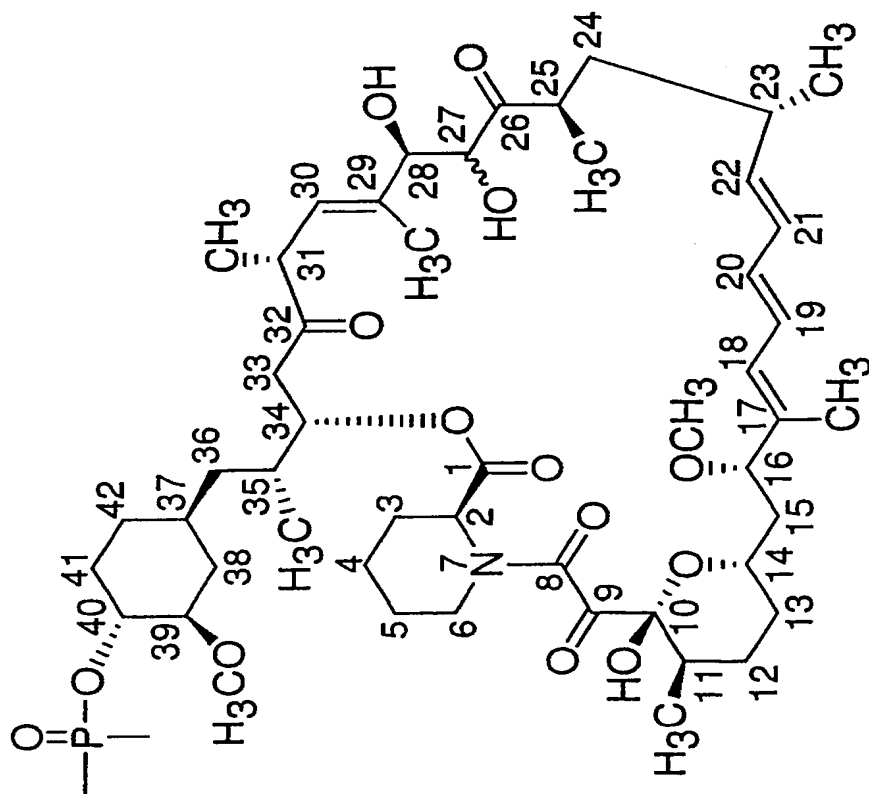


Fig. 2ab

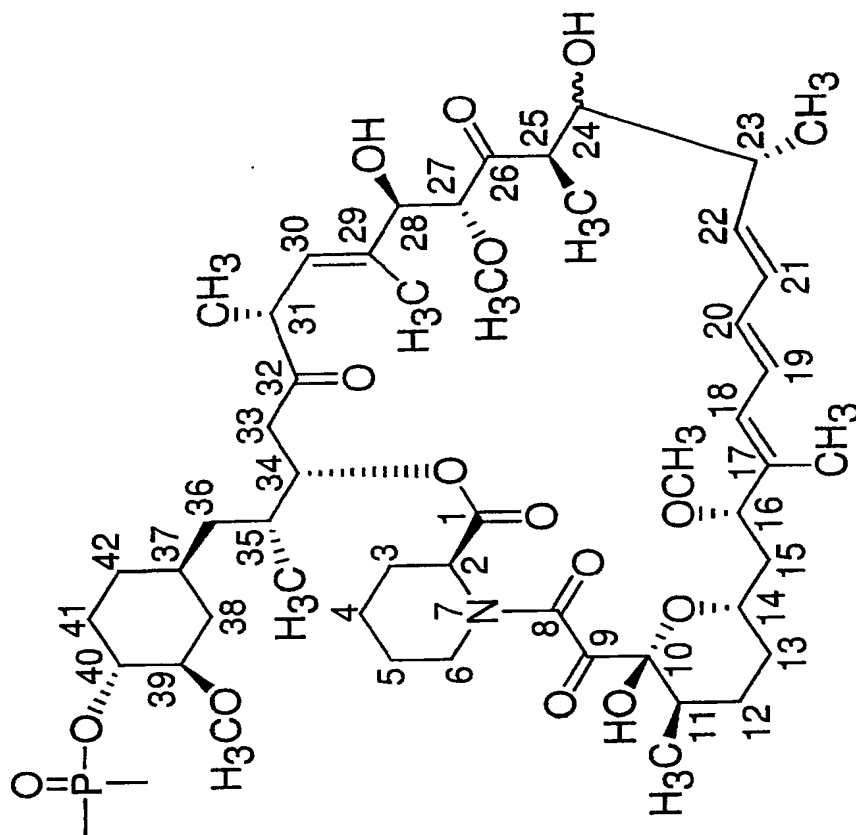


Fig. 2aa

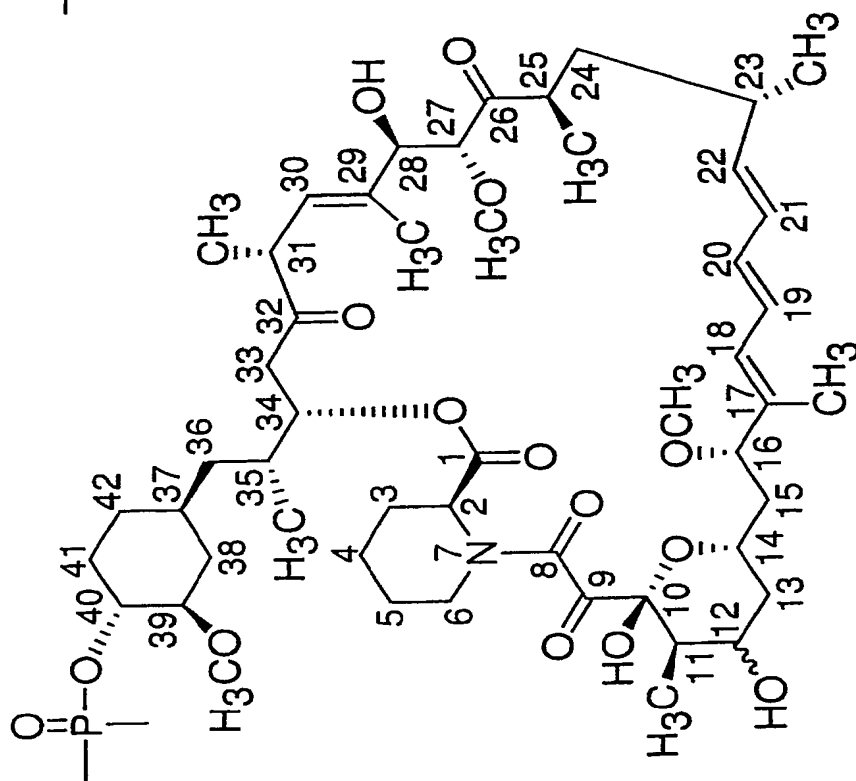


Fig. 2ad

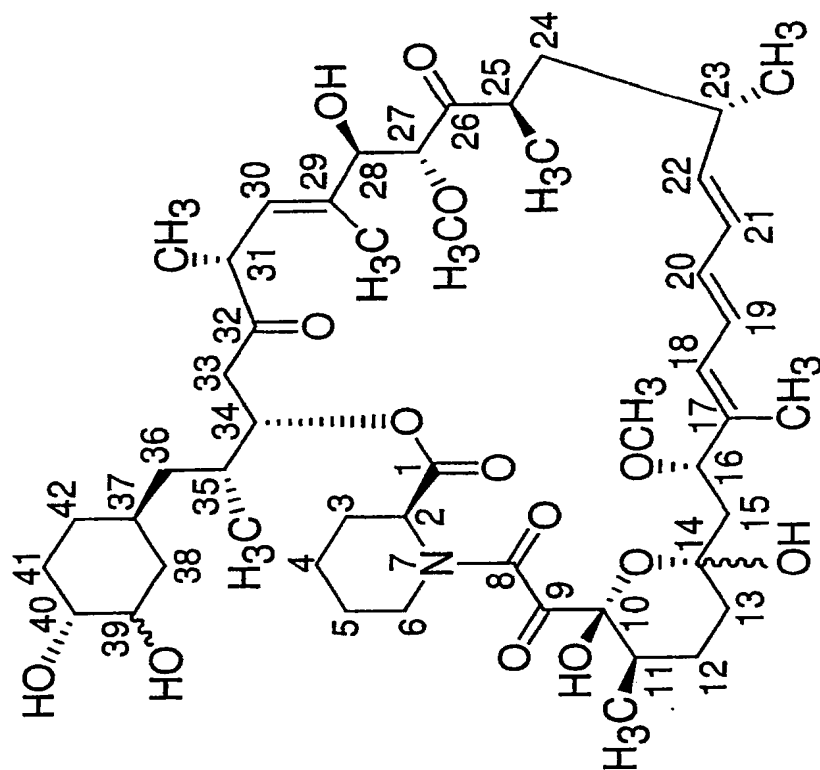


Fig. 2ac

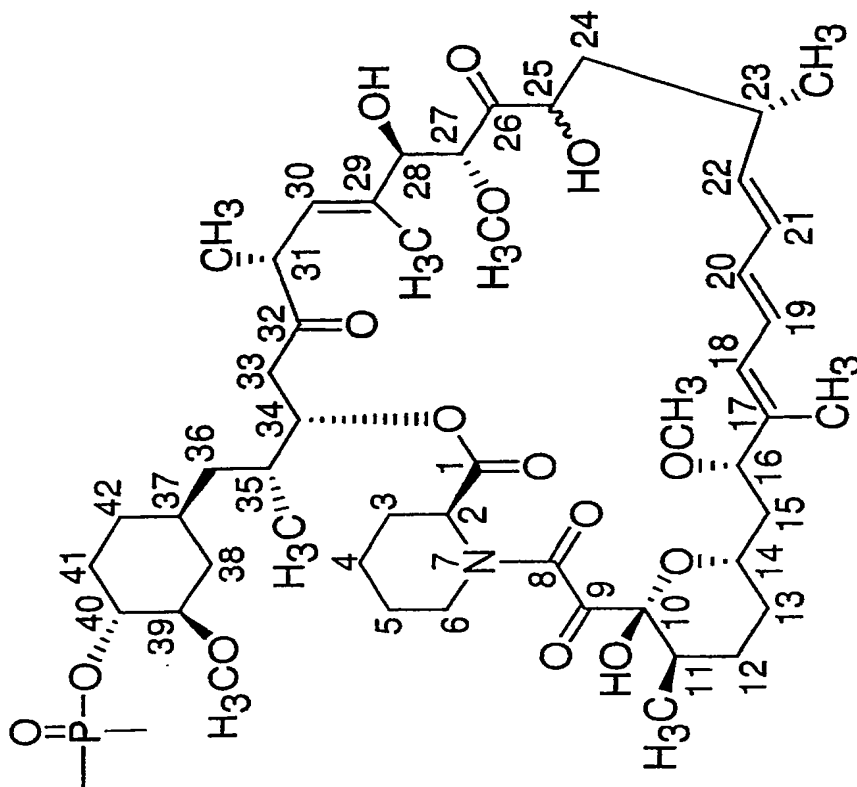


Fig. 2af

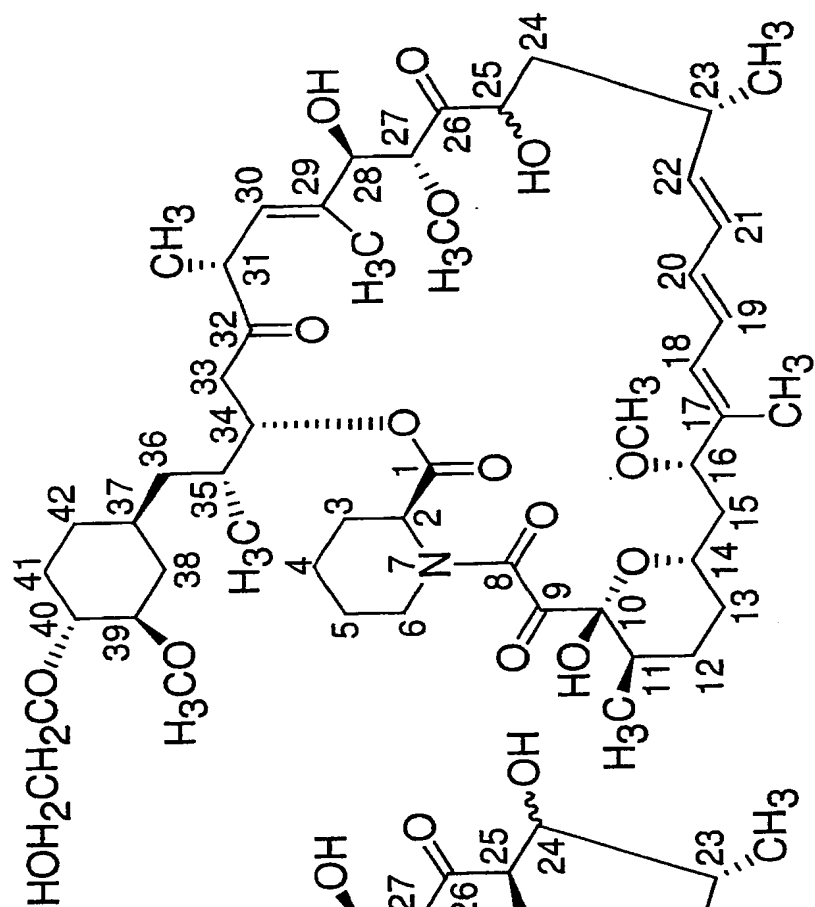


Fig. 2ae

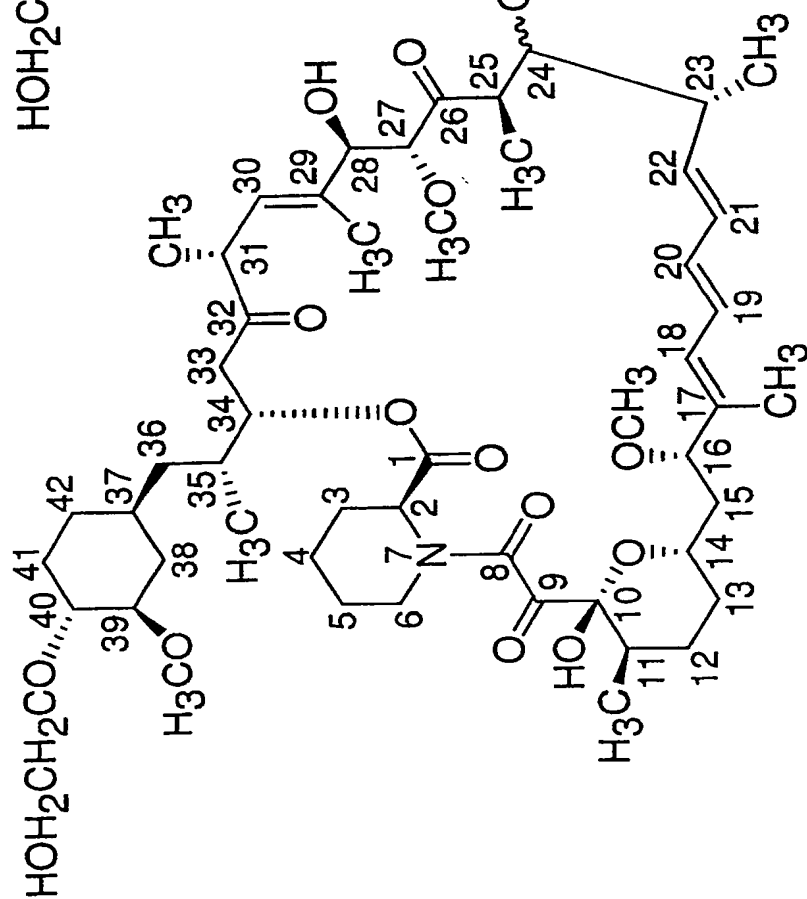


Fig. 2ah

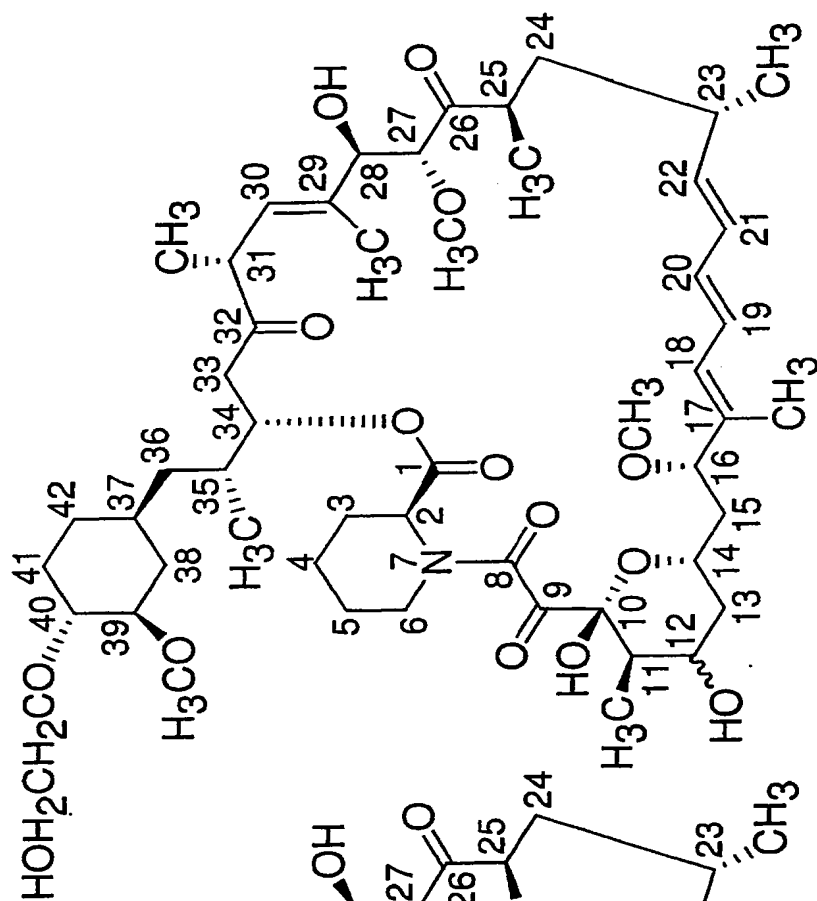


Fig. 2ag

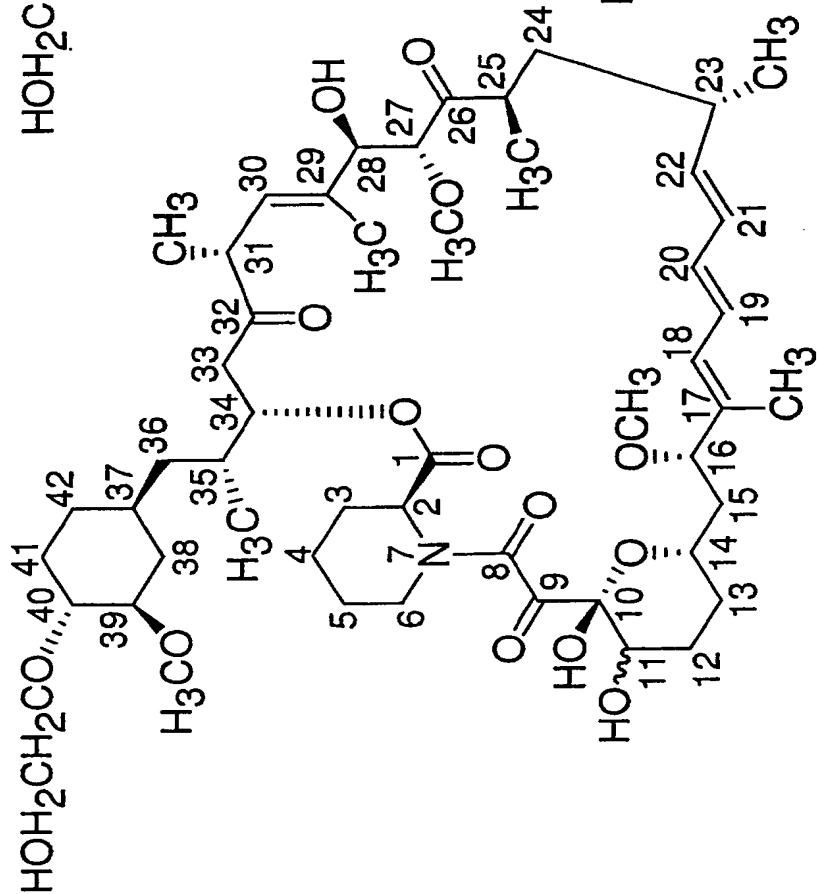


Fig. 2aj

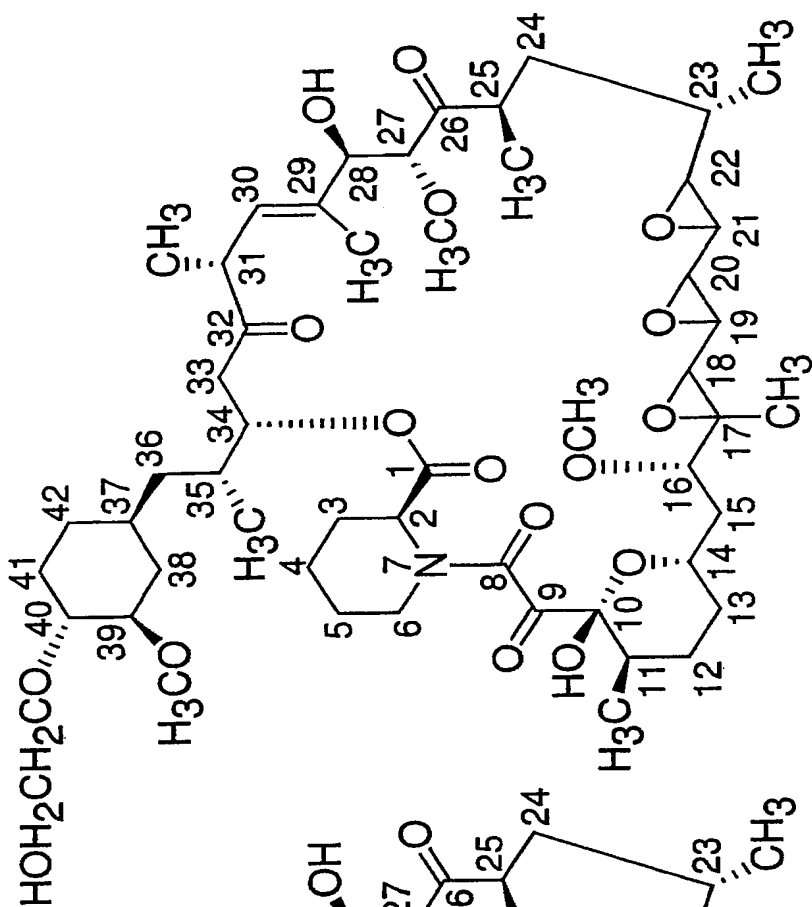


Fig. 2ai

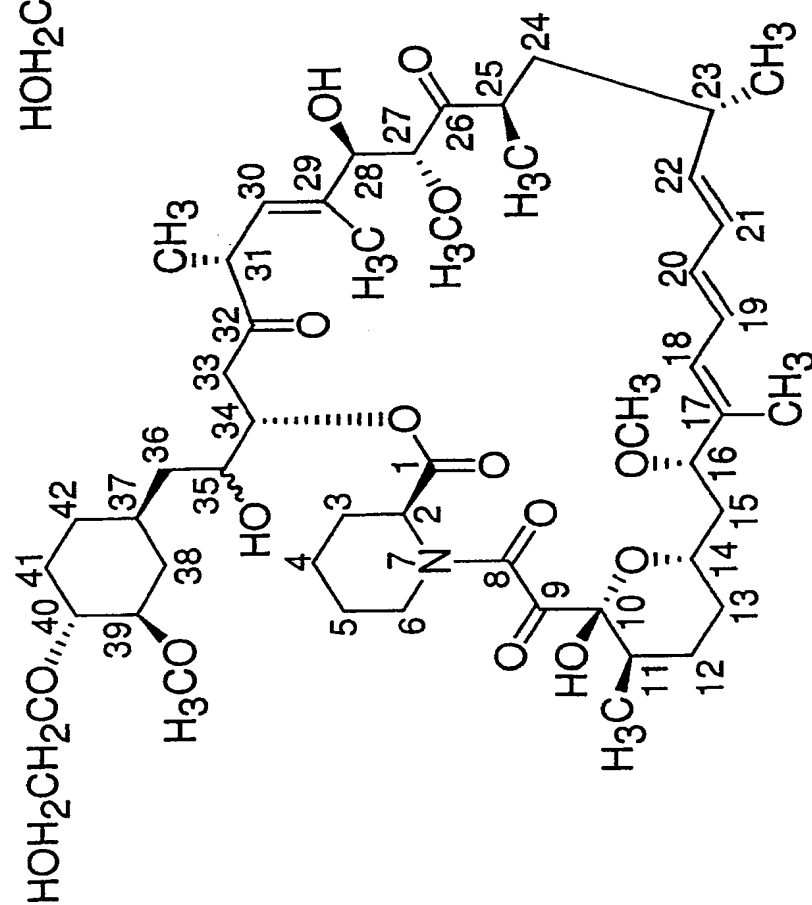


Fig. 2a1

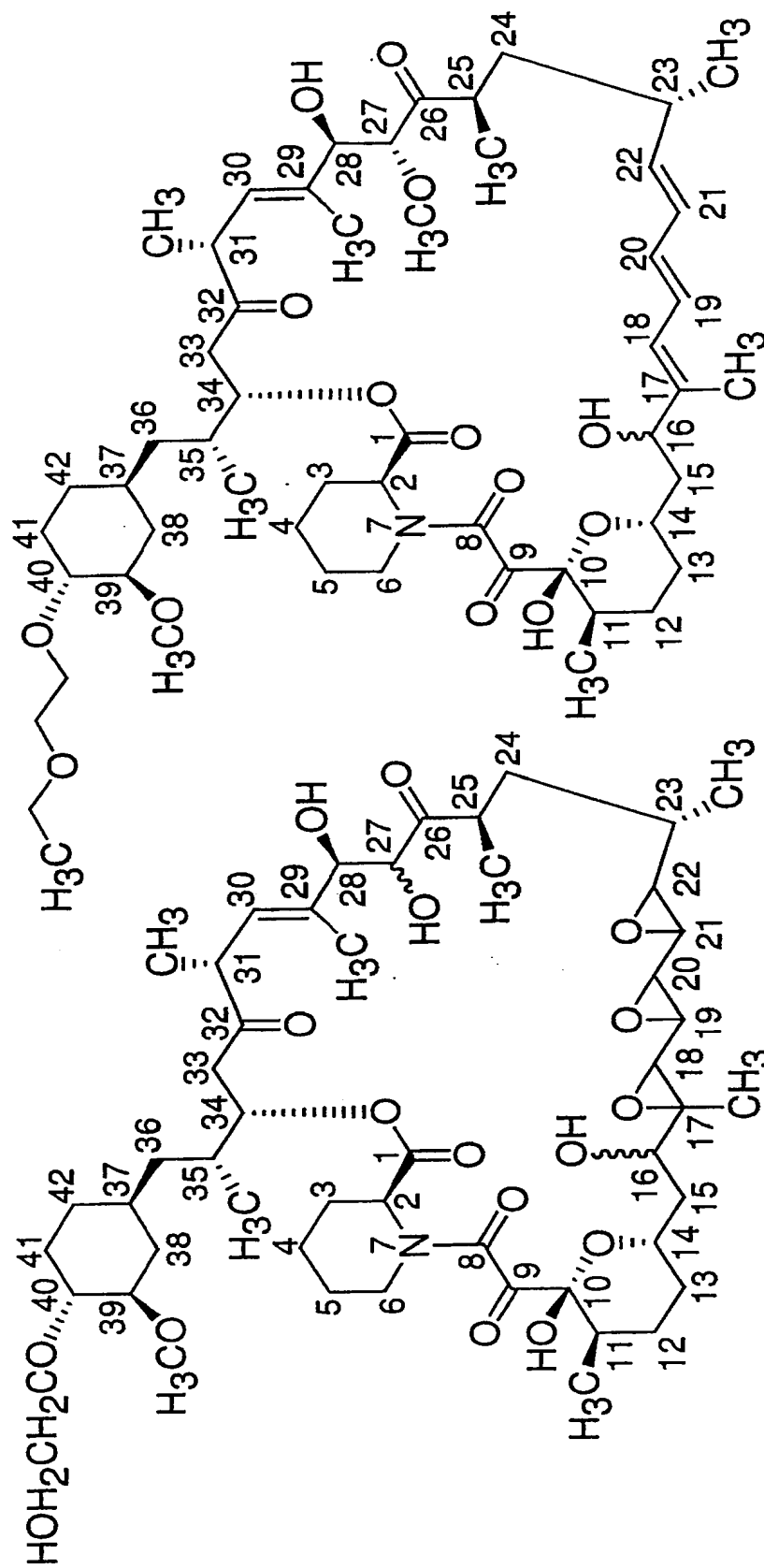


Fig. 2ak

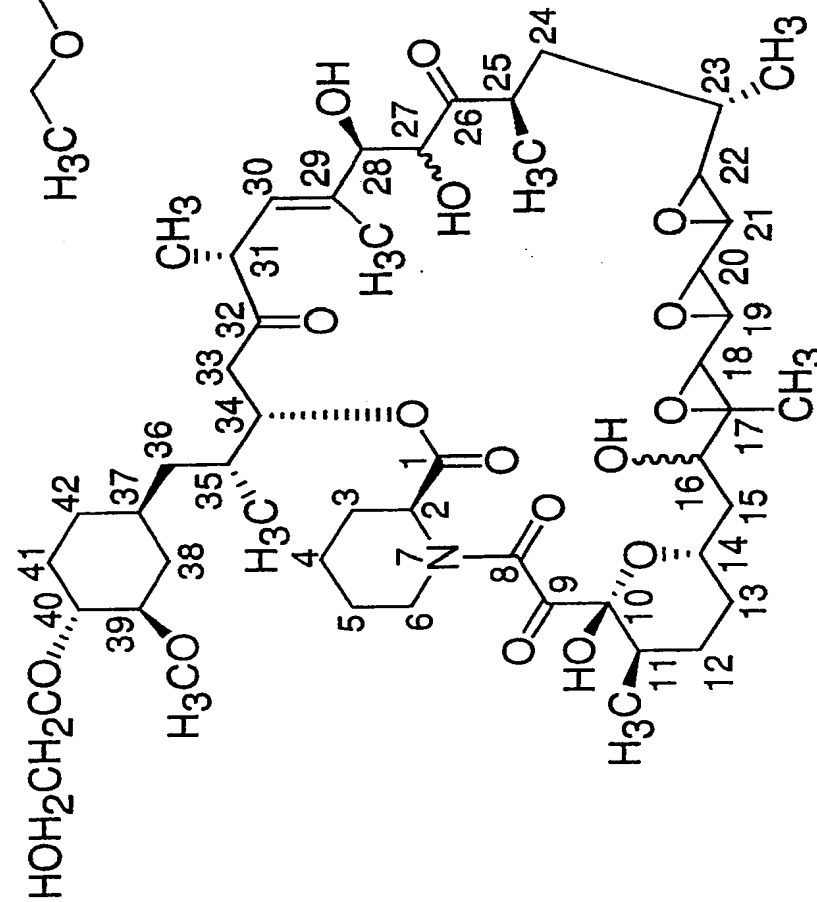


Fig. 2ap

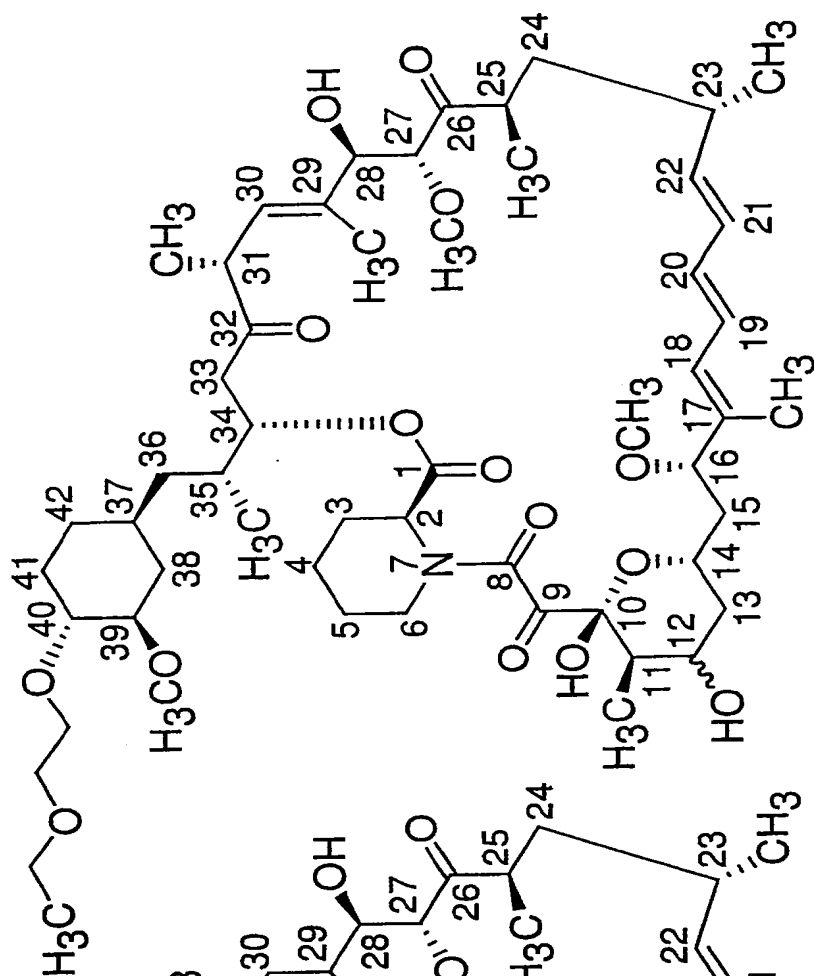


Fig. 2a0

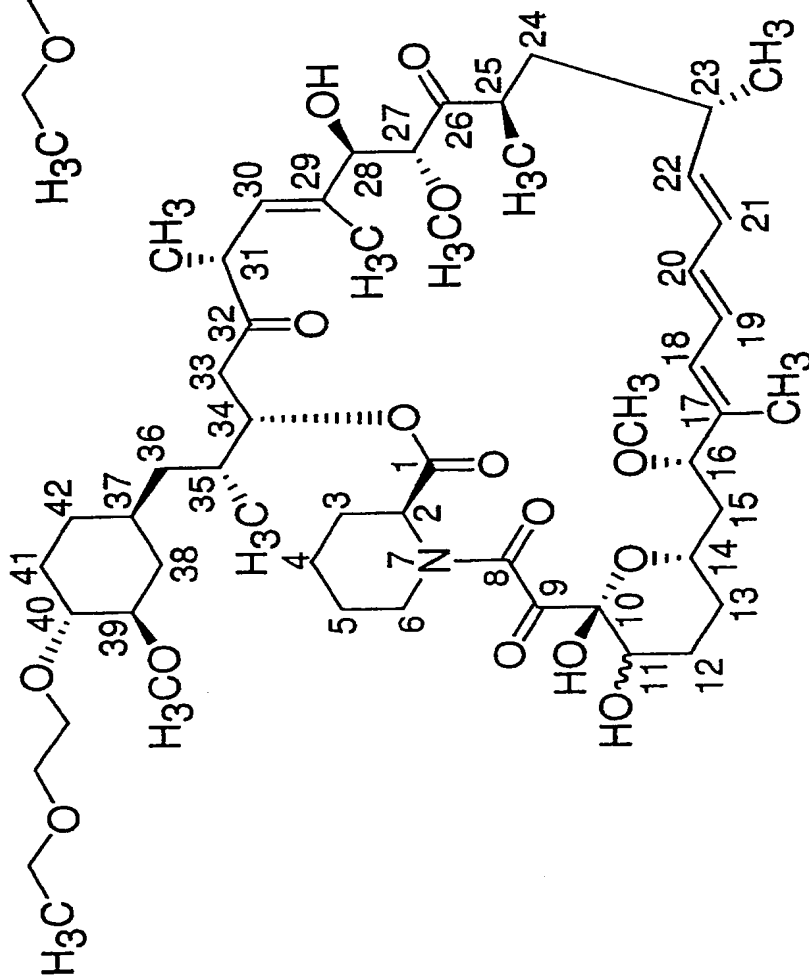


Fig. 2ar

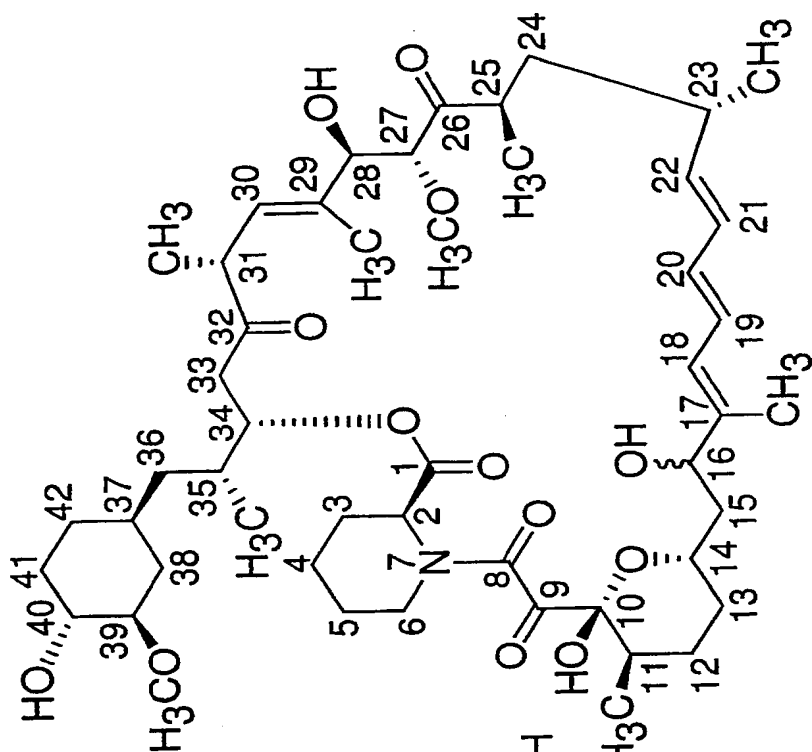


Fig. 2aq

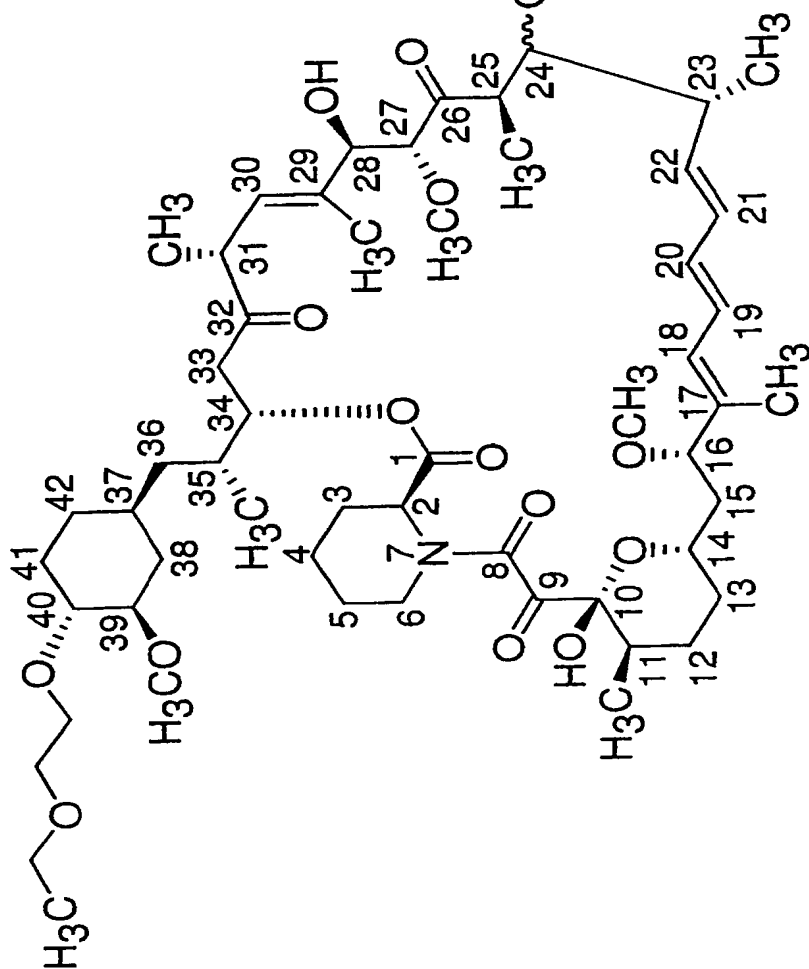


Fig. 2at

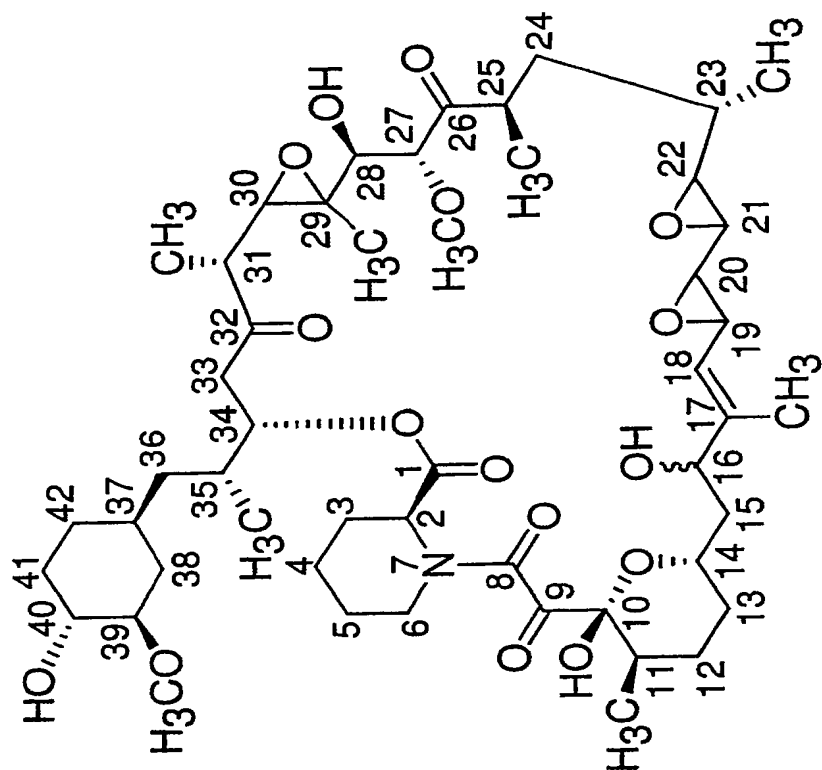


Fig. 2as

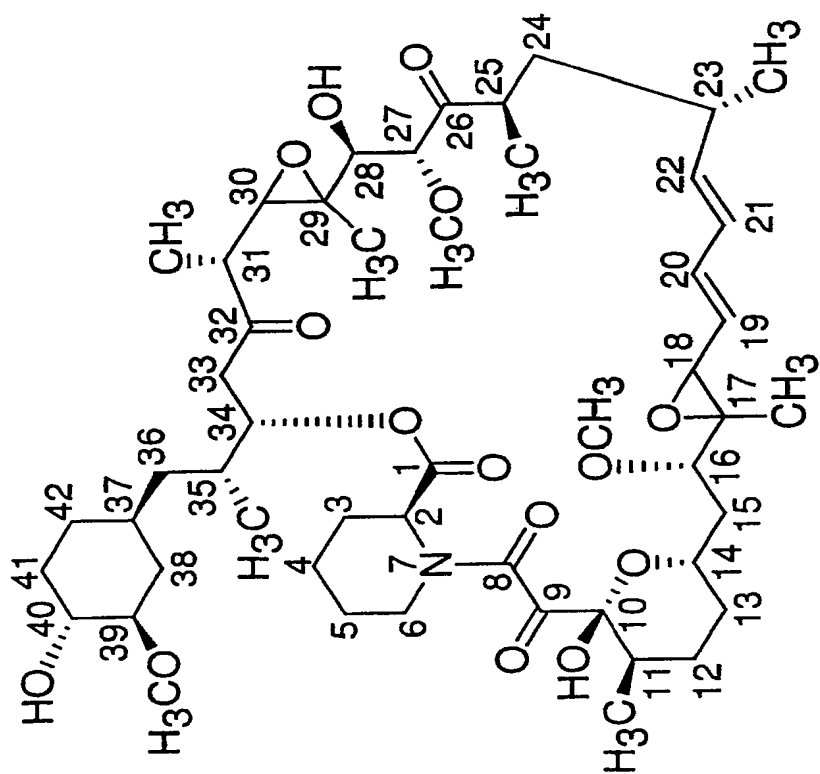


Fig. 2av

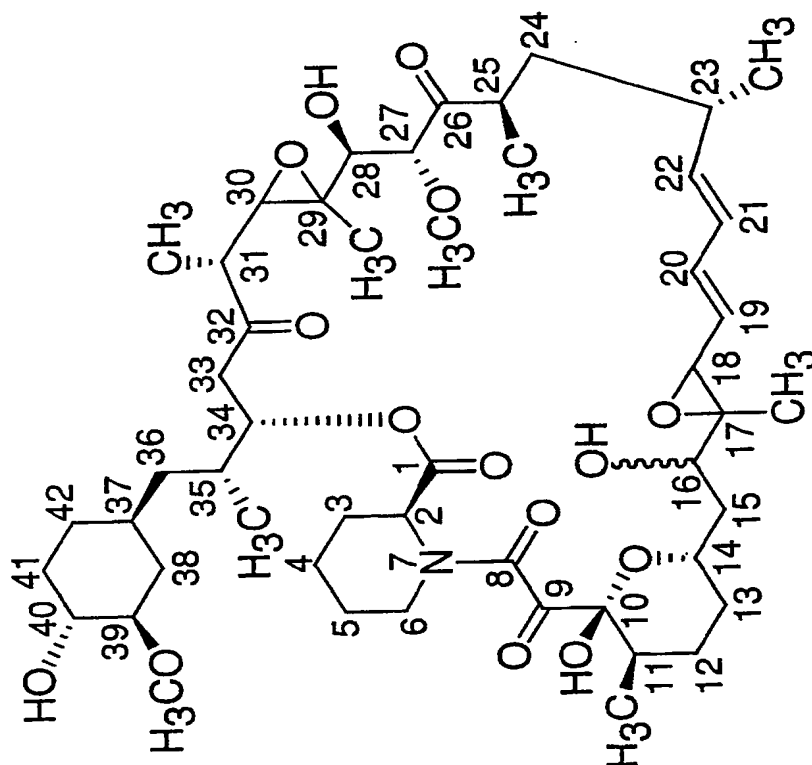


Fig. 2au

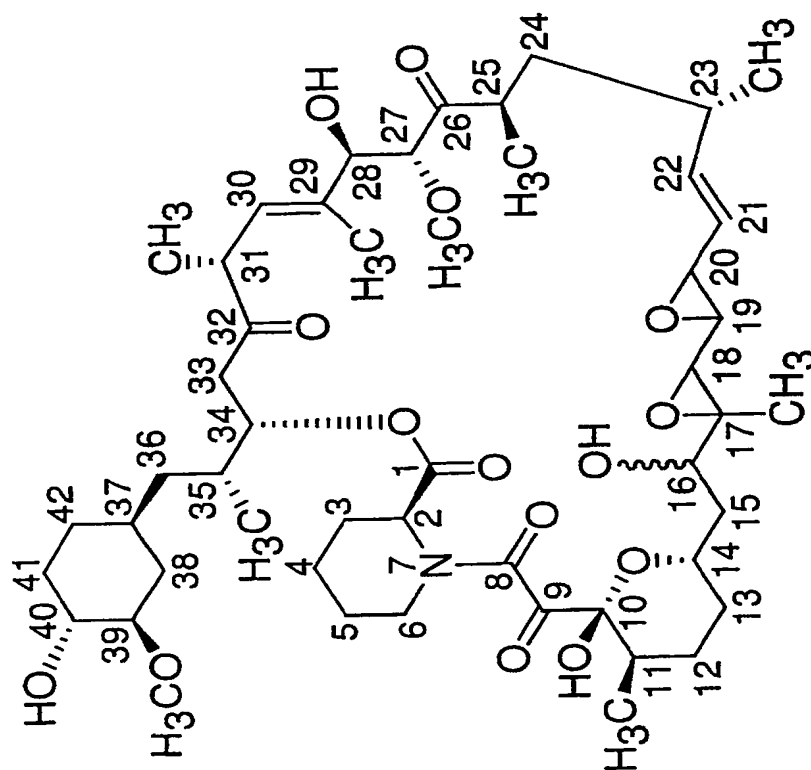


Fig. 2ax

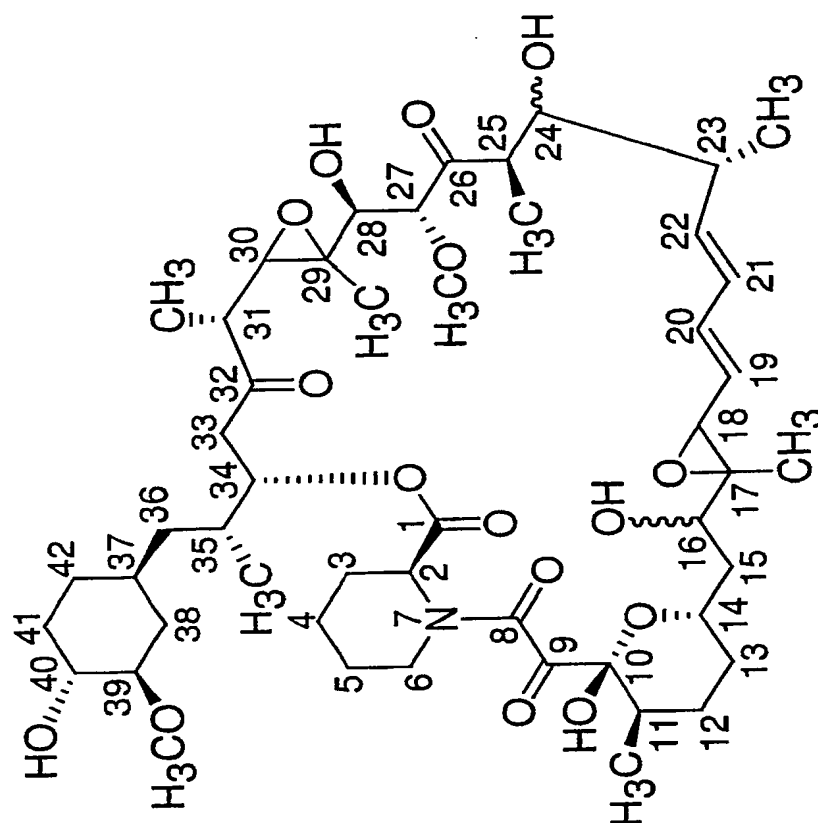


Fig. 2aw

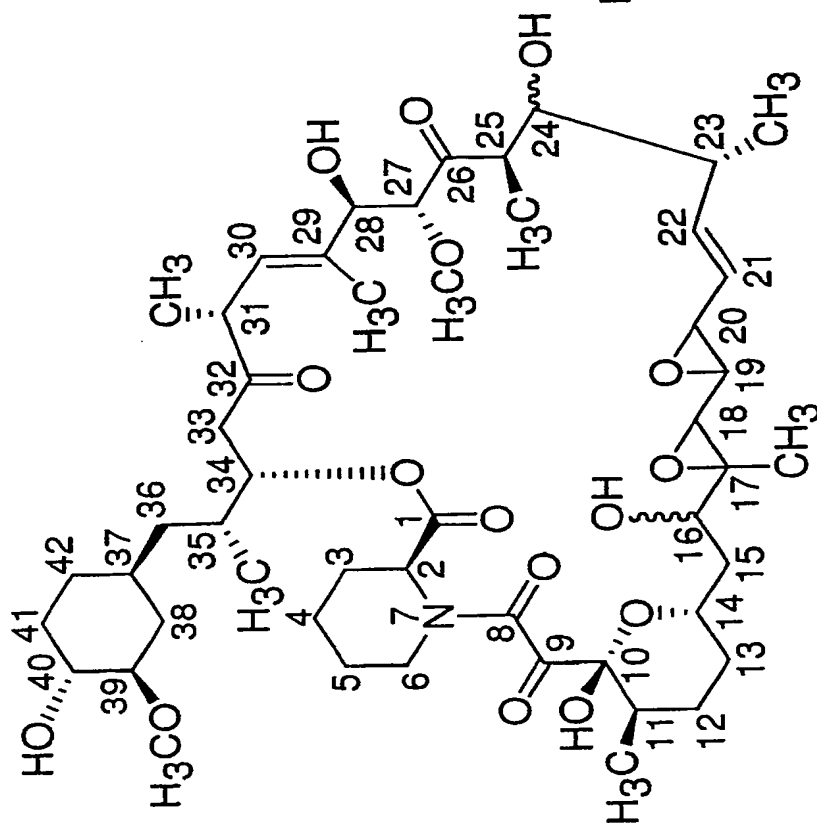


Fig. 2az

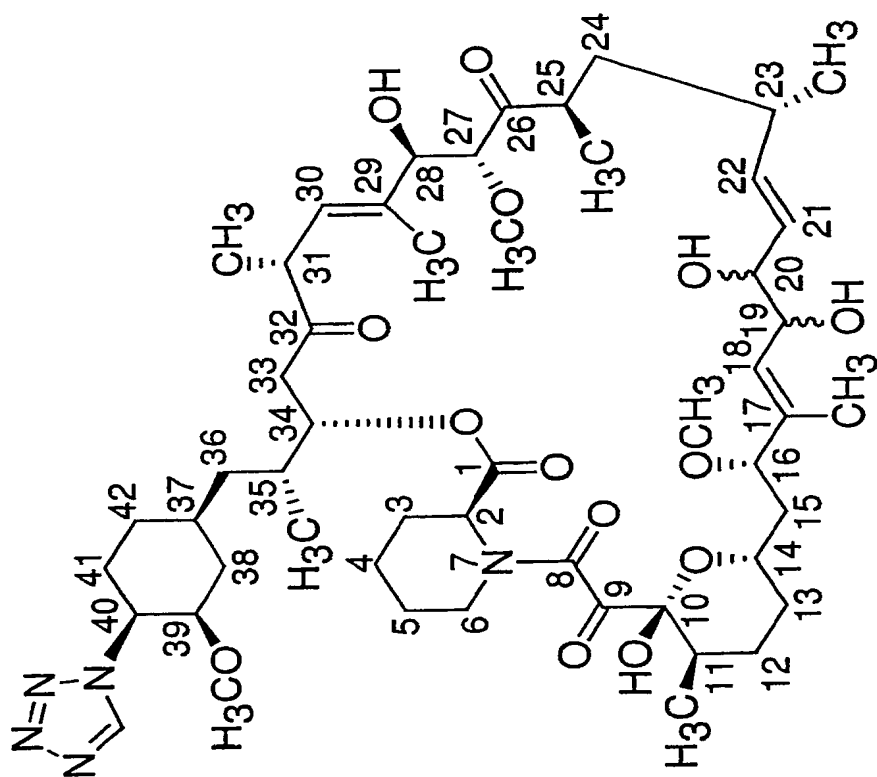


Fig. 2ay

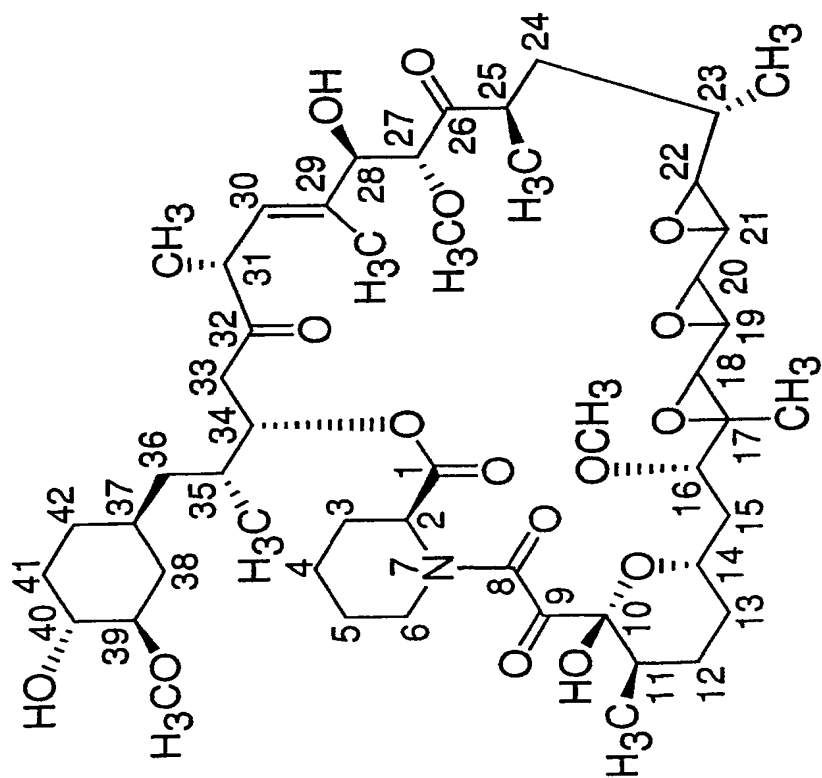


Fig. 3

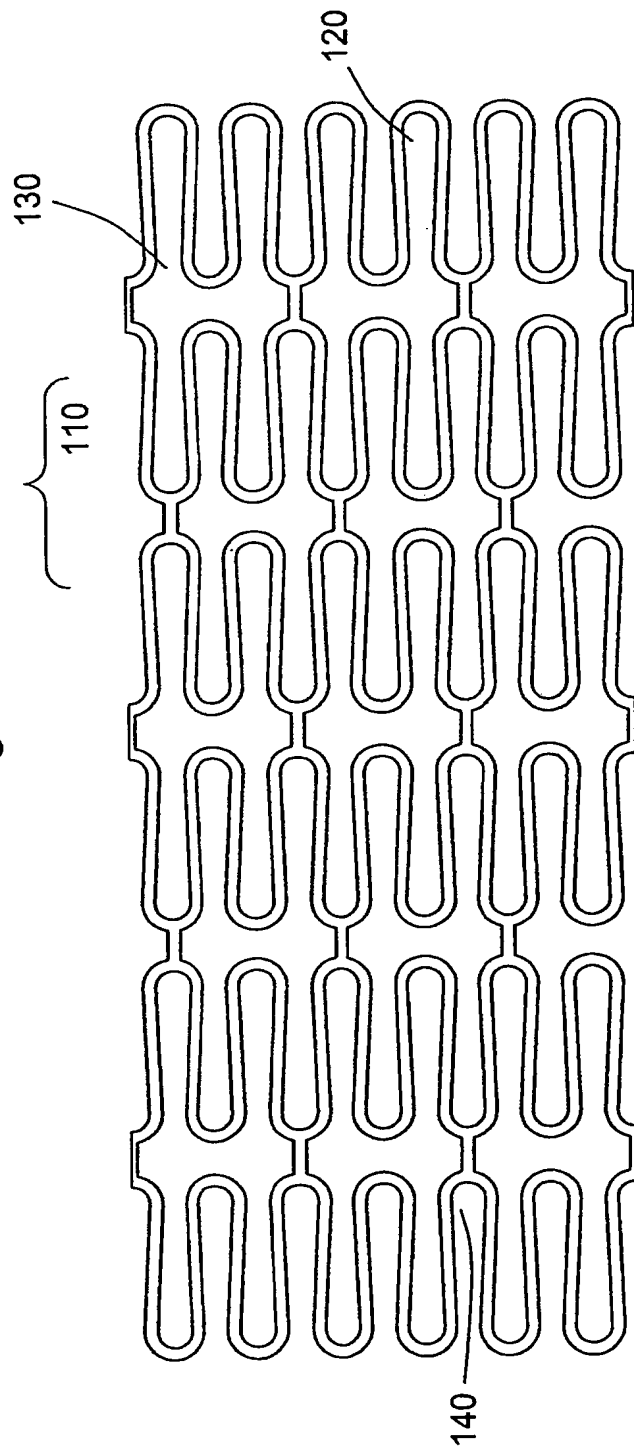


Fig. 4

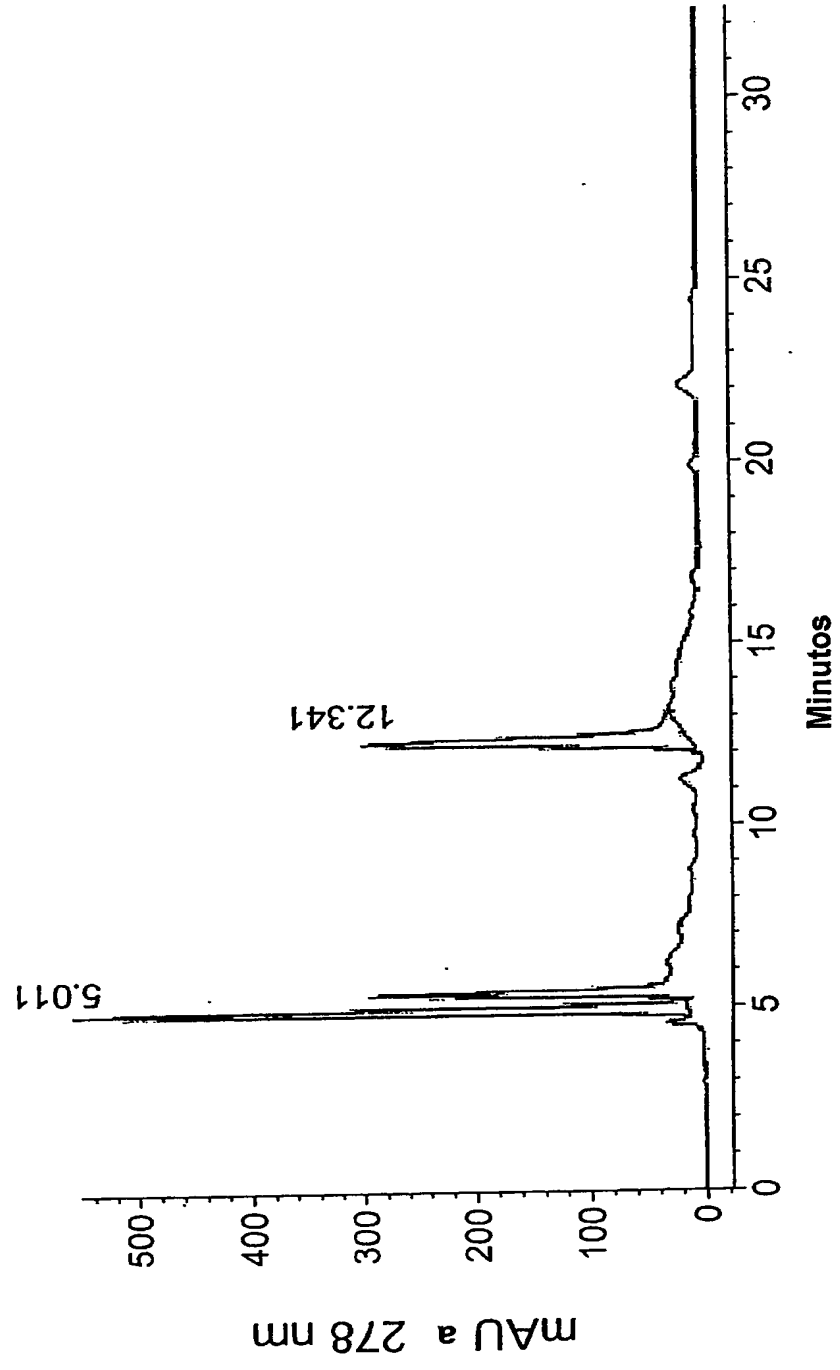


Fig. 5

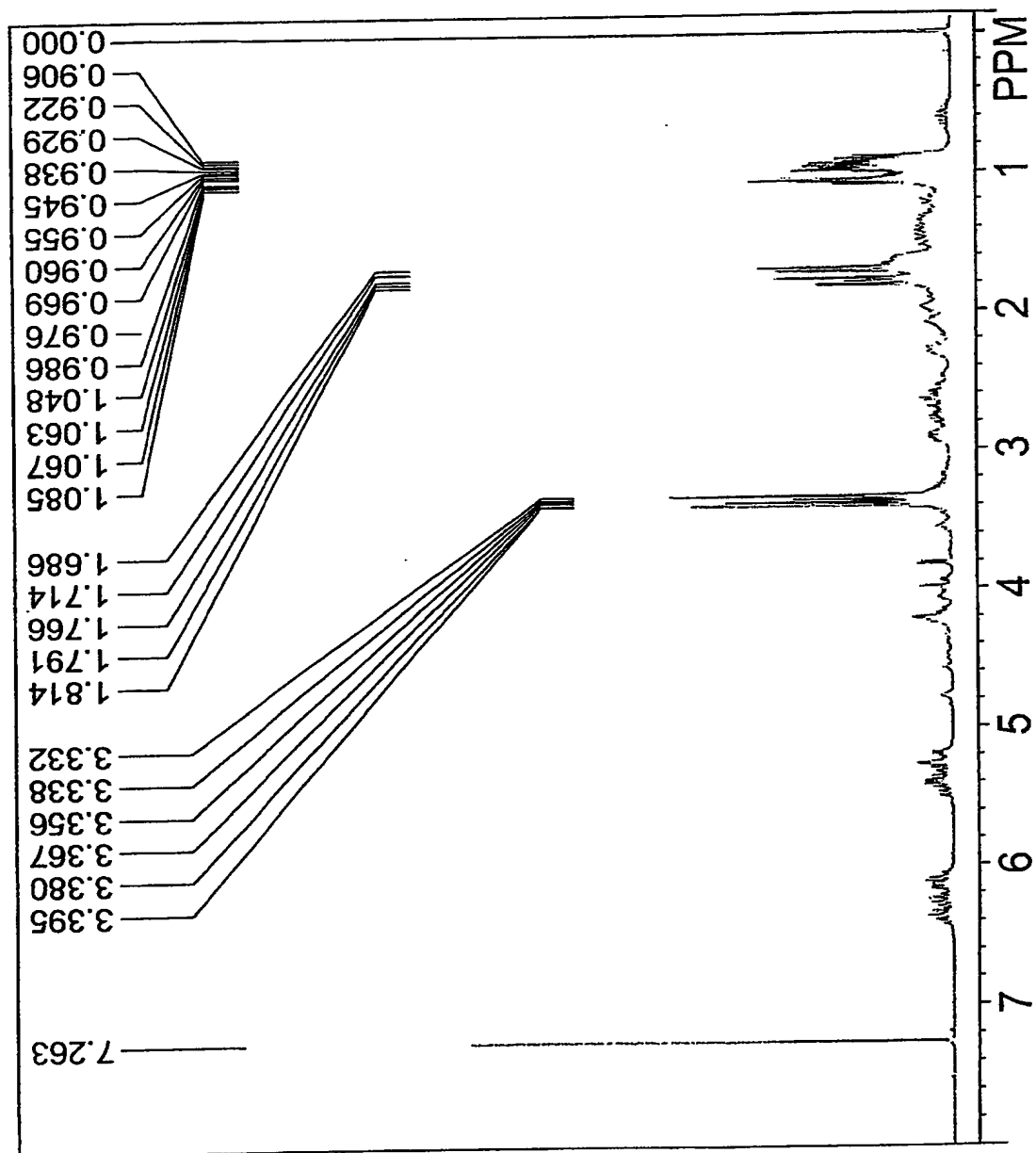


Fig. 6a

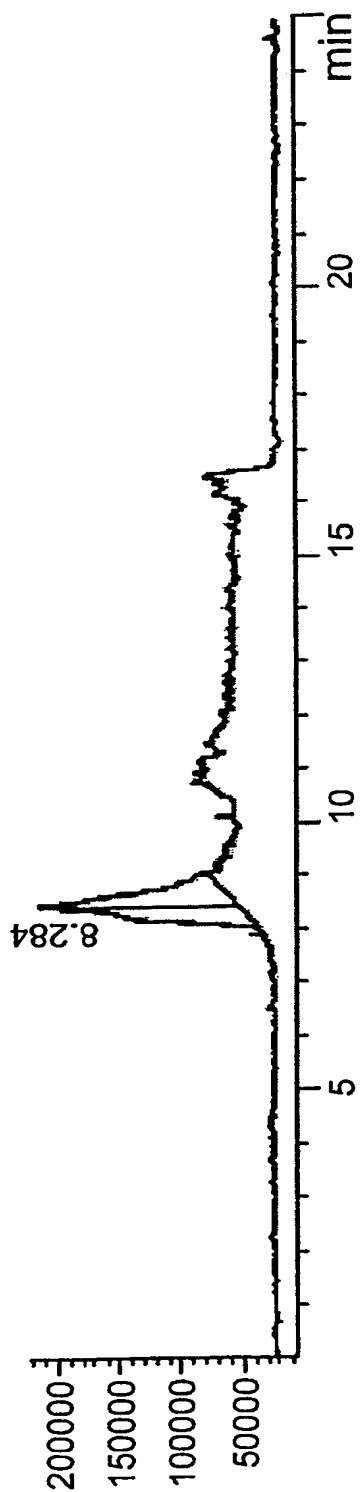


Fig. 6b

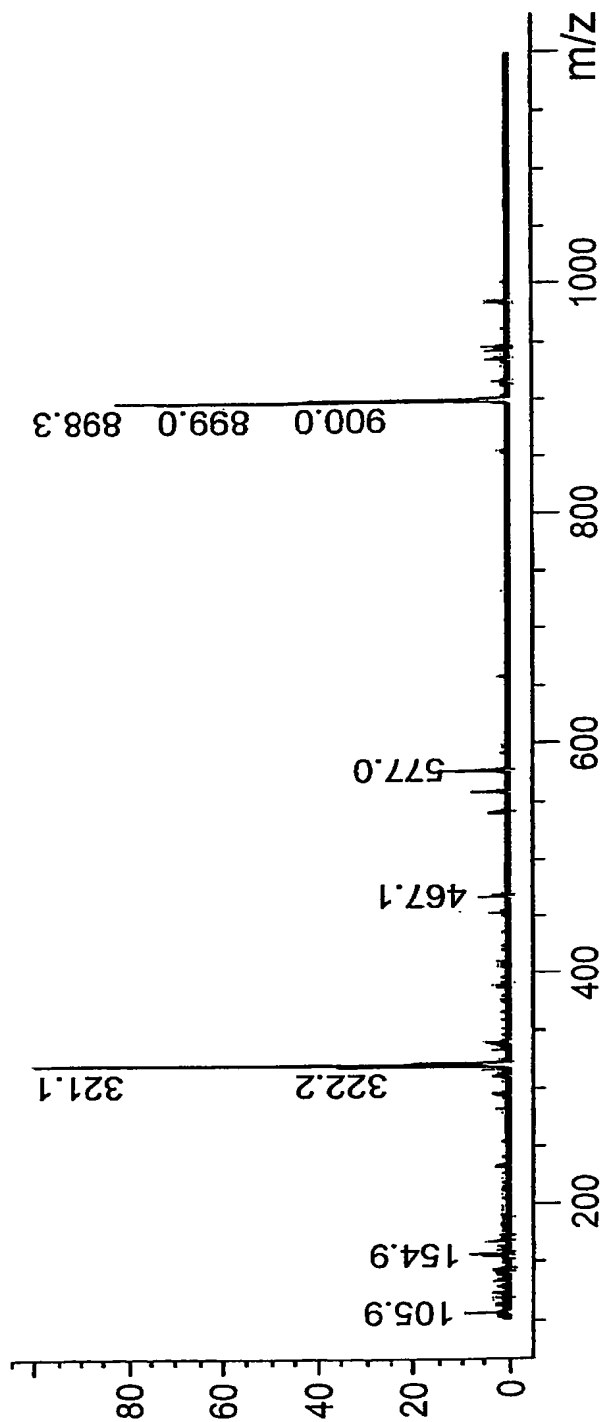


Fig. 7a

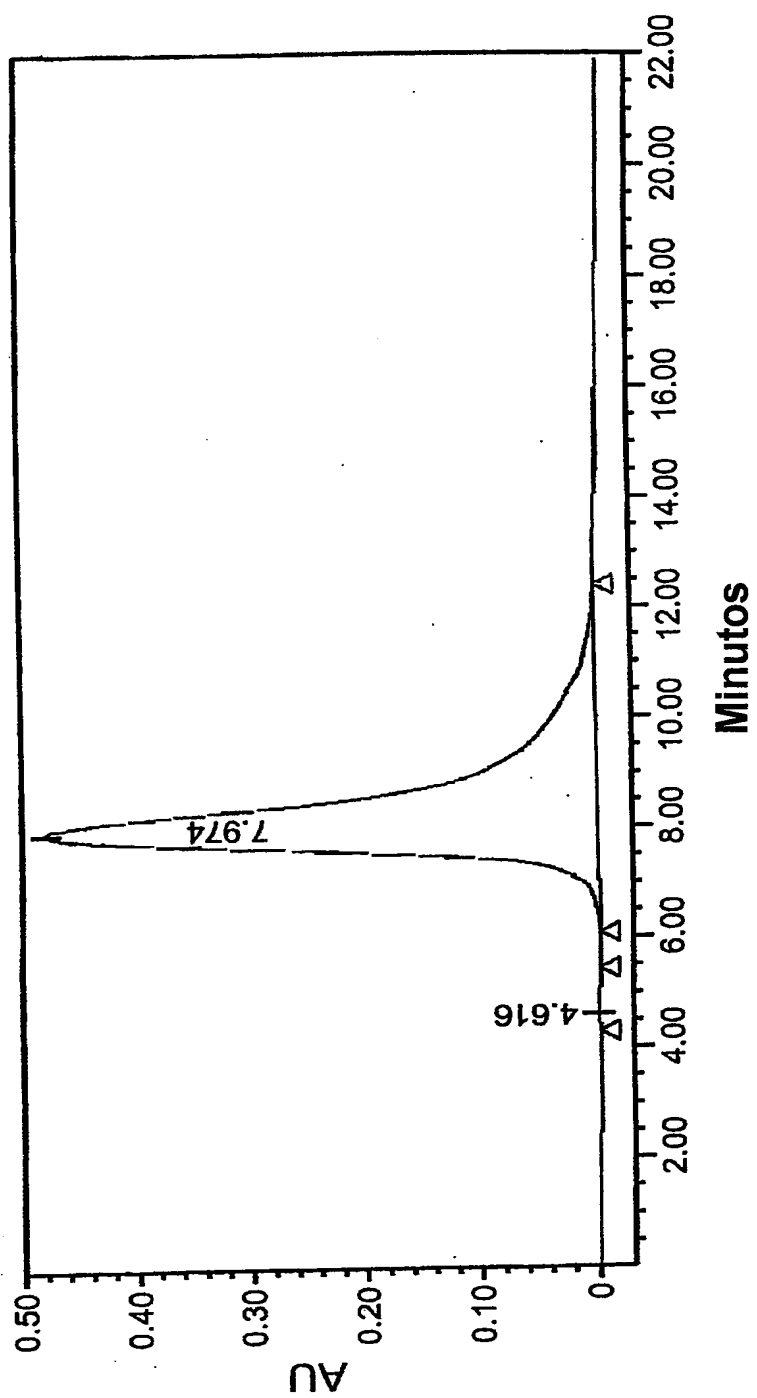


Fig. 7b

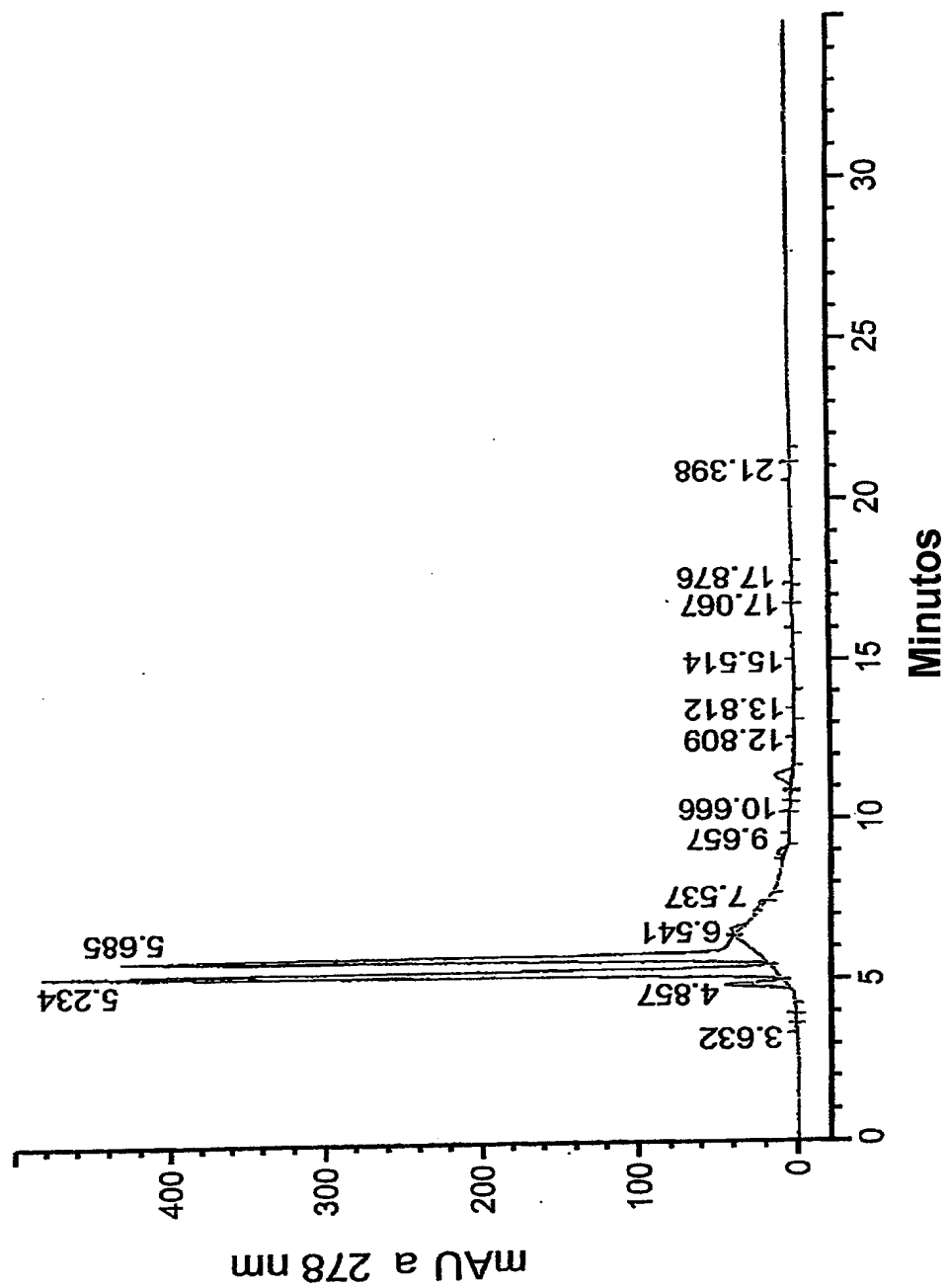
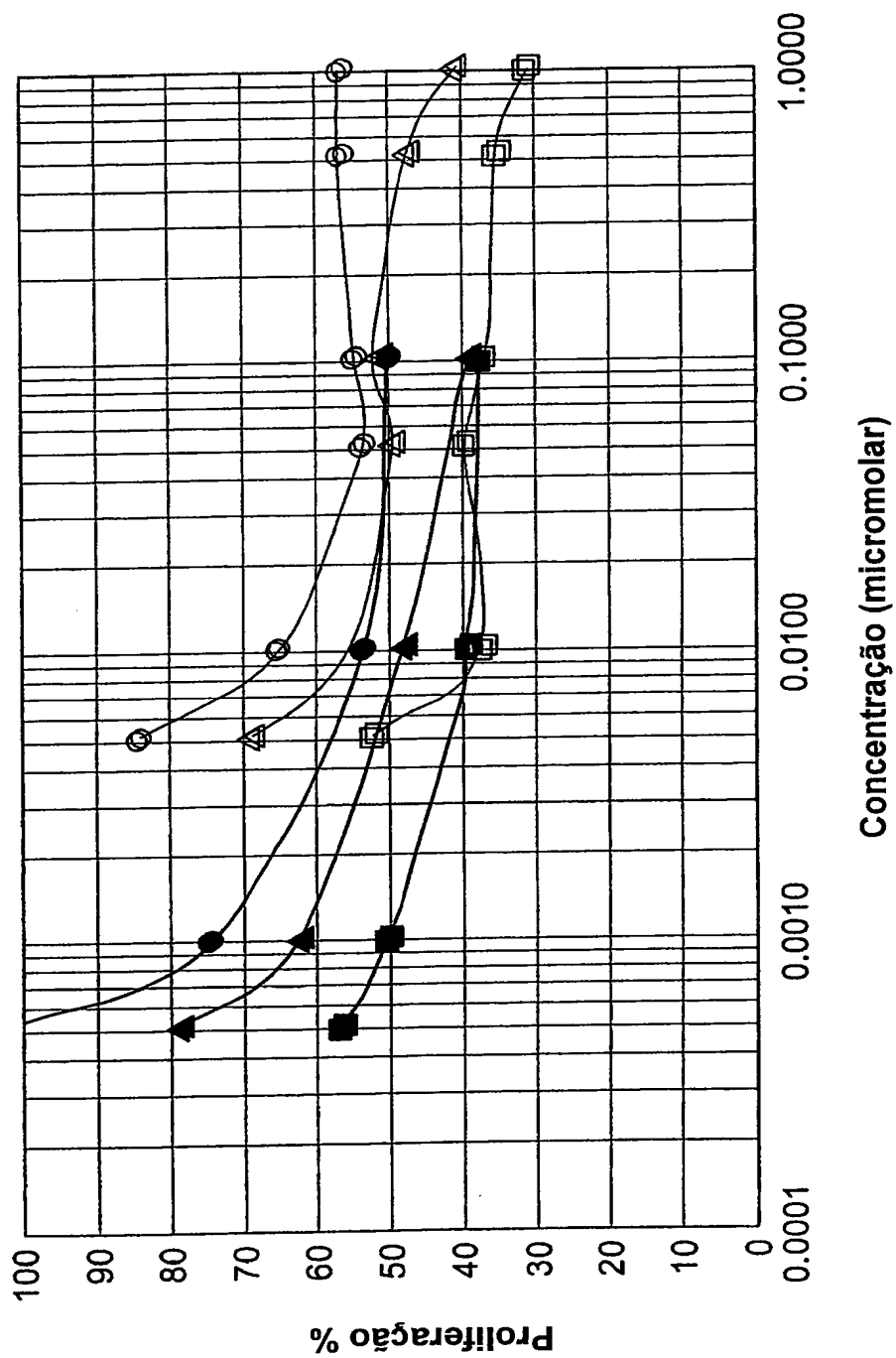
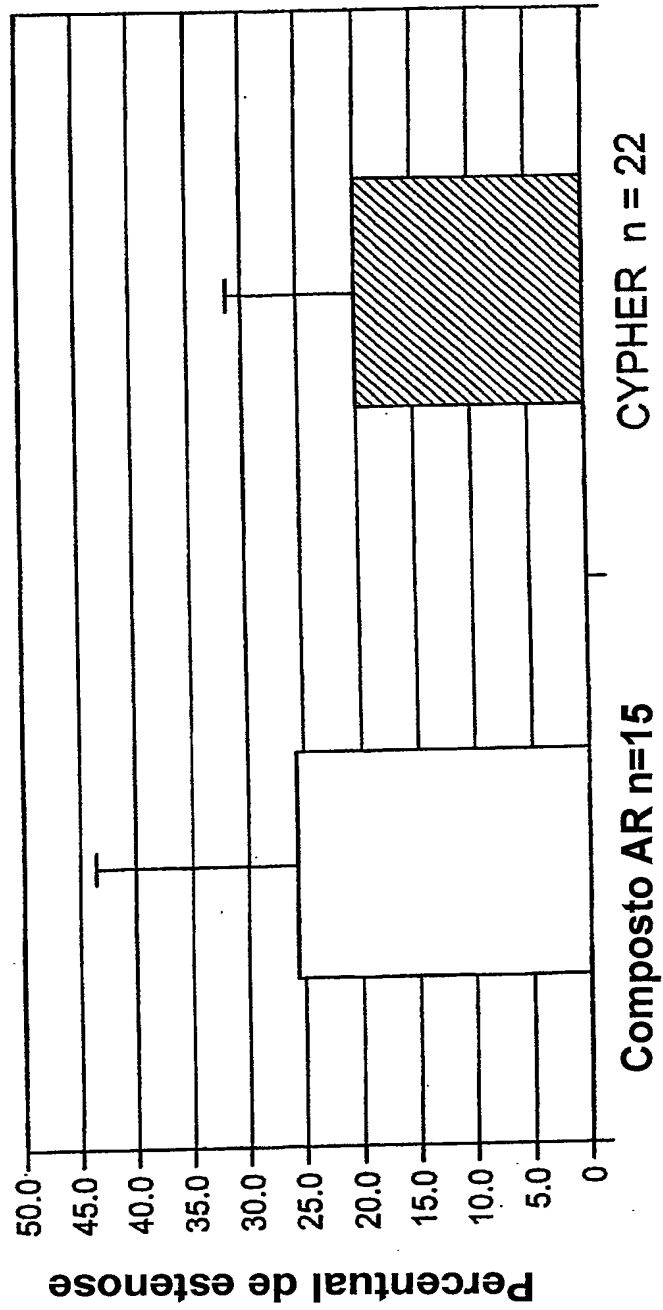


Fig. 8



● Uma hora de exposição à rapamicina ○ Uma hora de exposição ao Composto AR
 ▲ Três horas de exposição à rapamicina △ Três horas de exposição ao Composto AR
 ■ Oito horas de exposição à rapamicina □ Oito horas de exposição ao Composto AR

Fig. 9



Tempo de implante 28 dias

Fig. 10

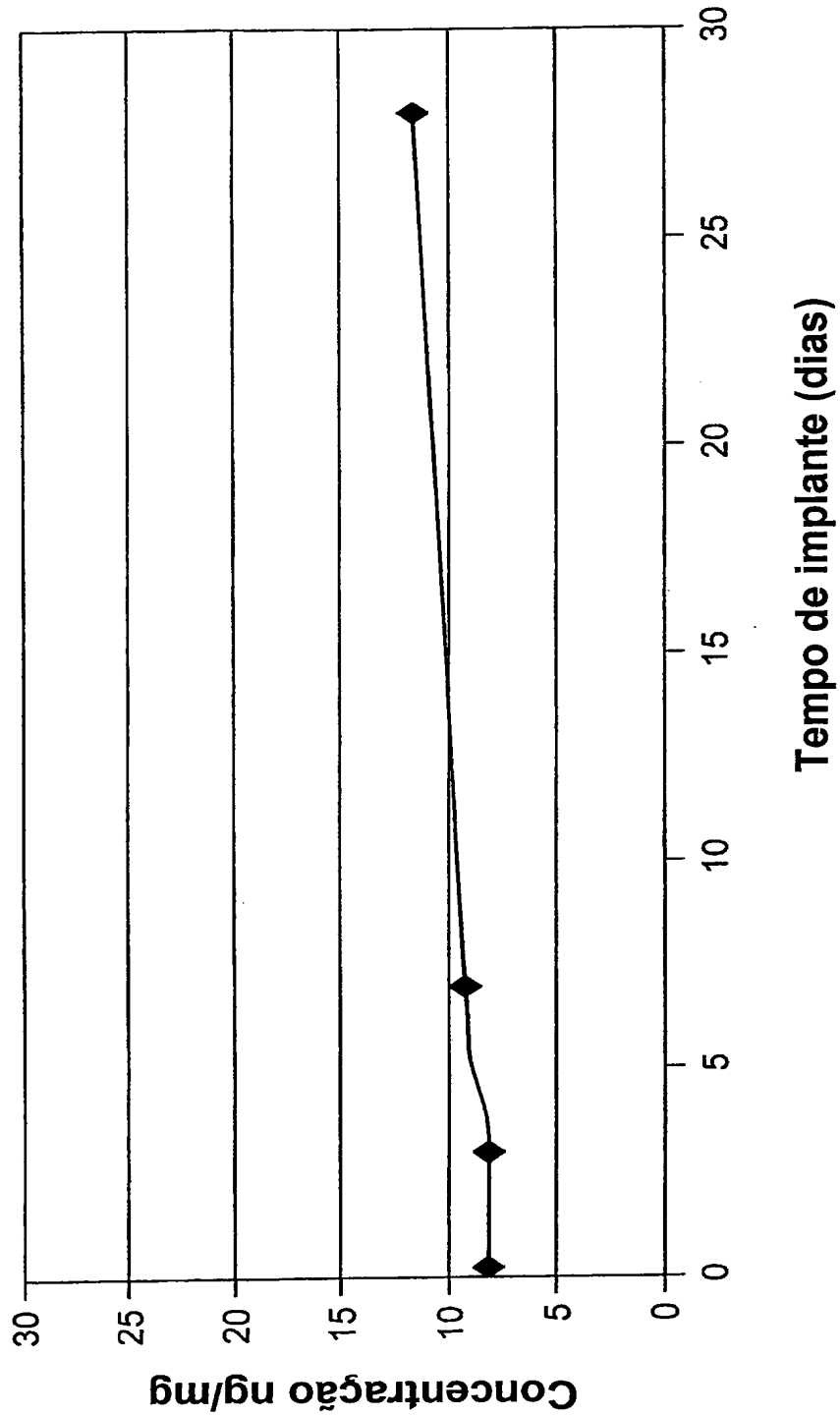


Fig. 11

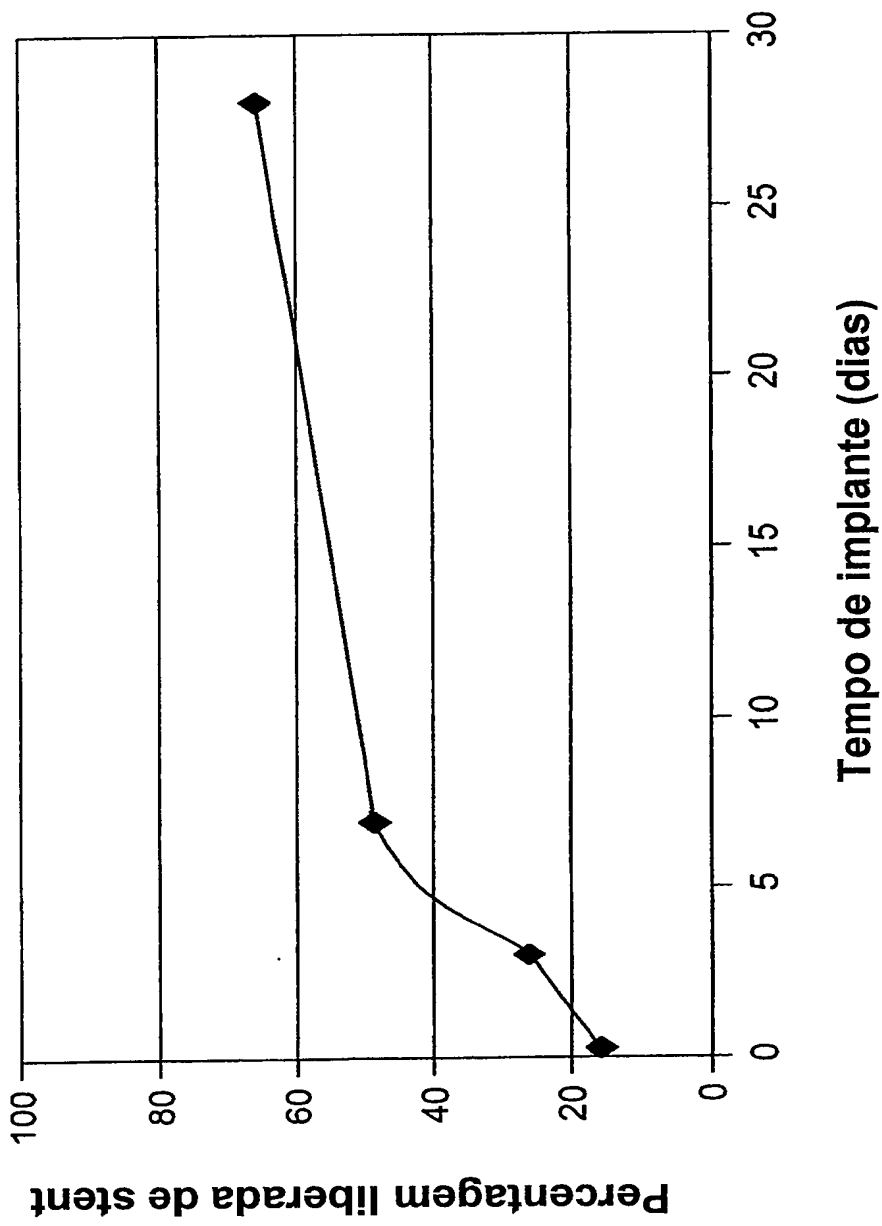


Fig. 12a

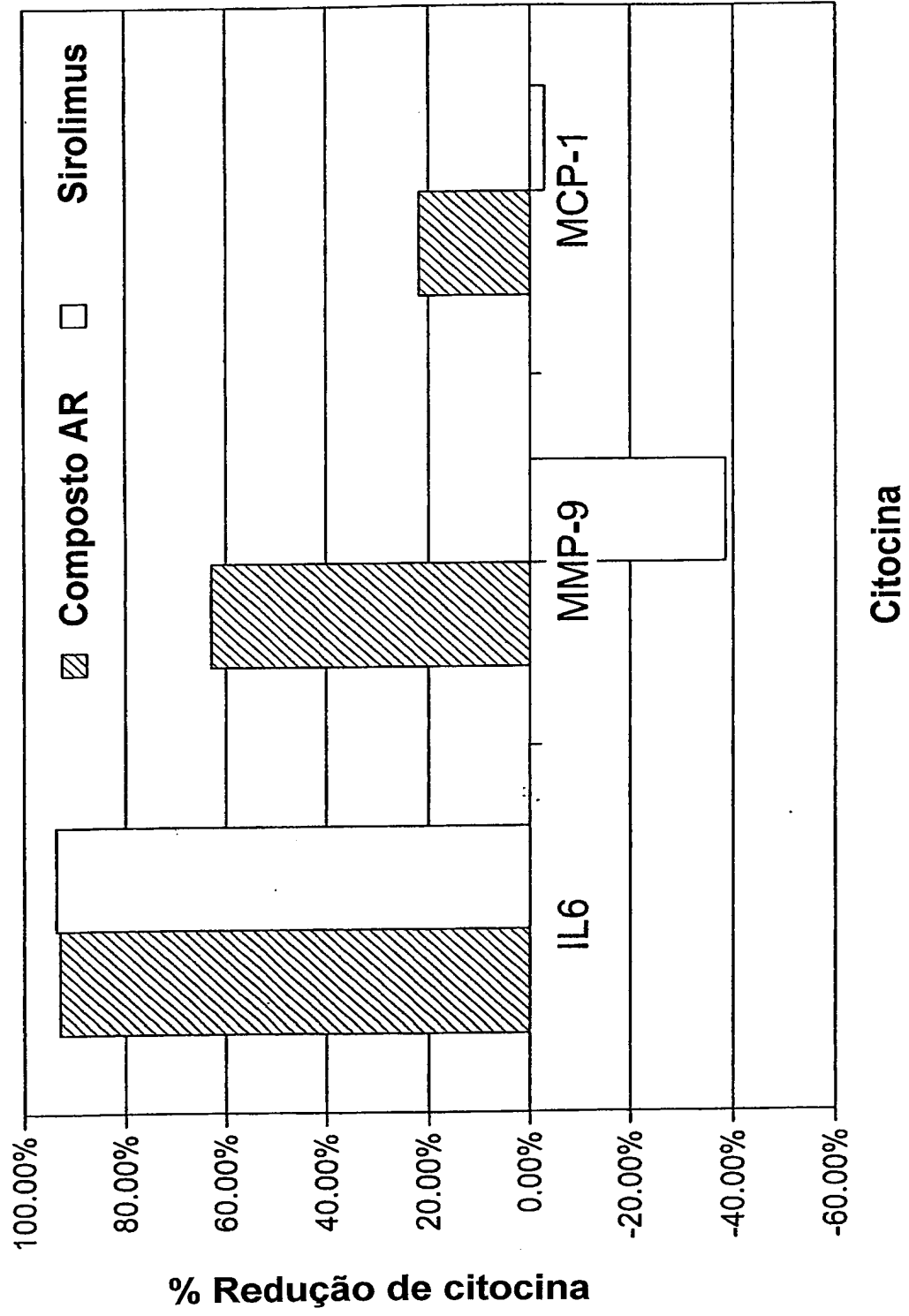


Fig. 12b

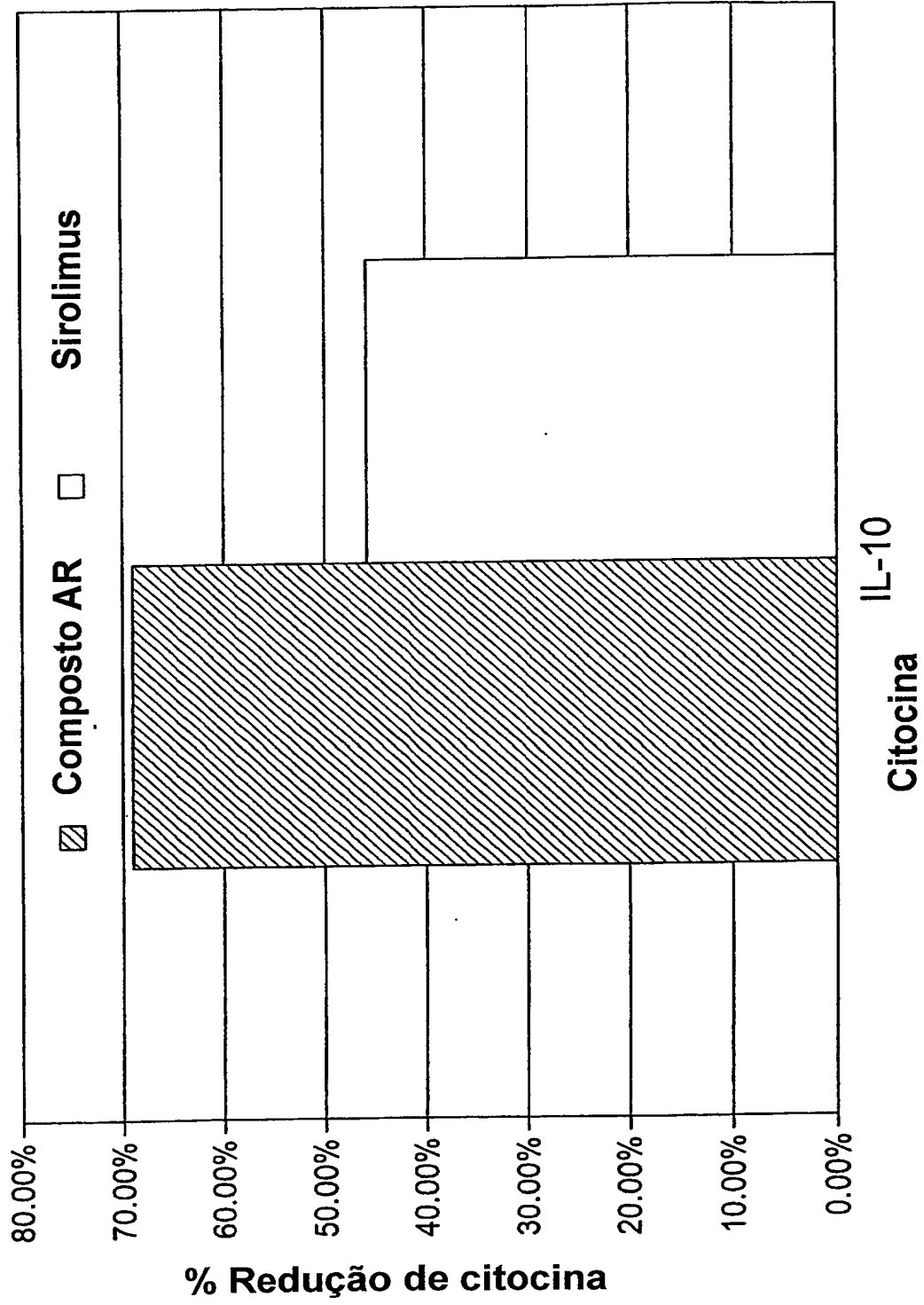


Fig. 13

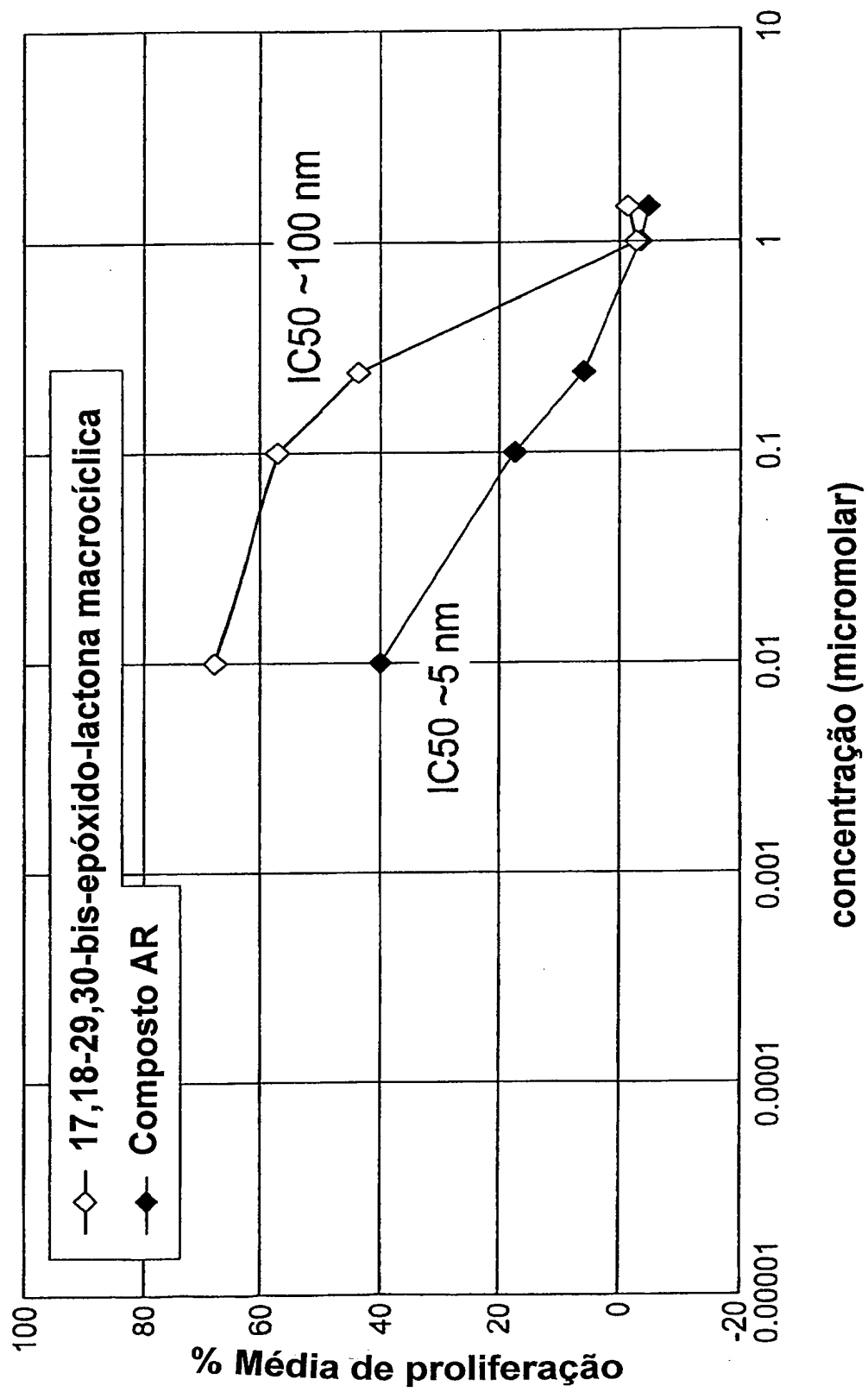


Fig. 14

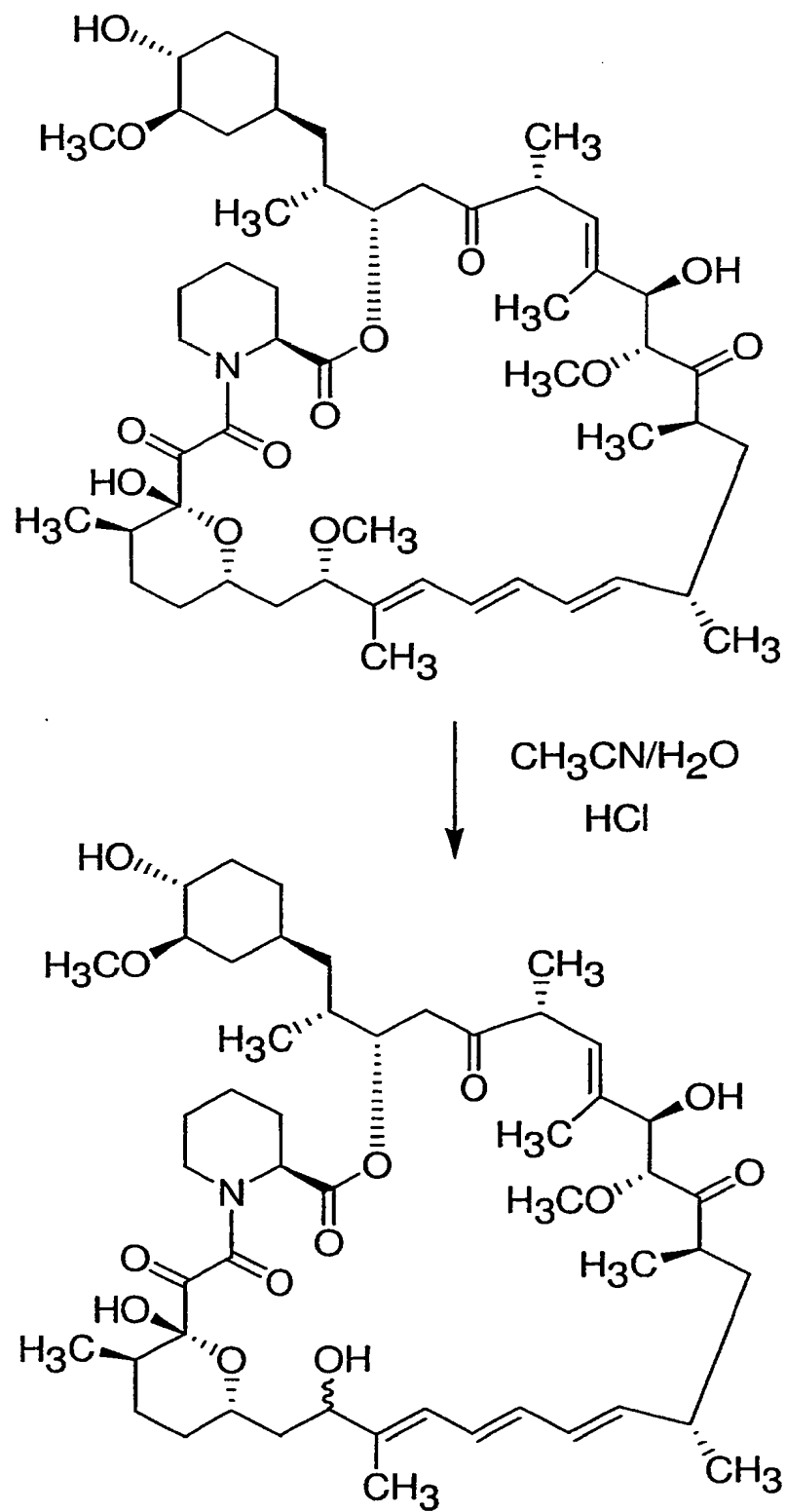


Fig. 15 folha 1

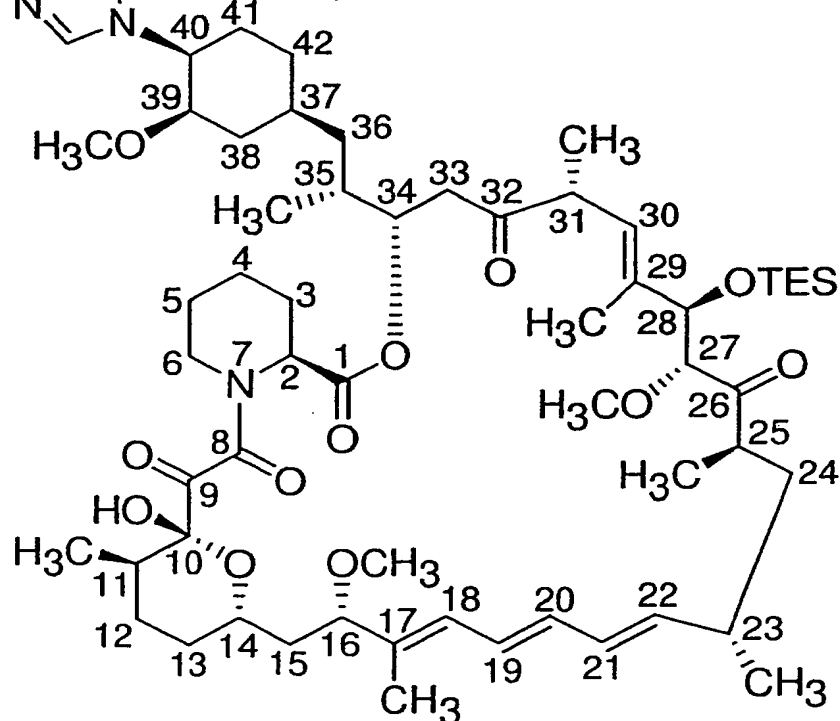
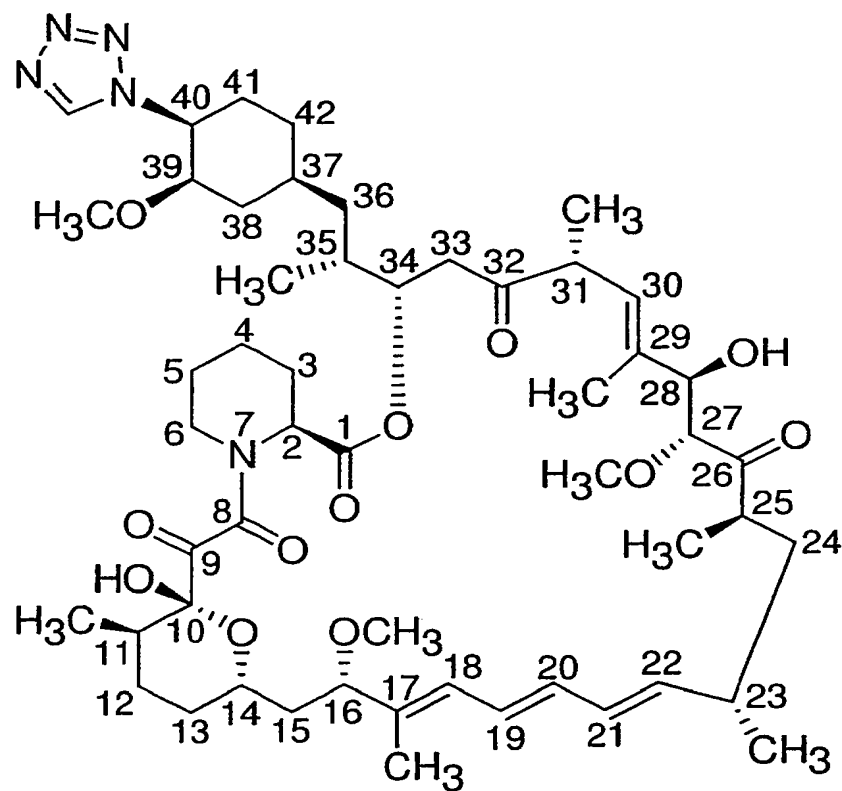


Fig. 15 folha 2

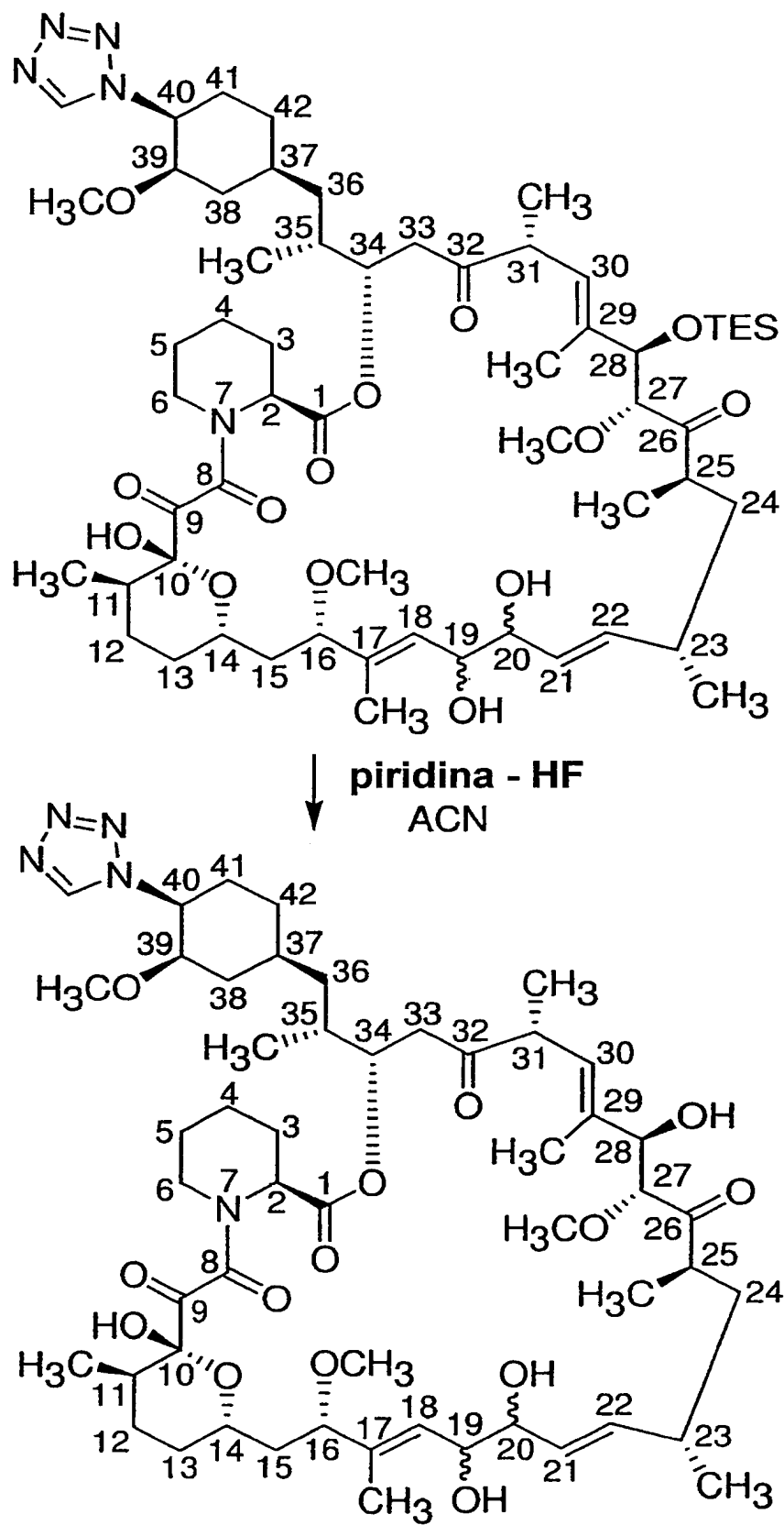
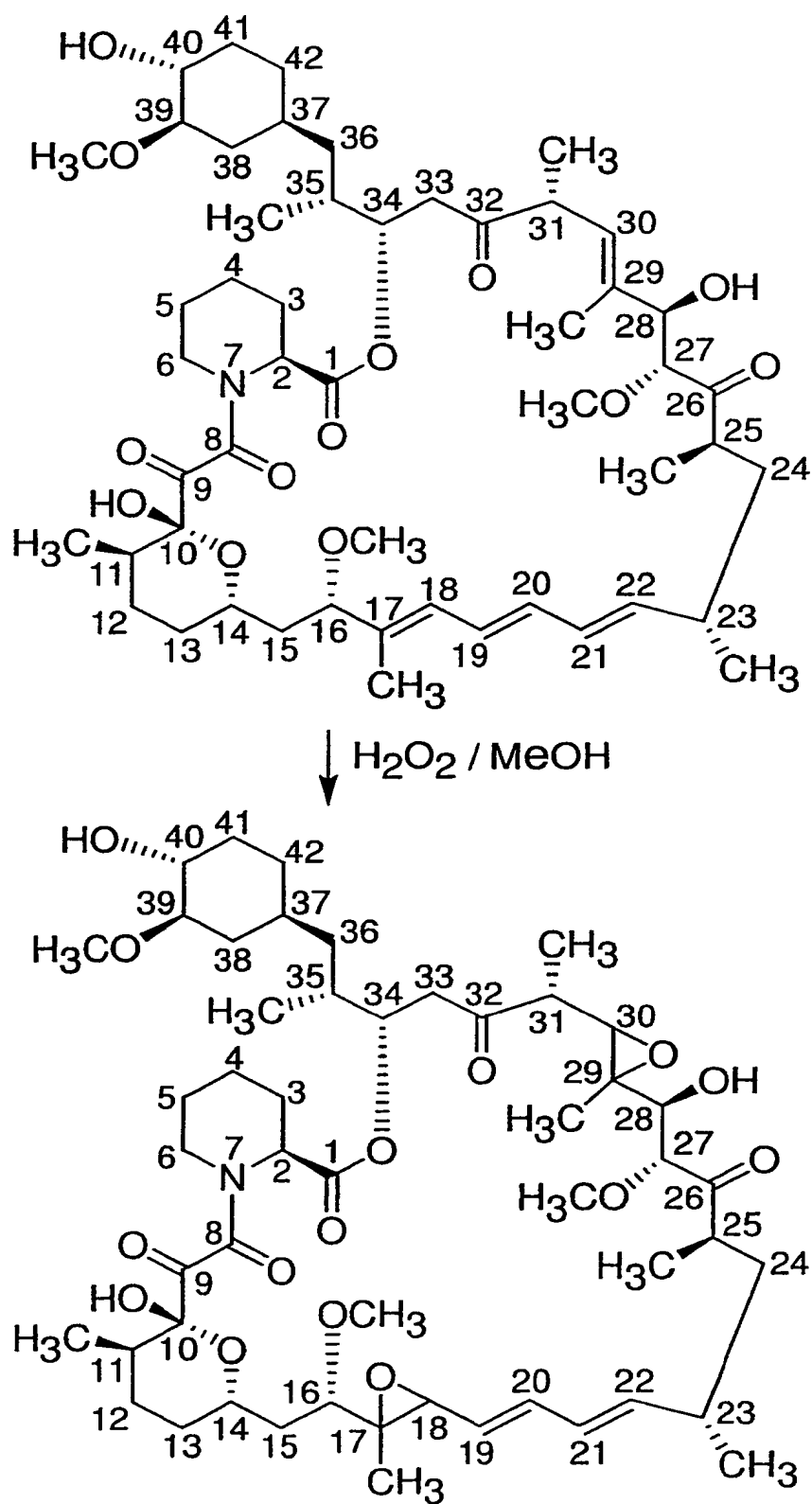


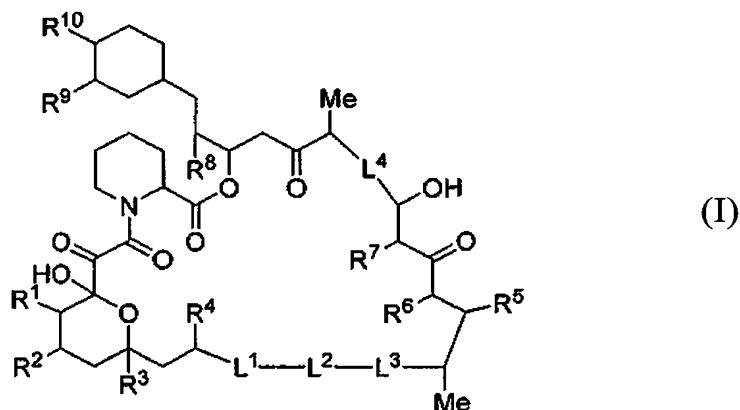
Fig. 16



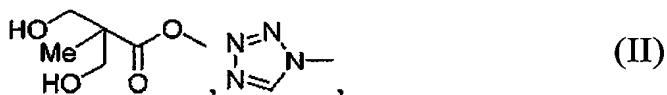
RESUMO

“COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, DISPOSITIVO PARA USO INTRACORPÓREO, COMPOSTO, E, MÉTODO PARA PREPARAR UM COMPOSTO”

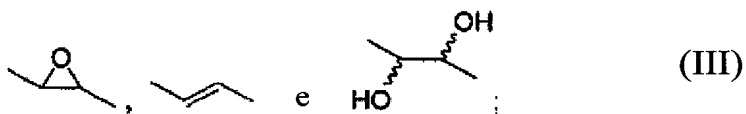
5 A presente invenção proporciona uma A presente invenção proporciona uma composição farmacêutica e um excipiente farmacêuticamente aceitável e um composto de fórmula (I)



na qual R^1, R^2, R^3, R^5, R^6 e R^8 são cada um independentemente um membro selecionado do grupo consistindo de H, C_{1-6} alquila e OH; R^4, R^7 e R^9 são cada um independentemente selecionados do grupo consistindo de C_{1-6} alcóxi e OH; R^{10} é um membro selecionado do grupo consistindo de H, -OH, -OP(O)Me₂, (II)

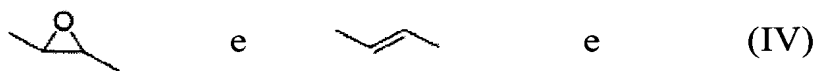


-O-C-(CH₂)_n-OH e -O-(CH₂)_m-O-(CH₂)_o-CH₃, sendo que os subscritos n e m são cada um independentemente de 2 a 8 e subscrito o é de 1 a 6; cada um de L¹ e L⁴ são independentemente selecionados do grupo consistindo de: (III)



cada um de L e L³ são independentemente selecionados do

cada um de L e L^3 são independentemente selecionados do grupo consistindo de: (IV)



sais, hidratos, isômeros, metabólitos e pró-drogas dos mesmos.