



(19) INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
PORTUGAL

(11) *Número de Publicação:* PT 551182 E

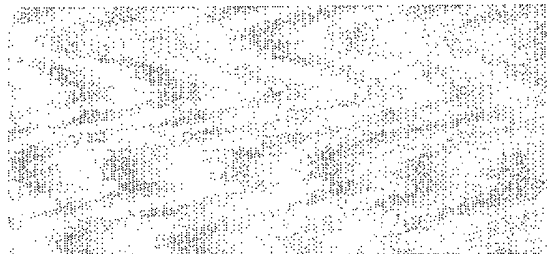
(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
A61K031/70 A

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) <i>Data de depósito:</i> 1993.01.06	(73) <i>Titular(es):</i> AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION FIVE GIRALDA FARMS MADISON, NJ 07940-0874 US
(30) <i>Prioridade:</i> 1992.01.09 US 819314	
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1993.07.14	(72) <i>Inventor(es):</i> RANDALL ELLIS MORRIS CLARE ROBERT GREGORY US US
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 2000.07.12	(74) <i>Mandatário(s):</i> JORGE BARBOSA PEREIRA DA CRUZ RUA DE VÍTOR CORDON 10-A 3/AND. 1200 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* MÉTODO PARA TRATAR A DOENÇA VASCULAR HIPERPROLIFERATIVA

(57) *Resumo:*





- 1 -

DESCRIÇÃO

"MÉTODO PARA TRATAR A DOENÇA VASCULAR HIPERPROLIFERATIVA"

BASES DA INVENÇÃO

Muitos indivíduos sofre de doença cardíaca causada por um bloqueio parcial dos vasos sanguíneos que fornecem nutrientes ao coração. Um bloqueio mais grave dos vasos sanguíneos nesses indivíduos conduz muitas vezes a hipertensão, lesão isquémica, afasia, ou enfarte do miocárdio. Tipicamente, a oclusão vascular é precedida pela estenose vascular resultante da hiperplasia intimal das células do músculo liso. A causa subjacente da hiperplasia das células intimaes do músculo liso é a lesão do músculo liso vascular e rotura da integridade do revestimento endotelial. O processo global da doença pode ser denominado como doença vascular hiperproliferativa devido à etiologia do processo da doença. O espessamento intimal após a lesão arterial pode ser dividido em três passos sequenciais: 1) início da proliferação do músculo liso após a lesão vascular, 2) migração das células do músculo liso para a íntima, e 3) proliferação adicional de células do músculo liso para a íntima com deposição de matriz. As investigações da patogénese do espessamento intimal demonstraram que, após a lesão arterial, as plaquetas, células endoteliaes, macrófagos e células do músculo liso libertam factores de crescimento autócrinos e parácrinos (tais como o factor de crescimento derivado das plaquetas, factor de crescimento epidérmico, factor de crescimento semelhante à insulina, e factor de crescimento transformador) e citoquinas, o que resulta na proliferação e migração de células do músculo liso. As células T e macrófagos também migram para a neoíntima.



[C. Haudenschild, *Lab. Invest.*, 1979, 41, 407; A. Clowes, *Circ. Res.*, 1985, 56, 139; A. Clowes, *J. Cardiovas. Pharm.*, 1989, 14 (Suplem. 6), S12; J. Manderson, *Arterio.*, 1989, 9, 289; J. Forrester, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1991, 17, 758]. Esta cascata de eventos não está limitada à lesão arterial, ocorrendo também após a lesão nas veias e arteríolas.

A lesão vascular que provoca o espessamento intimal pode ser de um modo geral categorizado como sendo induzido biologicamente ou mecanicamente. A aterosclerose é uma das formas com maior ocorrência de lesão vascular mediada biologicamente que conduz à estenose. A migração e proliferação do músculo liso vascular tem um papel crucial na patogênese da aterosclerose. As lesões ateroscleróticas incluem a acumulação abundante de "células espumosas" cheias de lípidos derivadas de monócitos/macrófagos e células de músculo liso. A formação de regiões de "células de espuma" está associada com uma quebra da integridade endotelial e destruição da lâmina basal. Despoletada por estes eventos, a restenose é produzida por uma proliferação rápida e selectiva de células do músculo liso vascular com um aumento da formação de nova lâmina basal (matriz extracelular) e resulta no eventual bloqueio das rotas arteriais. [P.F. Davies, *Artherosclerosis Lab. Invest.*, 1986, 55, 5].

As lesões mecânicas que conduzem ao espessamento intimal acontecem após angioplastia com balão, cirurgia vascular, cirurgia de transplantação, e outros processos invasivos similares que rompem a integridade vascular. O espessamento intimal após a lesão por cateter balão foi estudada em animais como um modelo para a restenose arterial que ocorre em pacientes humanos após a angioplastia com balão. Clowes, Ferns, Reidy e outros demonstraram que desendotelização com um cateter intra-arterial que dilate uma artéria provoca lesões nas camadas mais interiores do músculo liso medial e podem mesmo matar as células mais interiores. [S.M. Schwartz, *Human*

Pathology, 1987, 18, 240; J. Fingerle, *Arteriosclerosis*, 1990, 10, 1082]. A lesão é seguida pela proliferação das células mediais do músculo liso, após a qual muitas delas migram para a íntima através das aberturas na lâmina elástica interna e proliferam para formarem uma lesão neointimal.

A estenose vascular pode ser detectada e avaliada utilizando técnicas de imagem angiográfica ou sonográfica [R.G. Evans, *JAMA*, 1991, 265, 2382] e é muitas vezes tratada por angioplastia coronária percutânea transluminal (cateterização balão). No entanto, alguns meses após a angioplastia, o fluxo sanguíneo é reduzido em cerca de 30-40% desses pacientes como resultado da restenose provocada por uma resposta à lesão vascular mecânica sofrida durante o procedimento da angioplastia, como acima descrito [C. Pepine, *Circulation*, 1990, 81, 1753; R. Hardoff, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1990, 15, 1486].

Numa tentativa para prevenir a restenose ou reduzir a proliferação de células intimaes do músculo liso após uma angioplastia, têm sido utilizados clinicamente vários agentes farmacêuticos, concorrentes com ou após angioplastia. A maioria dos agentes farmacêuticos utilizados na tentativa de prevenir ou reduzir a extensão da restenose não têm sido bem sucedidos. A lista que se segue identifica vários dos agentes para os quais foram reportados resultados clínicos favoráveis: Iovastatina [R. Shni, *Circulation*, 1989, 80 (Supl.) 65; J. Gellman, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1991, 17, 251]; inibidores da síntese do tromboxano A₂ tais como DP-1904 [Y. Yabe, *Circulation*, 1989, 80 (Supl.) 260]; ácido eicosapentanoico [E. Nye, *Brit. J. Haematol.*, 1990, 76 (supl.) 20; H. Darius, *Eur. Heart J.*, 1991, 12 (Supl.) 26]; trapidil (um factor de crescimento derivado de plaquetas) [S. Okamoto, *Circulation*, 1990, 82 (supl.) 428]; inibidores da enzima conversora de angiotensina [N. Gottlieb, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1991, 17 (Supl. A) 181A]; e heparina de baixo peso molecular [C. de Yries, *Eur. Heart J.*, 1991, 12 (Supl.) 386].



Numa tentativa de desenvolver melhores agentes para prevenir ou reduzir a proliferação de músculo liso e espessamento intimal, foi desenvolvida em vários mamíferos a utilização da lesão arterial induzida por cateter balão como um modelo padrão de lesão vascular que conduziria ao espessamento intimal e estreitamento vascular [A. Chevru, *Surg. Gynecol. Obstet.*, **1990**, *171*, 443; J. Fishman, *Lab. Invest.*, **1975**, *32*, 339; C. Haudenschild, *Lab. Invest.*, **1979**, *41*, 407; A.W. Clowes, *Lab. Invest.*, **1983**, *49*, 208; A.W. Clowes, *J. Cardiovas. Pharm.*, **1989**, *14*, S12; e G.A. Ferns, *Science*, **1991**, *253*, 1129]. Foram avaliados muitos compostos com este modelo animal padrão. Foi avaliado o agente imunossupressor ciclosporina A, tendo produzido resultados incompatíveis. Jonasson reportou que a ciclosporina A provocou a inibição da lesão proliferativa intimal após a cateterização arterial com balão *in vivo*, mas não inibiu a proliferação de células do músculo liso *in vitro* [L. Jonasson, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1988**, *85*, 2303]. No entanto, Ferns reportou que quando se tratavam coelhos desendotelizados com ciclosporina A não se observou *in vivo* uma redução significativa da proliferação intimal. Adicionalmente, foram observadas acumulações intimais de macrófagos espumosos, em conjunto com várias células do músculo liso vacuoladas na região adjacente à lâmina elástica interna, indicando que a ciclosporina A pode modificar e estimular as lesões que se formam nos locais da lesão arterial [G.A. Ferns, *Circulation*, **1989**, *80* (Supl.) 184; G. Ferns, *Am. J. Path.*, **1990**, *137*, 403].

A rapamicina, um antibiótico trieno macrocíclico produzido pela *Streptomyces hygroscopicus* [Patente U.S. 3.929.992] demonstrou que previne a formação de anticorpos humorais [tipo IgE] em resposta a um desafio alérgico de albumina [R. Martel, *Can. J. Physiol. Pharm.*, **1977**, *55*, 48], inibe a activação de células T murinas [M. Staruch, *FASEB*, **1989**, *3*, 3411], prolonga o tempo de sobrevivência dos enxertos de órgãos em roedores compatíveis com históina [R. Morris, *Med. Sci. Res.*, **1989**, *17*, 877], e inibe a rejeição de transplantes em



mamíferos [R. Calne, *Pedido de Patente Europeia* 401.747]. A rapamicina bloqueia a divisão de células T e B dependente de cálcio, independente de cálcio, independente de citoquina e constitutiva no interface G1-S. A rapamicina inibe a produção do interferão gama induzido por Il-1 e também inibe a expressão induzida do interferão gama da membrana antigénica [R.E. Morris, *Transplantation Rev.*, 1992, 6, 39].

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

Esta invenção diz respeito ao uso da rapamicina na manufactura de um medicamento para uso na prevenção ou tratamento da doença vascular hiperproliferativa num mamífero no qual a doença hiperproliferativa seja causada ou vá ser causada por uma lesão vascular mediada mecanicamente. A administração pode ser por uma ou mais das seguintes rotas: oralmente, parenteralmente, intravascularmente, intranasalmente, intrabronquialmente, transdermicamente, rectamente, ou através de uma *stent* vascular impregnada com rapamicina.

Como tal, a rapamicina é útil para prevenir ou tratar a hiperplasia intimal das células intimais do músculo liso, restenose e oclusão vascular num mamífero, particularmente após uma lesão vascular mediada mecanicamente. As lesões vasculares mediadas mecanicamente incluem, mas não estão limitadas a lesão vascular provocada por procedimentos de cateterização ou procedimentos de raspagem vascular tais como angioplastia coronária percutânea transluminal; cirurgia vascular; cirurgia de transplantação; tratamento laser; e outros processos invasivos que quebram a integridade do endotélio ou íntima vascular.

A prevenção inclui a prevenção profiláctica da doença vascular hiperproliferativa, na qual a doença hiperproliferativa seja causada ou vá ser



causada por uma lesão vascular mediada mecanicamente, num mamífero susceptível e o tratamento incluir parar o desenvolvimento, e retardar a progressão da doença vascular hiperproliferativa, na qual a doença hiperproliferativa seja causada ou vá ser causada por uma lesão vascular mediada mecanicamente, num mamífero susceptível.

Esta invenção fornece também um método para usar uma combinação de rapamicina e ácido micofenólico para as mesmas utilidades acima descritas. O ácido micofenólico, um antimetabolito anti-proliferativo, inibe a desidrogenase ionosina monofofato e a sintetase guanosina monofosfato, enzimas da rota biossintética "de novo" de purinas. Tal pode resultar na inibição da síntese de ADN, provocando uma acumulação de células no interface G1-S. Outras combinações contendo rapamicina que sejam úteis para prevenir ou tratar a doença vascular hiperproliferativa tornar-se-ão óbvias para os especialistas na técnica. Estas incluem, mas não estão limitadas a, usar rapamicina em combinação com outros antimetabolitos anti-proliferativos.

Deste modo, esta invenção fornece um produto contendo rapamicina e um antimetabolito anti-proliferativo tal como ácido micofenólico como uma preparação combinada para uso simultâneo, separado ou sequencial na prevenção ou tratamento da doença vascular hiperproliferativa. Num aspecto adicional, esta invenção fornece uma composição farmacêutica compreendendo rapamicina, um antimetabolito anti-proliferativo tal como ácido micofenólico e um veículo farmacêuticamente aceitável.

O efeito da rapamicina na doença vascular hiperproliferativa através de um procedimento de teste farmacológico padrão *in vitro* e *in vivo* que emula os efeitos hiperproliferativos observados em mamíferos que sofrem de proliferação de músculo liso intimal, desenvolvendo deste modo restenose. A

ciclosporina A foi também avaliada nestes procedimentos de teste com o objectivo de comparação. A combinação da rapamicina e ácido micofenólico foi avaliada num procedimento de teste *in vivo*. Os procedimentos e resultados obtidos estão abaixo descritos.

A rapamicina e ciclosporina A foram avaliados num procedimento de teste farmacológico padrão *in vitro*, o qual emula a proliferação de células intimaes do músculo liso observado após lesão vascular. Os resultados foram obtidos por medida da síntese proteica e DNA em células do músculo liso de ratos que foram estimuladas com um factor de crescimento tal como soro fetal bovino ou um mitógeno hipertrófico, tal como angiotensina II. O que se segue descreve resumidamente o procedimento que foi utilizado. Foram mantidas células de músculo liso de rato numa mistura 1:1 de meio de Eagle definido (DEM) e meio de Ham F12 com soro fetal bovino 10%, penicilina (100 U/ml), estreptomicina (100 mg/ml) e 25 ml de Hapes a pH 7,4. As células foram incubadas a 37 °C numa atmosfera húmida de 5% CO₂ com mudança de meio todos os 2-3 dias. Cada composto testado foi diluído com um veículo apropriado para se obter uma solução de estoque 1 mM. Foi utilizado etanol como veículo para a rapamicina e 20% tween 80 em etanol como veículo para a ciclosporina A. As concentrações teste de fármaco foram obtidas por diluição apropriada das soluções de estoque com meio livre de soro. A cultura de células de músculo liso foi mantida num meio livre de soro definido contendo 1:1 DEM e meio de Ham F12, insulina (5×10^{-7} M), transferrina (5 µg/ml) e ascorbato (0,2 mM) durante 72 horas antes de testar num placa de multi-poços. Após o período de 72 horas, foi adicionada uma quantidade apropriada de solução stock contendo rapamicina ou ciclosporina A à cultura de células de músculo liso e meio de mistura. Após 24 horas foi adicionado o factor de crescimento adequado. Para a medição da síntese de ADN foi adicionado ³H-timidina 12 horas após o factor de crescimento ter sido adicionado, e as células foram recolhidas 26 horas depois. Para medir a



síntese de proteína, foi adicionado ^3H -leucina 14 horas após o factor de crescimento ter sido adicionado, e as células foram recolhidas 18 horas depois. A quantidade de marcador radioactivo incorporado foi medido num contador de cintilação.

A tabela seguinte mostra os resultados obtidos para rapamicina na síntese de DNA e de proteína nas células de músculo liso que foram estimuladas com 10% soro fetal bovino, medido por incorporação de timidina ou leucina tritiada nas células de músculo liso. A quantidade de marcador tritiado incorporado pelas células de músculo liso que foram tratadas apenas com meio foi normalizado a 100%, e os resultados para as células tratadas com soro fetal bovino ou soro fetal bovino mais composto teste são expressos como uma percentagem em comparação com as células tratadas apenas com meio.

EFEITO DA RAPAMICINA NA SÍNTESE DE ADN E PROTEÍNA EM
CÉLULAS LISAS ESTIMULADAS COM SORO FETAL BOVINO*

	Incorporação de ^3H - timidina (% do Meio)	Incorporação de ^3H - leucina (% do Meio)
Meio	100%	100%
FCS	495%	174%
1000 nM RAP + FCS	136%	95%
100 nM RAP + FCS	172%	91%
10 nM RAP + FCS	204%	74%
1 nM RAP + FCS	403%	106%

* Abreviaturas: RAP = rapamicina; Meio = meio livre de soro definido; e FCS = 10% soro fetal bovino

A tabela que se segue mostra os resultados obtidos para a



rapamicina na síntese de proteína em células de músculo liso que foram estimuladas com angiotensina II 10^{-6} nM, medido por incorporação de leucina tritiada nas células de músculo liso. A quantidade de marcador tritiado incorporado pelas células de músculo liso que foram tratadas apenas com meio foi normalizada a 100%, e os resultados para as células tratadas com angiotensina ou angiotensina mais composto teste são expressos como um percentagem em comparação com as células tratadas apenas com meio.

EFEITO DA RAPAMICINA NA SÍNTESE DE PROTEÍNA EM CÉLULAS LISAS ESTIMULADAS COM ANGIOTENSINA II*

	Incorporação de ^3H - leucina (% do Meio)
Meio	100%
ANG	159%
1000 nM RAP + ANG	53%
100 nM RAP + ANG	57%
10 nM RAP + ANG	61%
1 nM RAP + ANG	60%

* Abreviaturas: RAP = rapamicina; Meio = meio livre de soro definido; e ANG = angiotensina II 10^{-6} nM.

Os resultados do procedimento de teste *in vitro* padrão mostrou que a rapamicina tem um acentuado efeito anti-proliferativo na presença de FCS e um efeito anti-hipertrófico na presença de angiotensina II. Após a lesão vascular, é necessária a síntese de ADN e proteína das células do músculo liso para ocorrer o desenvolvimento da restenose. Estes resultados mostram que a rapamicina inibe a síntese de ADN e proteína em células de músculo liso estimuladas. Foi também observado um efeito anti-proliferativo com ciclosporina A; no entanto, a 1000



nM, a ciclosporina A revelou-se citotóxica e não meramente citostática. A 100 nM, a ciclosporina A causou a lise das células do músculo liso como é evidenciado pela presença de desidrogenase de ácido láctico no sobrenadante da cultura de células. Não foi observada toxicidade similar nas células do músculo liso para a rapamicina.

A rapamicina, rapamicina mais ácido micofenólico e ciclosporina A foram avaliados num procedimento de teste farmacológico padrão *in vivo* que emula a lesão vascular sofrida e a restenose que se desenvolve após a angioplastia coronária percutânea transluminal em humanos. A capacidade de um composto teste para inibir a restenose foi determinada por comparação do espessamento intimal em mamíferos tratados co composto teste após cateterização com balão versus o espessamento intimal em mamíferos de controlo não tratados após o mesmo procedimento de teste [A. Chevru, *Surg. Gynecol. Obstet.*, **1990**, *171*, 443; J. Fishman, *J. Lab. Invest.*, **1975**, *32*, 339; C. Haudenschild, *Lab. Invest.*, **1979**, *41*, 407; A.W. Clowes, *Lab. Invest.*, **1983**, *49*, 208; A.W. Clowes, *J. Cardiovas. Pharm.*, **1989**, *14*, S12; e G.A. Ferns, *Science*, **1991**, *253*, 1129]. O que se segue descreve resumidamente o procedimento que foi utilizado. As artérias da carótida esquerda de ratos Sprague-Dawley macho foram feridas com um cateter de balão inflado 2Fr. Durante um período pós-operatório de 14 dias, estes ratos foram divididos em grupos e tratados diariamente com rapamicina (1,5 mg/kg; i.p.), rapamicina mais ácido micofenólico (1,5 mg/kg; i.p. + 40 mg/kg; p.o.), ou ciclosporina A (3 mg/kg; i.p.). Adicionalmente, um grupo recebeu também rapamicina (6 mg/kg/dia; i.p.) ou ciclosporina A (40 mg/kg/dia; i.p.) durante dois dias pós-operatórios, não recebendo então qualquer tratamento durante os 12 dias seguintes. Um grupo não tratado foi usado como controlo para determinar a quantidade de crescimento intimal na ausência de tratamento. A carótida direita foi usada como controlo sem lesões em todos os grupos. Após o período de 14 dias, os ratos foram sacrificados e as carótidas removidas. As áreas



médias da íntima e parede do vaso sanguíneo foram medidas por morfometria. Os resultados são expressos como uma percentagem de íntima, a qual pode ser representada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\frac{\text{área de íntima} \times 100}{\text{área de vaso}}$$

A tabela seguinte apresenta os resultados obtidos.

EFEITO DA RAPAMICINA NO ESPESSAMENTO DA ÍNTIMA EM ARTÉRIAS CARÓTIDAS LESIONADAS *

Grupo de Teste	Percentagem de íntima (± D.P.)
Controlo não lesionado	0,00 ± 0,00
Controlo lesionado não tratado	33,3 ± 19,66
RAP (1,5 mg/kg - 14 dias)	6,78 ± 4,69
RAP (6 mg/kg - 2 dias)	16,56 ± 6,22
RAP+MPA (14 dias)	1,6 ± 3,5
CsA (3 mg/kg - 14 dias)	26,46 ± 27,42
CsA (40 mg/kg - 2 dias)	31,14 ± 20,66

* Abreviaturas: RAP = rapamicina; MPA = ácido micofenólico; e CsA = ciclosporina A.

Estes resultados mostram que o tratamento com rapamicina (1,5 mg/kg durante 14 dias) resultou numa diminuição em 80% da percentagem média de espessamento da íntima comprando com o grupo de controlo lesionado não tratado. Similarmente, o tratamento com a combinação de rapamicina e ácido micofenólico produziu a quase completa inibição do espessamento intimal (95% redução no espessamento intimal comparado com o grupo de controlo lesionado

não tratado). A ciclosporina A não conseguiu produzir qualquer redução significativa no espessamento intimal.

Os resultados dos procedimentos de teste padrão *in vivo* e *in vitro* demonstram que a rapamicina e a rapamicina em combinação com ácido micofenólico são úteis na prevenção ou tratamento da doença vascular hiperproliferativa. Especificamente, a rapamicina é útil na prevenção ou tratamento da hiperplasia intimal das células do músculo liso, restenose, e oclusão vascular em mamíferos, particularmente após lesão vascular mediada biologicamente ou mecanicamente, ou sob condições que iriam predispor um mamífero a sofrer de tal lesão vascular.

A rapamicina foi também avaliada numa modificação do procedimento de teste *in vivo* acima descrito. No procedimento de teste modificado, o tratamento com rapamicina foi interrompido no dia 14, como acima, mas os animais não foram sacrificados de imediato. O espessamento intimal foi observado quando os animais foram sacrificados 1, 2 ou 4 semanas após o tratamento ter sido interrompido. A análise microscópica mostrou que a regeneração do endotélio não tinha ocorrido durante as duas semanas do período de tratamento. Após a cessação do tratamento com rapamicina, a proliferação intimal, que tinha sido previamente suprimida, foi capaz de ocorrer. Estes resultados são consistentes com os resultados apresentados na tabela anterior, na qual o tratamento durante 2 dias com rapamicina seguido por 12 dias sem tratamento inibiu o espessamento intimal num grau inferior que o tratamento com rapamicina durante 14 dias. Estes resultados são expectáveis, uma vez que na ausência de uma camada endotelial integral as células intimaes do músculo liso irão proliferar. Foi demonstrado que o desenvolvimento das células intimaes do músculo liso não tem um efeito inibitório na regeneração endotelial normal, e que a proliferação de células intimaes do músculo liso cessa quando a camada



endotelial é estabelecida [M. Reidy, *Lab. Invest.*, 1988, 59, 36; A. Chevru, *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1990, 171, 443; J. Fishman, *Lab. Invest.*, 1975, 32, 339; C. Haudenschild, *Lab. Invest.*, 1979, 41, 407]. Como tal, o tratamento com rapamicina ou rapamicina em combinação com ácido micofenólico deverá ser efectuado até a cicatrização endotelial ter ocorrido.

Quando se utiliza a rapamicina sozinha ou em combinação com ácido micofenólico na prevenção ou tratamento da doença vascular hiperproliferativa, pode ser formulada pura ou com um veículo farmacêutico a um mamífero com essa necessidade. O veículo farmacêutico pode ser sólido ou líquido.

Um veículo sólido pode incluir uma ou mais substâncias que podem também actuar como agentes aromatizantes, lubrificantes, solubilizantes, agentes suspensores, enchimentos, deslizantes, auxiliares de compressão, ligantes ou agentes desagregantes de comprimidos; pode também ser um material encapsulante. Em pós, o veículo é um sólido finamente dividido que se encontra numa mistura com ingrediente activo finamente dividido. Em comprimidos, o ingrediente activo é misturado com um veículo com as propriedades de compressão necessárias, numa proporção adequada e compactado na forma e tamanho desejado. Os pós e comprimidos contêm preferivelmente até 99% de ingrediente activo. Veículos sólidos adequados incluem, por exemplo, fosfato de cálcio, estearato de magnésio, talco, açúcares, lactose, dextrina, amido, gelatina, celulose, metil celulose, carboximetilcelulose sódica, polivinilpirrolidina, ceras de baixo ponto de fusão e resinas de permuta iónica.

Os veículos líquidos são utilizados na preparação de soluções, suspensões, emulsões, xaropes, elixires, e composições pressurizadas. O ingrediente activo pode ser dissolvido ou suspenso num veículo líquido

farmaceuticamente aceitável tal como água, um solvente orgânico, uma mistura de ambos ou gorduras ou óleos farmaceuticamente aceitáveis. O veículo líquido pode conter outros aditivos farmaceuticamente adequados tais como solubilizantes, emulsionantes, tampões, conservantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes suspensores, agentes espessantes, corantes, reguladores de viscosidade, estabilizantes ou osmo-reguladores. Exemplos de veículos líquidos adequados para administração oral e parenteral incluem água (contendo parcialmente aditivos como acima, *e.g.*, derivados de celulose, preferivelmente solução de carboximetilcelulose sódica), álcoois (incluindo álcoois mono-hídricos e álcoois poli-hídricos, *e.g.* glicóis) e seus derivados, e óleos (*e.g.*, óleo de coco fraccionado e óleo de amendoim). Para administração parenteral, o veículo podem também ser um éster oleoso tal como oleato de etilo e miristato de isopropilo. Veículos líquidos estéreis são úteis em composições na forma de líquidos estéreis para administração parenteral. O veículo líquido para composições pressurizadas pode ser um hidrocarboneto halogenado ou outro propulsor farmaceuticamente aceitável.

As composições farmacêuticas líquidas que são soluções ou suspensões estéreis podem ser utilizadas por injeção, por exemplo, intramuscular, intraperitoneal ou subcutânea. As soluções estéreis podem também ser administradas intravenosamente. O composto pode também ser administrado oralmente na forma de composição sólida ou líquida.

A rapamicina, sozinha ou em combinação com ácido micofenólico, pode ser administrada rectalmente na forma de um supositório convencional. Para administração por insuflação ou inalação intranasal ou intrabronquial, os compostos desta invenção podem ser formulados numa solução aquosa ou parcialmente aquosa, a qual pode então ser utilizada na forma de um aerossol. A rapamicina, sozinha ou em combinação com ácido micofenólico, pode também



ser administrada transdermicamente pelo uso de um emplastro transdérmico contendo o composto activo e um veículo que seja inerte para o composto activo, e não tóxico para a pele, e permita a entrega do agente para absorção sistémica na corrente sanguínea através da pele. O veículo pode ter inúmeras formas tais como cremes, pomadas, pastas, géis, e dispositivos oclusivos. Os cremes e pomadas podem ser um líquido viscoso ou emulsões semi-sólidas do tipo óleo-em-água ou água-em-óleo. Podem também ser adequadas pastas compreendidas por pós absorventes dispersos em petróleo ou petróleo hidrofilico contendo o ingrediente activo. Podem ser usados vários dispositivos oclusivos para libertar o ingrediente activo na corrente sanguínea tal como uma membrana semi-permeável que cobre um reservatório contendo o ingrediente activo com ou sem um veículo, ou uma matriz contendo o ingrediente activo. São conhecidos outros dispositivos oclusivos na literatura.

A rapamicina, sozinha ou em combinação com ácido micofenólico, pode ser administrada intravascularmente ou através de um *stent* vascular impregnada com rapamicina, sozinha ou em combinação com ácido micofenólico, durante a cateterização balão para se conseguirem efeitos localizados imediatamente após a lesão.

A rapamicina, sozinha ou em combinação com ácido micofenólico, pode ser administrada topicamente como uma solução, creme, ou loção por formulação com veículos farmacêuticamente aceitáveis contendo 0,1 - 5%, preferivelmente 2% de composto activo.

As necessidades de dosagem variam com a composição específica utilizada, a via de administração, a gravidade dos sintomas apresentados e o sujeito específico a ser tratado. Baseado nos resultados obtidos nos procedimentos de teste farmacológicos padrão, as dosagens diárias projectadas de

rapamicina, quando administrada como o único composto activo, seriam de 0,001 - 25 mg/kg, preferivelmente entre 0,005 - 5 mg/kg, e mais preferivelmente entre 0,01 - 0,5 mg/kg. As dosagens diárias orais projectadas de rapamicina, quando administrada como o único composto activo ou em combinação com ácido micofenólico, seriam de 0,005 - 50 mg/kg, preferivelmente entre 0,01 - 25 mg/kg, e mais preferivelmente entre 0,05 - 10 mg/kg. As dosagens diárias orais projectadas de ácido micofenólico, quando usado em combinação com rapamicina, seriam de 1-75 mg/kg e preferivelmente entre 10-50 mg/kg.

O tratamento irá geralmente ser iniciado com pequenas dosagens, menores do que a dose óptima do composto. De seguida, a dosagem é aumentada até o efeito óptimo sob essas circunstâncias ser alcançado; as dosagens precisas para administração oral, parenteral, intravascular, intranasal, intrabronquial, transdérmica ou rectal será determinada pelo médico assistente, baseado na experiência com o sujeito individual a ser tratado. Em geral, a rapamicina é o mais desejavelmente administrada numa concentração que originará geralmente resultados efectivos sem provocar quaisquer efeitos secundários prejudiciais ou deletérios, e pode ser administrada numa única dose unitária, ou se desejado, a dosagem pode ser dividida em subunidades convenientes administradas em períodos adequados ao longo do dia.

Lisboa, 21 de Setembro de 2000



JORGE CRUZ
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

1. O uso de rapamicina na preparação de um medicamento para uso na prevenção ou tratamento da doença vascular hiperproliferativa num mamífero, na qual a doença hiperproliferativa é causada ou irá ser causada por um lesão vascular mediada mecanicamente.

2. O uso, conforme reivindicado na reivindicação 1, no qual o medicamento é adaptado para administração oral, parenteral, intravascular, intranasal, intrabronquial, transdérmica, rectal ou através de um *stent* vascular impregnada com rapamicina.

3. O uso, conforme reivindicado na reivindicação 1 ou reivindicação 2, no qual o medicamento compreende ácido micofenólico para administração simultânea, separada ou sequencial.

4. O uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, em que a doença vascular hiperproliferativa é escolhida a partir de hiperplasia intimal das células do músculo liso, restenose e oclusão vascular.

5. O uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, em que a doença vascular hiperproliferativa é restenose.

6. O uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, em que a rapamicina é para ser administrada concorrentemente com e/ou subsequentemente ao referido mamífero envolvido num procedimento de angioplastia coronária percutânea transluminal.

7. O uso, de acordo com a reivindicação 4, em que a lesão vascular mediada mecanicamente é escolhida a partir de cateterização vascular, raspagem vascular, angioplastia coronária percutânea transluminal, cirurgia vascular e tratamento laser.

8. O produto contendo rapamicina e ácido micofenólico como uma preparação combinada para uso simultâneo, separado ou sequencial na prevenção ou tratamento da doença vascular hiperproliferativa.

9. Um produto de acordo com a reivindicação 8, em que a doença vascular hiperproliferativa é escolhida a partir de hiperplasia intimal das células do músculo liso, restenose e oclusão vascular.

10. Um produto de acordo com a reivindicação 8 ou reivindicação 9, em que a doença vascular hiperproliferativa é restenose.

11. Um produto de acordo com a reivindicação 9, em que a doença vascular hiperproliferativa é causada ou irá ser causada por uma lesão vascular mediada mecanicamente, escolhida a partir de cateterização vascular, raspagem vascular, angioplastia coronária percutânea transluminal, cirurgia vascular e tratamento laser.

12. Uma composição farmacêutica compreendendo rapamicina, ácido micofenólico e um veículo farmacêuticamente aceitável.

Lisboa, 21 de Setembro de 2000



JORGE CRUZ
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA