

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 485 841**

51 Int. Cl.:

**C07D 491/06** (2006.01)

**A61K 31/395** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 31/675** (2006.01)

**C07F 9/6561** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.02.2003 E 03735110 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.04.2014 EP 1478648**

54 Título: **Compuestos que contienen fósforo y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**01.02.2002 US 353252 P**

**15.11.2002 US 426928 P**

**22.11.2002 US 428383 P**

**17.12.2002 US 433930 P**

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

**14.08.2014**

73 Titular/es:

**ARIAD PHARMACEUTICALS, INC (100.0%)**

**26 LANDSDOWNE STREET**

**CAMBRIDGE, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**BERSTEIN, DAVID, L.;**

**METCALF, CHESTER, A., III;**

**ROZAMUS, LEONARD, W. y**

**WANG, YIHAN**

74 Agente/Representante:

**PÉREZ BARQUÍN, Eliana**

**ES 2 485 841 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Compuestos que contienen fósforo y usos de los mismos

5 **Antecedentes de la invención**

10 La rapamicina es un antibiótico macrólido producido por *Streptomyces hygroscopicus*. Se une a una proteína de unión a FK506, FKBP12, con alta afinidad para formar un complejo rapamicina:FKBP. Los valores de Kd notificados para esa interacción son de tan sólo 200 pM. El complejo rapamicina:FKBP se une con alta afinidad a la gran proteína celular, FRAP, para formar un complejo tripartito, [FKBP:rapamicina]:[FRAP]. En ese complejo, la rapamicina puede considerarse como un dimerizador o adaptador para unir FKBP a FRAP. La formación del complejo está asociada con diversas actividades biológicas de la rapamicina.

15 La rapamicina es un potente agente inmunosupresor y se usa clínicamente para prevenir el rechazo de órganos trasplantados. La rapamicina y/o sus análogos, CCI 779 (Wyeth) y SDZ Rad ("RAD001", Novartis) son agentes prometedores para tratar determinados cánceres, para la inmunosupresión y/o para ayudar a disminuir la incidencia de reestenosis tras cardiología intervencionista. También se ha demostrado que la rapamicina tiene actividad como agente antifúngico, en el modelo experimental de encefalomielitis alérgica (un modelo para la esclerosis múltiple), en el modelo de artritis inducida por adyuvante (para artritis reumatoide), en la inhibición de la formación de anticuerpos de tipo IgE, y para tratar o prevenir lupus eritematoso, inflamación pulmonar, diabetes mellitus insulino dependiente, linfoma/leucemia de células T del adulto y proliferación de células del músculo liso y engrosamiento de la íntima tras lesión vascular. Véase, por ejemplo, la solicitud de patente de EE.UU. publicada 2001/0010920.

25 Debido a que sirve como adaptador para complejar FKBP con FRAP, la rapamicina también puede multimerizar proteínas quiméricas diseñadas de manera apropiada que incorporan dominios derivados de FKBP y FRAP, respectivamente. Debido a esa actividad, la rapamicina y diversos derivados o análogos de la misma se han usado como agentes de multimerización para activar cambios biológicos basándose en tales proteínas quiméricas. Véanse por ejemplo, los documentos WO 96/41865; WO 99/36553; WO 01/14387; Rivera *et al*, Proc Natl Acad Sci USA 96, 8657-8662; y Ye, X. *et al* (1999) Science 283, 88-91.

30 El potencial de la rapamicina para proporcionar alivio a una franja tan importante de enfermedades crueles ha estimulado la búsqueda de análogos de rapamicina con índice terapéutico, farmacocinética, capacidad de formulación, facilidad o economía de producción, etc. mejorados. La investigación resultante de la industria farmacéutica y los investigadores académicos ha sido una investigación sostenida a lo largo de las últimas décadas. Esto ha conducido a la exploración de materiales y métodos para efectuar transformaciones químicas de rapamicina, incluyendo reducciones de cetonas, desmetilaciones, epimerizaciones, diversas acilaciones y alquilaciones de hidroxilos, etc.

40 Se han notificado ahora un gran número de variantes estructurales de rapamicina, que surgen normalmente como productos de fermentación alternativos y/o de esfuerzos de síntesis. Por ejemplo, la extensa bibliografía sobre análogos, homólogos, derivados y otros compuestos relacionados estructuralmente con rapamicina ("rapálogos") incluyen, entre otros, variantes de rapamicina que tienen una o más de las siguientes modificaciones con relación a rapamicina: desmetilación, eliminación o reemplazo del metoxilo en C7, C42 y/o C29; eliminación, derivatización o reemplazo del hidroxilo en C13, C43 y/o C28; reducción, eliminación o derivatización de la cetona en C14, C24 y/o C30; reemplazo del anillo de pipecolato de 6 miembros por un anillo de prolilo de 5 miembros; y sustitución alternativa en el anillo de ciclohexilo o sustitución del anillo de ciclohexilo con un anillo de ciclopentilo sustituido. Se presenta información histórica adicional en las secciones de antecedentes de las patentes de EE.UU. n.ºs 5.525.610, 5.310.903 y 5.362.718. Véase también la patente de EE.UU. n.º 5.527.907. Incluso se han desarrollado materiales y métodos para la epimerización notablemente eficaz y selectiva del grupo hidroxilo en C-28 (documento WO 50 01/14387).

El documento US 5391730 da a conocer fosforilcarbamatos de rapamicina y derivados de oxima de los mismos.

55 Serían deseables nuevos rapálogos con actividad inmunosupresora reducida y/o perfiles farmacocinéticos o de biodisponibilidad interesantes para su uso como agentes de multimerización o agentes antifúngicos.

60 También serían de interés nuevos rapálogos con características fisicoquímicas o funcionales atractivas con relación a rapamicina, por ejemplo, en índice terapéutico, biodisponibilidad, farmacocinética, estabilidad, etc., para una variedad de usos farmacéuticos tal como los mencionados anteriormente, incluyendo entre otros su uso como inmunosupresores, como agentes anticáncerígenos y en la reducción de la incidencia de reestenosis tras cardiología intervencionista (por ejemplo, en endoprótesis que portan fármacos).

65 Los únicos rapálogos que se cree que están en desarrollo clínico como inmunosupresores en la actualidad son aquéllos con modificaciones estructurales convencionales, bastante modestas, es decir, acilación o alquilación en C-43 (CCI 779 y SDZ RAD, respectivamente; véanse por ejemplo, Yu, K. *et al.*, Endocrine-Related Cancer (2001) 8, 249-258; Georger, B. *et al.*, Cancer Res. (2001) 61, 1527-1532) y Dancey, Hematol Oncol Clin N Am 16

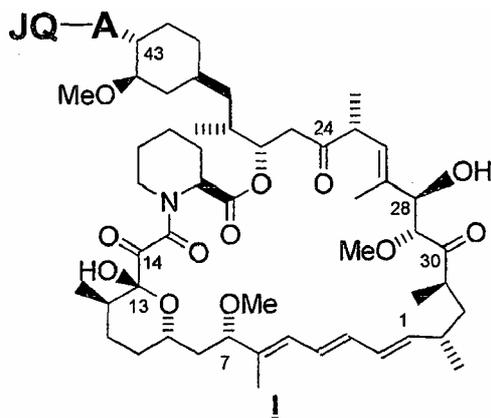
(2002):1101 - 1114.

La invención descrita a continuación representa una desviación bastante drástica en el diseño de nuevos rapálogos basándose en la incorporación de un resto que contiene fósforo.

5

**Sumario de la invención**

Los compuestos de esta invención incluyen una nueva familia de compuestos de fórmula (I):



10

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. También se proporcionan composiciones que contienen tales compuestos y usos de los mismos.

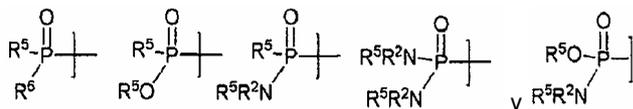
15 En los compuestos de esta invención,

A es -O-, -S- o -NR<sup>2</sup>-, o está ausente (es decir, es un enlace covalente que une J- al carbono 43);

Q está ausente (es decir, es un enlace covalente que une J a A o al carbono 43)

20

J se selecciona de



25 cada aparición de R<sup>2</sup> y R<sup>5</sup> se elige de manera independiente de etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, 2-butilo, fenilo o heteroarilo, portando opcionalmente cada uno de ellos uno o más sustituyentes halo, -OH, alcoxilo, alcoxialcoxi-, haloalquil-, hidroxialcoxi-, heterocíclico, arilo o heteroarilo, y además, -OR<sup>5</sup> y -NR<sup>2</sup>R<sup>5</sup> pueden ser -OH y -NHR<sup>5</sup>; y con un peso molecular inferior a 1700 unidades de masa (excluyendo la contribución de un contraión cuando el compuesto está en forma de sal).

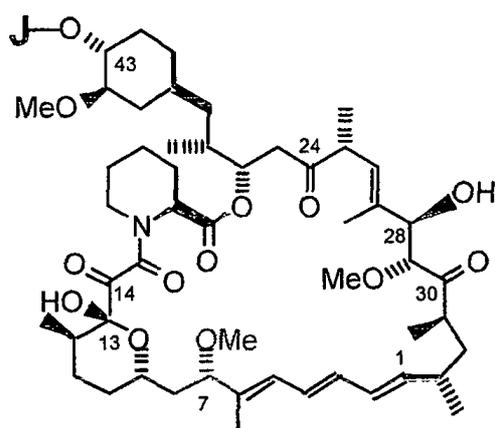
30

También son de especial interés actual las realizaciones en las que -A- es O.

Esta nueva familia de compuestos incluye varias clases de compuestos de particular interés.

35 Obsérvese que todos los restos R<sup>2</sup>, R<sup>5</sup> y J dados a conocer o ejemplificados en el presente documento en relación con un compuesto, subclase o clase de compuestos dados son igualmente aplicables en otros casos a menos que se especifique lo contrario. Por tanto, la divulgación de un resto R<sup>2</sup>, R<sup>5</sup> o J en un caso pretende extrapolarse a todos los casos excepto que se indique lo contrario.

40 Ejemplos particulares de compuestos de la invención incluyen lo siguiente:



en la que J se selecciona de:

- 5 -P(O)Me<sub>2</sub>, -P(O)-Ph<sub>2</sub>, -P(O)(OMe)(Me), -P(O)(OnPr)(Me),  
 -P(O)(OiPr)(Me), -P(O)(OnBu)(Me), -P(O)(Me)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe),  
 -P(O)(Me)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OEt), -P(O)(Me)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH),  
 10 -P(O)(OMe)(Et), -P(O)(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, -P(O)(OEt)<sub>2</sub> y -P(O)(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

En una realización, se proporcionan compuestos de esta invención en los que J es distinto de -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, una sal del mismo, o un fosfato de dialquilo (tal como -PO<sub>3</sub>Me<sub>2</sub>, por ejemplo).

- 15 Los compuestos de la invención tienen un peso molecular inferior a 1700, preferiblemente inferior a 1400, y más preferiblemente inferior a 1200 unidades de masa (sin contar la contribución de un contraión en los casos en los que el compuesto está en forma de sal).

- 20 En los compuestos de la presente invención, cada aparición de R<sup>2</sup> y R<sup>5</sup> se elige de manera independiente de etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, 2-butilo, t-butilo, fenilo o heteroarilo, portando opcionalmente cada uno de ellos uno o más sustituyentes halo, -OH, alcoxi-, alcoxialcoxi-, haloalquil-, hidroxialcoxi-, acil-, aciloxi-, heterocíclico, arilo o heteroarilo, y además, -OR<sup>5</sup> y -NR<sup>2</sup>R<sup>5</sup> pueden ser -OH y -NHR<sup>5</sup>.

- 25 Algunos otros aspectos de la invención incluyen:

- 30 - Una composición que comprende un compuesto de la invención, incluyendo cualquiera de los diversos tipos de compuestos indicados anteriormente, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable y que contiene opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición puede ser una que sea adecuada para la administración oral o parenteral a un sujeto, por ejemplo, un sujeto mamífero, incluyendo un paciente humano. Pueden prepararse composiciones usando materiales convencionales de manera que sean adecuadas para la administración por cualquiera de las vías de administración indicadas en este documento.

- 35 - El uso de los compuestos de esta invención para preparar composiciones útiles para los diversos usos médicos y otros indicados en el presente documento.

- Una composición según la invención para su uso en la supresión de la respuesta inmunitaria de un sujeto, por ejemplo, para su uso en el tratamiento o la supresión del rechazo de tejidos trasplantados en un receptor.

- 40 - Una composición según la invención para su uso en el tratamiento de enfermedad de injerto contra huésped, lupus, artritis reumatoide, diabetes mellitus, miastenia grave, esclerosis múltiple, psoriasis, dermatitis, eccema, seborrea, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación pulmonar, uveítis ocular; linfoma/leucemia de células T del adulto; infecciones fúngicas; reestenosis hiperproliferativa; aterosclerosis vascular por injerto; enfermedad vascular cerebral, arteriopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, arteriosclerosis, aterosclerosis, arteriosclerosis no ateromatosa o daño de la pared vascular debido a acontecimientos celulares que conducen a daño vascular mediado por el sistema inmunitario, ictus o demencia multiinfarto en un sujeto que lo necesita.

- 45 - Una composición según la invención para su uso en el tratamiento de arteriopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, arteriosclerosis, aterosclerosis, arteriosclerosis no ateromatosa, daño de la pared vascular debido a acontecimientos celulares que conducen a daño vascular mediado por el sistema inmunitario, ictus o demencia multiinfarto en un sujeto que lo necesita. La composición que contiene un compuesto de esta invención puede

administrarse, sola o en combinación con el tratamiento con uno o más de otros agentes terapéuticos tal como se indica en otra parte en el presente documento, incluyendo entre otros un inhibidor de la ACE (tal como quinapril, perindopril, ramipril, captopril, trandolapril, fosinopril, lisinopril, moexipril y enalapril); antagonista de los receptores de angiotensina II (tal como candesartán, irbesartán, losartán, valsartán y telmisartán); derivado del ácido fibrótico (tal como clofibrato y gemfibrozilo); inhibidor de la HMG Co-A reductasa (tal como cerivastatina, fluvastatina, atorvastatina, lovastatina, pravastatina o simvastatina); agente bloqueante beta-adrenérgico (tal como sotalol, timolol, esmolol, carteolol, propranolol, betaxolol, penbutolol, nadolol, acebutolol, atenolol, metoprolol y bisoprolol); bloqueante de los canales de calcio (tal como nifedipino, verapamilo, nicardipino, diltiazem, nimodipino, amlodipino, felodipino, nisoldipino y bepridil); antioxidante; anticoagulante (tal como warfarina, dalteparina, heparina, enoxaparina y danaparoides); o agente útil en terapia de sustitución hormonal que contiene estrógenos (tales como estrógenos conjugados, etinil-estradiol, 17-beta-estradiol, estradiol y estropipato). El agente o agentes adicionales, en este y otros casos en el presente documento, pueden proporcionarse antes o después o de manera concurrente con la administración de un compuesto de esta invención.

15 - Una composición según la invención para su uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita. Se indican diversos cánceres que pueden tratarse así en otra parte en el presente documento. Este tratamiento puede proporcionarse en combinación con uno o más de otras terapias contra el cáncer, tal como en combinación con la administración al sujeto de uno o más de un agente de intercalación o alquilación anticancerígeno; un agente antiestrógenos; un inhibidor de una cinasa (por ejemplo, Src, BCR/Abl, kdr, aurora-2, glucógeno sintasa cinasa 3 ("GSK-3")); un anticuerpo frente a un receptor o una hormona implicados en un cáncer (por ejemplo, EGFR, PDGFR, IGF-R e IL-2); o un receptor soluble u otro antagonista de receptor para tal receptor; un inhibidor del proteasoma u otro inhibidor de NF-kB; o radiación. Se indican ejemplos de otros agentes terapéuticos en otra parte en el presente documento e incluyen entre otros, Zylprim, alemtuzumab, altretamina, amifostina, nastrozol, anticuerpos contra antígeno de membrana prostático específico (tales como MLN-591, MLN591 RL y MLN2704), trióxido de arsénico, Avastin® (u otro anticuerpo anti-VEGF), bexaroteno, bleomicina, busulfano, capecitabina, carboplatino, olea Gliadel, celecoxib, clorambucilo, cisplatino, gel de cisplatino-epinefrina, cladribina, citarabina liposomal, daunorubicina liposomal, daunorubicina, daunomicina, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, solución Elliott's B, epirubicina, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, exemestano, fludarabina, 5-FU, fulvestrant, gemcitabina, gemtuzumab-ozogamicina, acetato de goserelina, hidroxurea, idarubicina, idarubicina, Idamycin, ifosfamida, mesilato de imatinib, irinotecán (u otro inhibidor de topoisomerasa, incluyendo anticuerpos tales como MLN576 (XR11576)), letrozol, leucovorina, leucovorina levamisol, daunorubicina liposomal, melfalán, L-PAM, mesna, metotrexato, metoxsalen, mitomicina C, mitoxantrona, MLN518 o MLN608 (u otros inhibidores de la tirosina cinasa receptora fli-3, PDGF-R o c-kit), itoxantrona, paclitaxel, pegademasa, pentostatina, porfímero sódico, rituximab (RITUXAN®), talco, tamoxifeno, temozolamida, tenipósido, VM-26, topotecán, toremifeno, trastuzumab (Herceptin® u otro anticuerpo anti-HER2), 2C4 (u otro anticuerpo que interfiere en la señalización mediada por HER2), tretinoína, ATRA, valrubicina, vinorelbina, o pamidronato, zoledronato u otro bisfosfonato.

40 - Una endoprótesis de elución de fármaco que comprende una endoprótesis vascular que contiene un compuesto de esta invención, disperso en una matriz o dispuesto en canales, depósitos u otras cámaras sobre o en dicha endoprótesis. Se indican diversos tipos de endoprótesis y medios y materiales para cargar tales endoprótesis con fármaco en otra parte en el presente documento y en las referencias citadas en el presente documento. También se indican diversas matrices, polímeros y otros materiales en el presente documento o en las referencias citadas. Las endoprótesis ilustrativas incluyen las siguientes endoprótesis: Angiomed (Bard), Cardiocoil (In-Stent Medtronic), CORINTHIAN (BSC), Radius (Scimed), Wallstent (Schneider), Act-one (ACT), Angiostent (AngioDynamics), be-Stent (In-Stent Medtronic), BiodivYsio (Biocompatibles), Cordis, Cross-flex (Cordis), Crown (JJIS), Freedom (Global therapeutics), Gianturco-Roubin II (Cook), Jo-med, Jostent flex (Jomed), Microstent GFX (AVE), Multilink (Guidant-ACS), NIR (Medinol), NIR Royal (Medinol), NIRflex (Medinol), NIRSIDE flex (Medinol), Palmaz-Scatz (JJIS), estS (De Scheerder), Tensum (Biotronic), Wiktor-GX (Medtronic), Wiktor-I (Medtronic), X-Trode (Bard), Y-Flex (Devon), Tsunami (Terumo), Bx Velocity (J&J), SLKView (Advanced Stent Technologies, Inc.) y la endoprótesis Duraflex (Avantec). Las endoprótesis pueden ser cualquiera de las anteriores, o pueden ser otro ejemplo de cualquiera de los tipos de endoprótesis indicados en el presente documento y en las referencias citadas, y pueden contener otros materiales (por ejemplo, polímeros que pueden ser degradables o erosionables o no) tal como se indica en otra parte.

55 - Composiciones que contienen un compuesto de la invención y un diluyente adecuado para aplicar el compuesto a una endoprótesis se describen en el presente documento.

Esta invención proporciona una familia de nuevos rapálogos, de los que se dan a conocer en el presente documento muchos tipos ilustrativos y ejemplos específicos.

60 También se incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos anteriores.

Pueden proporcionarse compuestos de esta invención en forma sustancialmente pura (con relación a productos secundarios, reactantes residuales u otros materiales no deseados), por ejemplo, puros en al menos el 50%, de manera adecuada puros en al menos el 60%, ventajosamente puros en al menos el 75%, preferiblemente puros en al menos el 85%, más preferiblemente puros en al menos el 95%, especialmente puros en al menos el 98%,

calculándose todos los porcentajes en una base de peso/peso. Una forma impura o menos pura de un compuesto de la invención puede ser útil en la preparación de una forma más pura del mismo compuesto o de un compuesto relacionado (por ejemplo, un derivado correspondiente) adecuado para uso farmacéutico.

5 Los compuestos de esta invención pueden usarse para multimerizar proteínas quiméricas en células (*in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*, es decir en organismos que las albergan) para una variedad de fines importantes, tal como se describe en detalle para rapamicina y otros rapálogos en los documentos WO 96/41865, WO 99/36553 y WO 01/14387. Véanse también Rivera VM, Ye X, Courage NL, Sachar J, Cerasoli F, Wilson JM y Gilman M. (1999) Long-term regulated expression of growth hormone in mice following intramuscular gene transfer. Proc Natl Acad Sci U S A 96, 8657-8662; y Ye X, Rivera VM, Zoltick P, Cerasoli F Jr, Schnell MA, Gao G-p, Hughes JV, Gilman M, y Wilson JM (1999) Regulated delivery of therapeutic proteins after *in vivo* somatic cell gene transfer. Science 283, 88-91. Materiales y métodos que pueden adaptarse para estos fines se dan a conocer en el documento WO 01/14387 en las páginas 18 a 24, que se incorporan al presente documento como referencia. En la adaptación de la divulgación del documento WO 01/14387, por ejemplo, se sustituye un rapálogo de esta invención por los 28-epi-rapálogos a los que se hace referencia en ese documento.

Los compuestos de esta invención que tienen actividad antifúngica, son útiles para la profilaxis y el tratamiento de infecciones fúngicas en animales, especialmente mamíferos, incluyendo seres humanos, en particular seres humanos y animales domesticados (incluyendo animales de granja). Los compuestos pueden usarse, por ejemplo, en el tratamiento de infecciones fúngicas tópicas provocadas por, entre otros organismos, especies de *Candida* (por ejemplo, *C. albicans*), *Trichophyton* (por ejemplo, *Trichophyton mentagrophytes*), *Microsporium* (por ejemplo, *Microsporium gypseum*) o *Epidermophyton* o en infecciones de la mucosa provocadas por *Candida albicans* (por ejemplo, candidiasis oral y candidiasis vaginal). También pueden usarse en el tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas provocadas, por ejemplo, por *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides*, *Histoplasma* o *Blastomyces* spp. También pueden usarse en el tratamiento de micetoma eumicótico, cromoblastomicosis y fomicosis. Pueden encontrarse otras infecciones fúngicas para las que son aplicables los compuestos de esta invención y considerable información de antecedentes sobre ensayos para la evaluación comparativa de los compuestos, la formulación y administración de rapálogos para tratar la infección fúngica en Holt *et al*, patente de EE.UU. n.º 6.258.823 (concedida el 10 de julio de 2001) y las referencias citadas en la misma, cuyo contenido se incorpora al presente documento como referencia.

Se ha encontrado que determinados compuestos de esta invención inhiben la proliferación de células T con valores de CE50 observados que oscilan hasta niveles de potencia comparables a rapamicina. También se ha observado una potente actividad contra tumores humanos en un modelo de xenoinjerto de ratón atímico. Estos rapálogos pueden usarse como agentes inmunosupresores, antiproliferativos, antitumorales y antireestenóticos, así como para otros usos descritos en el presente documento o en la bibliografía para rapamicina y análogos tales como CCI 779 y SDZ RAD ("RAD 001") en la bibliografía científica y de patentes, de los que se citan ejemplos en el presente documento.

Más específicamente, determinados compuestos de esta invención tienen actividad inmunomoduladora, lo que significa que los compuestos pueden inducir inmunosupresión inhibiendo las respuestas inmunitarias celulares o la proliferación *in vitro* o *in vivo* y/o produciendo una disminución estadísticamente significativa en la respuesta inflamatoria tal como se determina mediante cualquier modelo celular, de tejido o animal científicamente aceptable. Tales compuestos pueden administrarse en un régimen de dosificación y una cantidad eficaces para el tratamiento para tratar, entre otros, estados tales como artritis reumatoide, osteoartritis, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, rechazo agudo de trasplante/injerto, miastenia grave, esclerosis sistémica progresiva, esclerosis tuberosa, mieloma múltiple, dermatitis atópica, hiperinmunoglobulina E, hepatitis crónica activa con antígeno de hepatitis B negativo, tiroiditis de Hashimoto, fiebre mediterránea familiar, enfermedad de Grave, anemia hemolítica autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria, enfermedad inflamatoria del intestino y diabetes mellitus insulino dependiente.

Los compuestos de esta invención también tienen actividad contra cánceres primarios y/o metastásicos. Deben ser útiles para reducir el tamaño tumoral, inhibir el crecimiento tumoral o la metástasis; tratar diversas leucemias y/o prolongar el tiempo de supervivencia de animales o pacientes con esas enfermedades.

Por consiguiente, la invención proporciona compuestos para su uso en terapia médica, en particular para su uso como agentes antifúngicos, anticancerígenos, inmunosupresores o antireestenóticos, o como agentes contra las demás enfermedades y estados dados a conocer en el presente documento.

La invención proporciona además un método de tratamiento de un animal humano o no humano que padece cualquiera de esas enfermedades o estados mediante la administración de una cantidad eficaz del rapálogo, y proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención junto con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable, así como dispositivos médicos, tales como endoprótesis que portan fármaco, que contienen un compuesto de esta invención.

Pueden formularse los compuestos de esta invención tal como se da a conocer a continuación y en otra parte en el presente documento (o usando formulaciones basadas en las notificadas para rapamicina o derivados de rapamicina

tales como CCI-779 o RAD001), y pueden administrarse entonces en cantidades eficaces para el tratamiento a pacientes que lo necesitan, para el tratamiento de una variedad de enfermedades tal como se indica en el presente documento. Tales composiciones pueden administrarse de cualquier manera útil en el direccionamiento de los compuestos activos al sitio de acción o torrente sanguíneo del receptor, incluyendo por vía oral, por vía parenteral (incluyendo inyecciones intravenosas, intraperitoneales y subcutáneas así como inyección en articulaciones u otros tejidos), mediante endoprótesis u otros implantes, por vía rectal, por vía intranasal, por vía vaginal y por vía transdérmica. Para los fines de esta divulgación, se entiende que las administraciones transdérmicas incluyen todas las administraciones a través de la superficie del cuerpo y los revestimientos internos de pasos corporales incluyendo tejidos epiteliales y mucosos. Tal administración puede llevarse a cabo usando los presentes compuestos, o sales farmacéuticamente aceptables o profármacos de los mismos, en lociones, cremas, espumas, parches, suspensiones, disoluciones y supositorios (rectales y vaginales).

Para la administración parenteral o intraperitoneal, pueden prepararse disoluciones o suspensiones de estos compuestos activos o una sal farmacológicamente aceptable de los mismos en agua mezclada de manera adecuada con un tensoactivo tal como hidroxipropilcelulosa o mediante la adaptación de formulaciones usadas para rapamicina, CCI779 o RAD001. También pueden prepararse dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos en aceites. En condiciones habituales de almacenamiento y uso, estas preparaciones pueden contener un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos.

Las composiciones que contienen un compuesto de esta invención y que son adecuadas para uso inyectable incluyen disoluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la composición que va a inyectarse debe ser estéril y debe ser lo suficientemente fluida como para permitir la transferencia mediante una jeringa. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y estará protegida preferiblemente frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales. Se dan a conocer formulaciones parenterales que pueden adaptarse para su uso con rapálogos de esta invención en las patentes de EE.UU. n.ºs 5.530.006; 5.516.770; y 5.616.588, que se incorporan al presente documento como referencia.

Pueden seleccionarse la formulación, las vías de administración y la dosificación de, o basarse en, las usadas para rapamicina y otros derivados de rapamicina usadas para indicaciones iguales o análogas. En el caso de tratamiento de tumores, puede preferirse determinar en primer lugar si la función de PTEN (o procesos mediados por PTEN) es parcial o totalmente deficiente en el tumor de un paciente, y entonces tratar selectivamente los pacientes con tumores deficientes en PTEN (véase por ejemplo, Neshat *et al*, PNAS, anteriormente). Más generalmente, un enfoque preferido puede ser determinar a través del análisis del genotipo y/o cultivo *in vitro* y estudio de muestras de tumor biopsiado, aquellos pacientes con tumores en los que la ruta de señalización de fosfatidil-inositol 3 cinasa/Akt-mTOR es particularmente importante para el crecimiento celular, y entonces tratar selectivamente esos pacientes con rapálogo. Los ejemplos no limitativos de tales cánceres que implican anomalías en la ruta de fosfatidil-inositol 3 cinasa/Akt-mTOR incluyen glioma, linfoma y tumores de pulmón, vejiga, ovario, endometrio, próstata o cuello uterino que están asociados con receptores de factores de crecimiento anómalos (por ejemplo, EGFR, PDGFR, IGF-R e IL-2); tumores de ovario que están asociados con anomalías en PI3 cinasa; melanoma y tumores de mama, próstata o endometrio que están asociados con anomalías en PTEN; cánceres de mama, gástricos, de ovario, de páncreas y próstata asociados con anomalías con Akt; linfoma, cánceres de mama o carcinoma de vejiga y cabeza y cuello asociados con anomalías en eIF-4E; linfoma de células del manto; cáncer de mama y carcinomas de cabeza y cuello asociados con anomalías en ciclina D; y, melanoma familiar y carcinomas de páncreas asociados con anomalías en P16.

Para todas las indicaciones indicadas en el presente documento, puede ser beneficioso en algunos casos tratar el paciente con una combinación de un compuesto de esta invención y uno o más otros agentes útiles para tratar la enfermedad relevante. La combinación puede administrarse en conjunto o por separado (por ejemplo, en serie). Por ejemplo, un paciente que está tratándose con un compuesto anticancerígeno de esta invención, también puede tratarse (antes, durante o después de tal tratamiento) con uno o más de otros agentes anticancerígenos tales como cisplatino; un agente antiestrógenos (por ejemplo, raloxifeno, droloxifeno, idoxifeno, nafoxidina, toremifeno, TAT-59, levomeioxifeno, LY-353381, CP-3361656, MDL-103323, EM-800 e ICI-182,780; véase, por ejemplo, el documento WO 02/13802 que puede adaptarse a la presente invención); un inhibidor de una cinasa tal como Src, BCR/Abl, kdr, aurora-2, glucógeno sintasa cinasa 3 ("GSK-3"), un receptor del factor de crecimiento epidérmico ("EGF-R") o un receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas ("PDGF-R") por ejemplo, incluyendo inhibidores tales como Gleevec, Iressa, CP-358774 (Tarceva), ZD-1839, SU-5416 o NSC-649890; un anticuerpo (tal como Herceptin) frente a un receptor o una hormona (por ejemplo, VEGF) implicados en un cáncer, o un receptor soluble u otro antagonista de receptor para tal receptor; un inhibidor del proteasoma tal como Velcade; un inhibidor de IKK u otro inhibidor de NF- $\kappa$ B; o radiación. Cada componente de la combinación puede administrarse como si se administrara solo, aunque en algunos casos puede ser posible o beneficiosa la dosificación reducida de uno o más componentes en vista de la acción combinada de los diferentes fármacos.

También pueden usarse compuestos de esta invención para ayudar a prevenir la reestenosis u otras complicaciones

tras la introducción en el cuerpo del paciente de un injerto, una endoprótesis, u otro dispositivo. Véanse, por ejemplo, Sousa *et al*, anteriormente, y Marx y Marks, 2001, *Circulation* 104:852-855. Por tanto, los rapálogos de esta invención pueden aplicarse a endoprótesis, injertos, desviaciones (*shunts*) u otros dispositivos o andamiajes (incluyendo derivaciones o puntas de derivación de marcapasos cardiacos, derivaciones o puntas de derivación de

5 desfibriladores cardiacos, válvulas cardiacas, marcapasos, dispositivos ortopédicos, etc.) para proporcionar dispositivos de elución de fármaco para la implantación en pacientes que lo necesitan. Las endoprótesis y tales dispositivos se insertan normalmente en la vasculatura de un paciente (por ejemplo, venas, arterias, aorta, etc., incluyendo tanto arterias coronarias como periféricas) pero también pueden usarse en muchos otros órganos, glándulas, conductos, etc.

10 Una endoprótesis es un tubo expansible, normalmente un tubo de tela metálica expansible, lo suficientemente pequeño como para insertarse en un vaso sanguíneo. Se usan normalmente para impedir el cierre del vaso tras un procedimiento tal como angioplastia. Está disponible una variedad creciente de diseños y tipos de endoprótesis para el médico, incluyendo endoprótesis compuestas por nitinol (una aleación de níquel-titanio), aleación de cobalto sobre un núcleo de platino, platino-iridio, acero inoxidable, acero inoxidable chapado con oro, carburo de silicio, tántalo, tántalo recubierto, y otros metales o no metales, en una variedad de diseños incluyendo trenza de alambre, bobina en espiral, tubo ranurado (diseño en zig-zag, malla de tipo serpentina con uniones rotativas, ranura sinusoidal, malla celular, articulación en espiral, etc.), tela metálica, bobina de un solo alambre sinusoidal, bobina helicoidal individual, bobina flexible, en espina de pescado, alambres en zig-zag conectados, múltiples anillos, multicelular, etc.

20 Una complicación demasiado frecuente del uso de endoprótesis es el cierre de nuevo ("reestenosis") del vaso tras la inserción de la endoprótesis. Se cree que una de las causas primarias de reestenosis es la rápida proliferación de células de vasos sanguíneos en la región de la endoprótesis ("hiperplasia de la neoíntima"), que bloquea eventualmente el vaso. Un enfoque para reducir la incidencia de reestenosis ha sido el uso de endoprótesis de elución de rapamicina. Se han indicado en la bibliografía otros beneficios de endoprótesis de elución de rapamicina.

25 Para proporcionar una endoprótesis (u otro dispositivo implantable) con probabilidad reducida de reestenosis, un compuesto de esta invención puede disponerse sobre o en un dispositivo de este tipo en lugar de rapamicina u otro fármaco de manera que el compuesto se libera ("eluye") desde el dispositivo tras implantarse en el receptor. Las endoprótesis de elución de fármaco se preparan generalmente recubriendo al menos parte de la endoprótesis con un material portador (normalmente un polímero) que contiene el fármaco o llenando una o más cámaras o canales en, o sobre la superficie de, la endoprótesis con el fármaco o una composición que contiene el fármaco. Pueden aplicarse recubrimientos en más de una capa, algunas de las cuales podrían no contener el fármaco. A veces, se proporciona un recubrimiento adicional encima de la capa o depósito que contiene el fármaco, recubrimiento

35 adicional que permite la liberación gradual a los tejidos del receptor.

Una variedad de métodos y materiales para aplicar fármacos a endoprótesis y para usar tales endoprótesis están disponibles para el médico y pueden adaptarse para su uso con compuestos de esta invención. Por ejemplo, se describen métodos y materiales para liberar fármacos desde dispositivos implantables y otros en las patentes de

40 EE.UU. n.<sup>os</sup> 6.471.980; 6.096.070; 5.824.049; 5.624.411; 5.609.629; 5.569.463; 5.447.724; y 5.464.650, así como en el documento WO 02066092. Se describe el uso de endoprótesis para la administración de fármacos dentro de la vasculatura en la publicación PCT n.<sup>o</sup> WO 01/01957 y las patentes de EE.UU. n.<sup>os</sup> 6.099.561; 6.071.305; 6.063.101; 5.997.468; 5.980.551; 5.980.566; 5.972.027; 5.968.092; 5.951.586; 5.893.840; 5.891.108; 5.851.231; 5.843.172; 5.837.008; 5.769.883; 5.735.811; 5.700.286; 5.679.400; 5.649.977; 5.637.113; 5.591.227; 5.551.954; 5.545.208; 45 5.500.013; 5.464.450; 5.419.760; 5.411.550; 5.342.348; 5.286.254; y 5.163.952. Se describen materiales biodegradables en las patentes de EE.UU. n.<sup>os</sup> 6.051.276; 5.879.808; 5.876.452; 5.656.297; 5.543.158; 5.484.584; 5.176.907; 4.894.231; 4.897.268; 4.883.666; 4.832.686; y 3.976.071. Se describe el uso de hidrociclosiloxano como barrera limitante de la velocidad en la patente de EE.UU. n.<sup>o</sup> 5.463.010. Se describen métodos para el recubrimiento de endoprótesis en la patente de EE.UU. n.<sup>o</sup> 5.356.433. Se describen recubrimientos para potenciar la biocompatibilidad de dispositivos implantables en las patentes de EE.UU. n.<sup>os</sup> 5.463.010; 5.112.457; y 5.067.491. Se describen dispositivos basados en energía en las patentes de EE.UU. n.<sup>os</sup> 6.031.375; 5.928.145; 5.735.811; 5.728.062; 5.725.494; 5.409.000; 5.368.557; 5.000.185; y 4.936.281. Se describen procedimientos magnéticos, algunos de los cuales se han usado en los sistemas de administración de fármacos, en las patentes de EE.UU. n.<sup>os</sup> 5.427.767; 5.225.282; 5.206.159; 5.069.216; 4.904.479; 4.871.716; 4.501.726; 4.3579259; 4.345.588; y 4.335.094.

55 Se dan a conocer dispositivos médicos expansibles que contienen uno o más fármacos en una o más aberturas sobre o en el dispositivo, usando diversas capas, composiciones de barrera y configuraciones opcionales en Shanley *et al*, pub. de solicitud de patente de EE.UU. n.<sup>o</sup> 2002/0082680. Véase también por ejemplo, la patente de EE.UU. n.<sup>o</sup> 6.471.979 que da a conocer métodos y materiales para cargar una endoprótesis que puede aplicarse a compuestos de esta invención. Los recubrimientos a modo de ejemplo dados a conocer en ese documento incluyen fosforilcolina, poliuretano, poliuretano segmentado, poli-ácido 1-láctico, éster de celulosa, polietilenglicol y ésteres de polifosfato, así como vehículos o portadores que se producen de manera natural como colágenos, lamininas, heparinas, fibrinas, y otras sustancias que se producen de manera natural que se absorben en celulosa. Usar un recubrimiento de este tipo es ventajoso porque permite que el compuesto se libere lentamente desde el dispositivo. Esto amplía el tiempo en el que la parte afectada del cuerpo mantiene los efectos eficaces de los compuestos. De manera en que estos recubrimientos interactúan con el material del dispositivo así como la estructura inherente del recubrimiento proporcionan una barrera a la difusión, controlando de ese modo la liberación del/de los

65

compuesto(s) atrapado(s). Por tanto, la matriz o el recubrimiento con el que se cargan los compuestos en la endoprótesis o el dispositivo de administración puede controlar la administración lenta o rápida del compuesto.

5 En otros enfoques, se usa un recubrimiento tal como un recubrimiento basado en fosforilcolina como el polímero de PC (LO) de Biocompatibles. Tales recubrimientos contienen un componente hidrófobo que ayuda en la adhesión inicial y la formación de película del polímero sobre el sustrato de endoprótesis de acero inoxidable, mientras que otros grupos permiten la reticulación tanto dentro del polímero como con la superficie de la endoprótesis para lograr un anclaje firme. Por tanto, el recubrimiento se adhiere fuertemente a la endoprótesis y puede sobrevivir a la expansión del balón sin daño. El recubrimiento puede absorber una variedad de moléculas de diferente tamaño y características físicas en el recubrimiento de PC, y liberarlas de manera controlada. El recubrimiento de PC puede ser tan delgado como de ~ 0,1 µm, aunque también pueden usarse capas más gruesas. La endoprótesis, recubierta con la matriz LO puede sumergirse en una disolución del compuesto en un disolvente orgánico durante tan sólo unos pocos minutos. Puede controlarse el nivel de carga mediante la concentración de la disolución del compuesto. Tras la retirada de la disolución, se permite que se seque el recubrimiento brevemente antes de estar listo para su uso. Véanse por ejemplo, los documentos WO 01/00109, 01/01957, 01/52915, 02/55121 y 02/55122.

20 El uso de un rapálogo de esta invención junto con una endoprótesis pueden lograrse, por ejemplo, adaptando métodos y materiales usados para la administración de otros fármacos, especialmente rapamicina, usando tales creaciones, por ejemplo, tal como se da a conocer en los documentos anteriores así como en las patentes de EE.UU. n.ºs 5.516.781; 6.153.252; 5.665.728; 5.646.160; 5.563.146; y 5.516.781 así como en las solicitudes internacionales de patente publicadas WO 01/01957, 01/49338, 01/87263, 01/87342, 01/87372, 01/87373, 01/87374, 01/87375 y 01/87376. Los rapálogos de esta invención son ampliamente compatibles a lo largo de la gama de diseños de endoprótesis y de métodos y materiales para el recubrimiento, la deposición, estratificación o carga de otro modo de las mismas con fármaco. La carga de tales dispositivos médicos con un rapálogo de esta invención, los dispositivos médicos cargados con un rapálogo de esta invención y la inserción en un vaso sanguíneo u otra luz en un receptor de un dispositivo de este tipo cargado con un rapálogo de este tipo están todos abarcados por esta invención, incluyendo las diversas matrices, polímeros, barreras, y otras opciones disponibles para el médico. En la práctica, puede optimizarse la elección de materiales (por ejemplo, disolventes, polímeros, capas de barrera, matrices, etc.) y métodos precisos, dependiendo de la elección del compuesto, usando experimentación de rutina. En otras palabras, las elecciones deseables y óptimas de diseño o composición de endoprótesis, disolventes, codisolventes, polímeros, copolímeros, recubrimientos, barreras, procedimientos de carga de fármaco, intervalos de concentración o tiempo o temperatura, etc. resultarán evidentes en un caso dado usando prácticas de rutina.

35 A continuación se proporciona un análisis adicional de formulación, dosificación, administración y usos farmacéuticos.

### Descripción detallada de la invención

40 Con la lectura de este documento, la siguiente información y definiciones se aplican a menos que se indique lo contrario. Además, a menos que se indique lo contrario, todas las apariciones de un grupo funcional se eligen de manera independiente, tal como se recuerda al lector en algunos casos mediante el uso de una barra oblicua o comilla para indicar simplemente que las dos apariciones pueden ser iguales o diferentes (por ejemplo, R y R'). La numeración de átomos en o con relación a estructuras dadas a conocer en este documento es con referencia al sistema de numeración mostrado en la fórmula I.

45 Tal como se usa en el presente documento, el término "alquilo" incluye grupos alquilo tanto lineales como ramificados. Además, tal como se usa en el presente documento, la expresión "alquilo" abarca grupos tanto sustituidos como no sustituidos, siendo los sustituyentes tal como se definieron anteriormente.

50 El término "alquilo" se refiere a grupos que tienen de uno a ocho, preferiblemente de uno a seis átomos de carbono. Por ejemplo, "alquilo" puede referirse a metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, ciclobutilo, pentilo, isopentilo, terc-pentilo, ciclopentilo, hexilo, isohexilo, ciclohexilo, y similares. Los grupos alquilo sustituidos adecuados incluyen, pero no se limitan a, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, 2-fluoroetilo, 3-fluoropropilo, hidroximetilo, 2-hidroxietilo, 3-hidroxipropilo, bencilo, bencilo sustituido y similares.

55 El término "heterociclo", "heterociclilo" o "heterocíclico" tal como se usa en el presente documento se refiere a sistemas de anillos no aromáticos que tienen de cinco a catorce miembros, preferiblemente de cinco a diez, en los que de de uno a cuatro carbonos de anillo se reemplazan cada uno por un heteroátomo seleccionado de N, O o S. Los ejemplos no limitativos de anillos heterocíclicos incluyen 3-1H-bencimidazol-2-ona, (1-sustituido)-2-oxo-bencimidazol-3-ilo, 2-tetrahidrofurano, 3-tetrahidrofurano, 2-tetrahidrotiofenilo, 3-tetrahidrotiofenilo, 2-morfolinilo, 3-morfolinilo, 4-morfolinilo, 2-tiomorfolinilo, 3-tiomorfolinilo, 4-tiomorfolinilo, 1-pirrolidinilo, 2-pirrolidinilo, 3-pirrolidinilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo, 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-piperidinilo, 4-tiazolidinilo, diazolonilo, N-diazolonilo sustituido, 1-ftalimidinilo, benzoxanilo, benzopirrolidinilo, benzopiperidinilo, benzoxolanilo, benzotiolanilo y benzotianilo. También está incluido dentro del alcance del término "heterociclilo" o "heterocíclico", tal como se usa en el presente documento, un grupo en el que un anillo que contiene heteroátomo no aromático está condensado a uno o más anillos aromáticos o no aromáticos, tal como en un indolinilo, cromanilo, fenantridinilo o tetrahidroquinolinilo,

en los que el radical o punto de unión está en el anillo que contiene heteroátomo no aromático. El término “heterociclo”, “heterociclilo” o “heterocíclico” ya sea saturado o parcialmente insaturado, también se refiere a anillos que están opcionalmente sustituidos.

5 El término “arilo” usado solo o como parte de un resto más grande como en “aralquilo”, “aralcoxilo” o “ariloxialquilo”, se refiere a grupos con anillos aromáticos que tienen de cinco a catorce miembros, tales como fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 1-antracilo y 2-antracilo. El término “arilo” también se refiere a anillos que están opcionalmente sustituidos. El término “arilo” puede usarse de manera intercambiable con el término “anillo de arilo”. “Arilo” también incluye sistemas de anillos aromáticos policíclicos condensados en los que un anillo aromático está condensado a uno o  
10 más anillos. Los ejemplos no limitativos de grupos de anillo de arilo útiles incluyen fenilo, halofenilo, alcoxifenilo, dialcoxifenilo, trialcoxifenilo, alquilendioxfenilo, naftilo, fenantrilo, antrilo, fenantro y similares, así como 1-naftilo, 2-naftilo, 1-antracilo y 2-antracilo. También está incluido dentro del alcance del término “arilo”, tal como se usa en el presente documento, un grupo en el que un anillo aromático está condensado a uno o más anillos no aromáticos, tal como en un indanilo, fenantridinilo o tetrahidronaftilo, en los que el radical o punto de unión está en el anillo  
15 aromático.

El término “heteroarilo” tal como se usa en el presente documento se refiere a restos aromáticos heterocíclicos y poliheterocíclicos estables que tienen 3 - 14, habitualmente 5 - 14, átomos de carbono, restos que pueden estar sustituidos o no sustituidos y pueden comprender uno o más anillos. Los sustituyentes incluyen cualquiera de los  
20 sustituyentes mencionados previamente. Los ejemplos de anillos de heteroarilo típicos incluyen grupos de anillos monocíclicos de 5 miembros tales como tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, furilo, isotiazolilo, furazanilo, isoxazolilo, tiazolilo y similares; grupos monocíclicos de 6 miembros tales como piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, triazinilo y similares; y grupos de anillos heterocíclicos policíclicos tales como benzo[b]tienilo, nafto[2,3-b]tienilo, tiantrenilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatienilo, indolizínilo, isoindolilo, indolilo, indazolilo, purínilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalínilo, quinazolinilo, benzotiazol, bencimidazol, tetrahidroquinolina cinolinilo, pteridinilo, carbazolilo, beta-carbolínilo, fenantridinilo, acridínilo, pirimidinilo, fenantrolínilo, fenazinilo, isotiazolilo, fenotiazínilo, fenoxazinilo, y similares (véase, por ejemplo, Katritzky, Handbook of Heterocyclic Chemistry). Ejemplos específicos adicionales de anillos de heteroarilo incluyen 2-furanilo, 3-furanilo, N-imidazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 5-imidazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-oxadiazolilo, 5-  
30 oxadiazolilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 5-pirimidilo, 3-piridazinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 5-tetrazolilo, 2-triazolilo, 5-triazolilo, 2-tienilo, 3-tienilo, carbazolilo, bencimidazolilo, benzotienilo, benzofuranilo, indolilo, quinolinilo, benzotriazolilo, benzotiazolilo, benzooxazolilo, bencimidazolilo, isoquinolinilo, indolilo, isoindolilo, acridínilo o benzoisoxazolilo. Los grupos heteroarilo incluyen además un grupo en el que un anillo heteroaromático está condensado a uno o más  
35 anillos aromáticos o no aromáticos en los que el radical o punto de unión está en el anillo heteroaromático. Los ejemplos incluyen tetrahidroquinolina, tetrahidroisoquinolina y pirido[3,4-d]pirimidinilo. El término “heteroarilo” también se refiere a anillos que están opcionalmente sustituidos. El término “heteroarilo” puede usarse de manera intercambiable con el término “anillo de heteroarilo” o el término “heteroaromático”.

40 Un grupo arilo (incluyendo la parte de arilo de un resto aralquilo, aralcoxilo o ariloxialquilo y similares) o grupo heteroarilo (incluyendo la parte de heteroarilo de un resto heteroaralquilo o heteroarilalcoxilo y similares) puede contener uno o más sustituyentes. Los sustituyentes se definieron anteriormente.

45 Un grupo heterocíclico alifático o no aromático también puede contener uno o más sustituyentes. Los sustituyentes en tales grupos se definieron anteriormente.

Los ejemplos de sustituyentes en el grupo alifático o el anillo de fenilo incluyen amino, alquilamino, dialquilamino, aminocarbonilo, halógeno, alquilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquilaminocarboniloxilo, dialquilaminocarboniloxilo, alcoxilo, nitro, ciano, carboxilo, alcoxycarbonilo, alquilcarbonilo, hidroxilo, haloalcoxilo o haloalquilo.  
50

Una combinación de sustituyentes o variables es admisible sólo si tal combinación da como resultado un compuesto estable o químicamente viable. Un compuesto estable o químicamente viable es uno que no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40°C. o menos, en ausencia de humedad u otras  
55 condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana.

Determinados compuestos de esta invención pueden existir en formas tautoméricas, y esta invención incluye todas de tales formas tautoméricas de esos compuestos a menos que se especifique lo contrario.

60 A menos que se establezca lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir todas las formas estereoquímicas de la estructura; es decir, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico. Por tanto, los isómeros estereoquímicos individuales así como mezclas enantioméricas y diastereoméricas están dentro del alcance de la invención. Por tanto, esta invención abarca cada diastereómero o enantiómero sustancialmente libre de otros isómeros (libre en >90%, y preferiblemente >95%, de otros  
65 estereoisómeros en una base molar) así como una mezcla de tales isómeros. (En estructuras químicas de este documento, una línea ondulada, por ejemplo, la línea ondulada en la fórmula I en las posiciones 43 y 28, indica la

orientación o bien R o bien S.)

A menos que se mencione lo contrario, se pretende que las estructuras representadas en el presente documento incluyan compuestos que sólo se diferencian en cuanto a la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen la presente estructura excepto por el reemplazo de un átomo de hidrógeno por un deuterio o tritio, o el reemplazo de un átomo de carbono por un carbono enriquecido en  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$ , están dentro del alcance de la invención.

Orientación para la síntesis

Se conoce la producción de rapamicina mediante fermentación y mediante síntesis total. También se conoce la producción de varios rapálogos como productos de fermentación.

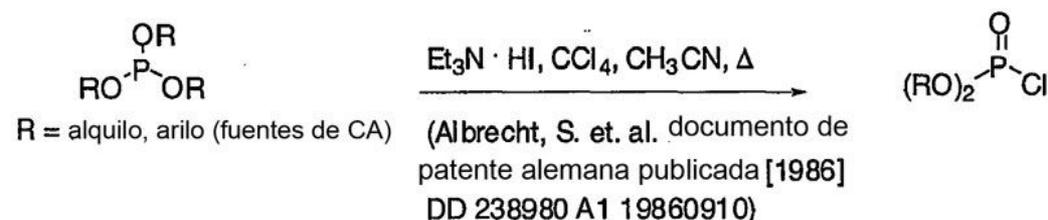
Se conocen en la técnica métodos y materiales para efectuar diversas transformaciones químicas de rapamicina y macrólidos relacionados estructuralmente. Muchas de tales transformaciones químicas de rapamicina y diversos rapálogos se dan a conocer en los documentos de patente identificados en la tabla I del documento WO 014387 que sirven para ilustrar el nivel de experiencia y conocimientos en la técnica de la síntesis química y la recuperación, purificación y formulación de productos que pueden aplicarse en la puesta en práctica de la invención objeto.

También se contempla que pueden prepararse rapálogos para su uso como productos intermedios en la producción de rapálogos de 43-JQA mediante biosíntesis dirigida, por ejemplo, tal como describen Katz *et al*, documento WO 93/13663 y Cane *et al*, documento WO 9702358. Véase también Khaw *et al*, 1998, J. Bacteriology 180 (4):809-814 para métodos biológicos adicionales.

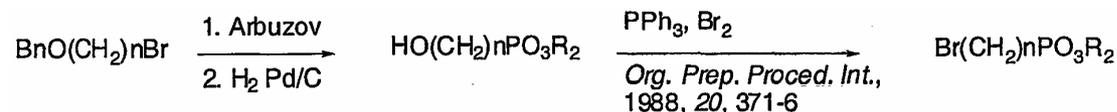
Pueden prepararse rapálogos de esta invención por un experto en esta técnica basándose en métodos y materiales conocidos en la técnica tal como se orienta mediante la divulgación presentada en el presente documento. Por ejemplo, pueden adaptarse métodos y materiales de métodos conocidos expuestos o a los que se hace referencia en los documentos citados anteriormente, cuyo contenido completo se incorpora al presente documento como referencia. Se proporcionan orientación y ejemplos adicionales en el presente documento a modo de ilustración y orientación adicional para el médico. Debe entenderse que el químico experto habitual en esta técnica podrá realizar fácilmente modificaciones a lo anterior, por ejemplo, añadir grupos protectores apropiados a restos sensibles durante la síntesis, seguido por la eliminación de los grupos protectores cuando ya no se necesiten o deseen, y podrá determinar fácilmente otros enfoques de síntesis.

Se muestran a continuación algunas transformaciones adicionales de potencial interés para el médico, incluyendo la preparación de reactivos para generar los rapálogos que contienen fósforo en C-43 descritos:

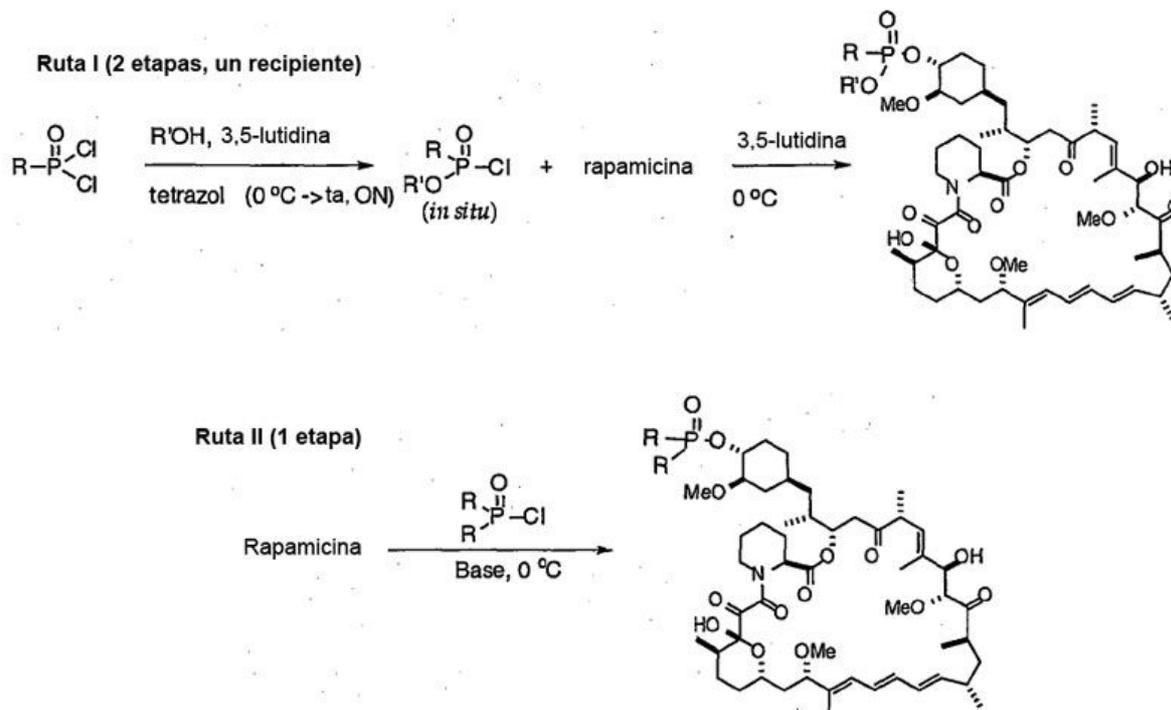
Preparación de clorofosfatos de dialquilo/diarilo



Preparación de fosfonatos de haluro de alquilo



Se muestran a continuación rutas ilustrativas para usar las clases anteriores de reactivos para preparar determinados rapálogos de esta invención.



La síntesis de compuestos de esta invención implica a menudo la preparación de una forma activada del resto deseado "J", tal como un cloruro de fosforilo tal como se mostró anteriormente (por ejemplo, (R)(RO)P-Cl o RR'P(=O)-Cl, etc), y la reacción de ese reactivo con rapamicina (o el rapálogo apropiado) en condiciones que proporcionan el producto deseado, que entonces puede recuperarse de los reactantes residuales y cualquier producto secundario no deseado. Pueden elegirse grupos protectores, añadirse y eliminarse según sea apropiado usando métodos y materiales convencionales.

#### 10 Purificación de compuestos de la invención

Una variedad de materiales y métodos para purificar rapamicina y diversos rapálogos se han notificado en la bibliografía científica y de patentes y pueden adaptarse a la purificación de los rapálogos dados a conocer en el presente documento. La cromatografía ultrarrápida usando un sistema de cartucho precargado BIOTAGE ha sido particularmente eficaz. Se da a conocer un protocolo típico en los ejemplos que siguen.

#### 20 Caracterización fisicoquímica de compuestos de la invención

La identidad, pureza y propiedades químicas/físicas de los rapálogos pueden determinarse o confirmarse usando métodos y materiales conocidos, incluyendo HPLC, análisis de espectros de masas, cristalografía de rayos X y espectroscopía de RMN. Han demostrado ser útiles los espectros de RMN 1D de  $^1\text{H}$  y  $^{31}\text{P}$  de alta resolución adquiridos usando un retardo de relajación típico de 3 segundos, como lo ha sido el análisis de HPLC de fase inversa (columna analítica, tamaño de partícula de 3 micrómetros, tamaño de poro de 120 angstrom, termostatzado hasta 50 °C con una fase móvil del 50% de acetonitrilo, el 5% de metanol y el 45% de agua (todos los % en volumen), por ejemplo, en un sistema de elución isocrática, con la elución de los picos de productos e impurezas seguido por detección UV a 280 nanómetros). También puede usarse HPLC de fase normal, especialmente para evaluar el nivel de subproductos de rapálogos o rapamicina residuales. La presencia de disolvente residual, metales pesados, humedad y carga biológica puede evaluarse usando métodos convencionales.

#### 30 Caracterización biológica de compuestos de la invención

Las propiedades biológicas de los rapálogos pueden determinarse usando métodos y materiales conocidos, incluyendo, por ejemplo, ensayos que miden la unión a FKBP12, la inhibición de la proliferación de células T, la actividad antifúngica, la actividad antitumoral *in vitro* o *in vivo* (por ejemplo, contra una o más líneas de células cancerosas *in vitro* y/o *in vivo*), la actividad inmunosupresora y la actividad en un ensayo de 3 híbridos basado en proteínas de fusión que contienen FKBP y FRAP. Se dan a conocer ejemplos de muchos de tales ensayos o se hace referencia a los mismos en Sorbera *et al*, Drugs of the Future 2002, 27(1): 7 - 13, que se incorpora al presente documento como referencia.

40 Lo siguiente será de particular interés en relación con la unión de los rapálogos a FKBP12.

*Propiedades de unión, ensayos*

Se sabe que la rapamicina se une a la proteína humana, FKBP12 y para formar un complejo tripartito con hFKBP12 y FRAP, un homólogo humano para las proteínas de levadura TOR1 y TOR2. Los rapálogos pueden caracterizarse y compararse con rapamicina con respecto a su capacidad para unirse a FKBP12 humana y/o para formar complejos tripartitos con FKBP12 humana y FRAP humana (o proteínas de fusión o fragmentos que contienen su dominio FRB). Véase el documento WO 96/41865 (Clackson *et al*). Esa solicitud da a conocer diversos materiales y métodos que pueden usarse para cuantificar la capacidad de un compuesto para unirse a FKBP12 humana o para formar un complejo tripartito con (es decir, "heterodimerizar") proteínas que comprenden FKBP12 humana y el dominio FRB de FRAP humana, respectivamente. Tales ensayos incluyen ensayos de polarización por fluorescencia para medir la unión. Otros ensayos útiles incluyen ensayos de transcripción basados en células en los que se mide la capacidad de un rapálogo para formar el complejo tripartito, indirectamente mediante correlación con el nivel observado de producto de gen indicador producido por células de mamífero modificadas mediante ingeniería en presencia del compuesto. También pueden realizarse ensayos basados en células correspondientes en células de levadura modificadas mediante ingeniería. Véase, por ejemplo, el documento WO 95/33052 (Berlin *et al*).

A menudo se preferirá que los rapálogos de esta invención sean fisiológicamente aceptables (es decir, carezcan de toxicidad indebida frente a la célula o el organismo con el que va a usarse), puedan administrarse por vía oral o por vía parenteral a animales y/o puedan atravesar membranas celulares y otras, según sea necesario para una aplicación particular.

En algunos casos, por ejemplo, para su uso en aplicaciones antifúngicas o para desencadenar un cambio biológico modificado mediante ingeniería genética, los rapálogos preferidos son aquéllos que se unen a proteínas de unión mutantes o fúngicas preferentemente en las proteínas de unión de homólogo humano. Un ejemplo no limitativo de una proteína de unión mutante es una FKBP humana en la que Phe36 se reemplaza por un aminoácido diferente, preferiblemente un aminoácido con una cadena lateral menos voluminosa tal como valina o alanina). Por ejemplo, tales compuestos pueden unirse preferentemente a FKBP mutantes de manera al menos un orden de magnitud mejor a como se unen a FKBP12 humana, y en algunos casos pueden unirse a FKBP mutantes de una manera más de 2 o incluso 3 o más órdenes de magnitud mejor a como lo hacen a FKBP12 humana, tal como se determina mediante cualquier metodología de ensayo científicamente válida o aceptada en la técnica.

Las afinidades de unión de diversos rapálogos de esta invención con respecto a FKBP12 humana, variantes de los mismos u otras proteínas inmunofilinas pueden determinarse mediante la adaptación de métodos conocidos usados en el caso de FKBP. Por ejemplo, el médico puede medir la capacidad de un compuesto de esta invención para competir con la unión de un ligando conocido a la proteína de interés. Véase, por ejemplo, Sierkierka *et al*, 1989, Nature 341, 755-757 (el compuesto de prueba compite con la unión de derivado de FK506 marcado a FKBP).

Determinados rapálogos de esta invención que son de particular interés se unen a FKBP12 humana, a un mutante de la misma tal como se analizó anteriormente, o a una proteína de fusión que contiene tales dominios de FKBP, con un valor de Kd inferior a aproximadamente 200 nM, más preferiblemente inferior a aproximadamente 50 nM, incluso más preferiblemente inferior a aproximadamente 10 nM, e incluso más preferiblemente inferior a aproximadamente 1 nM, tal como se mide mediante la medición de la unión directa (por ejemplo, extinción de fluorescencia), la medición de unión en competencia (por ejemplo, frente a FK506), la inhibición de la actividad enzimática de FKBP (rotamasa), u otra metodología de ensayo.

Se describe un ensayo FP de unión competitiva conocido en detalle en los documentos WO 99/36553 y WO 96/41865. Ese ensayo permite la medición *in vitro* de un valor de CI50 para un compuesto dado que refleja su capacidad para unirse a una proteína FKBP en competencia con un ligando de FKBP marcado, tal como, por ejemplo, FK506.

Una clase interesante de compuestos de esta invención tienen un valor de CI50 en el ensayo FP de unión competitiva (por ejemplo, usando un patrón de FK506 con fluoresceína) mejor que 1000 nM, preferiblemente mejor que 300 nM, más preferiblemente mejor que 100 nM, e incluso más preferiblemente mejor que 10 nM con respecto a un par de dominio de FKBP y ligando dado, por ejemplo, FKBP12 humana o una variante de la misma con hasta 10 sustituciones de aminoácido, preferiblemente 1 - 5 sustituciones de aminoácido.

La capacidad de los rapálogos para multimerizar proteínas quiméricas puede medirse en ensayos basados en células mediante la medición de la aparición de un acontecimiento desencadenado por tal multimerización. Por ejemplo, pueden usarse células que contienen y que pueden expresar ADN que codifica para una primera proteína quimérica que comprende uno o más dominios de FKBP y uno o más dominios efectores así como ADN que codifica para una segunda proteína quimérica que contiene un dominio FRB y uno o más dominios efectores que pueden, tras la multimerización, activar una respuesta biológica. Se prefiere usar células que contienen además un gen indicador bajo el control transcripcional de un elemento regulador (es decir, promotor) sensible a la multimerización de las proteínas quiméricas. El diseño y la preparación de componentes ilustrativos y su uso en células modificadas mediante ingeniería de ese modo se describe en los documentos WO 99/36553 y WO 96/41865 y las otras

solicitudes internacionales de patente a las que se hace referencia en esta y las anteriores secciones. (Véase también el documento WO 99/10510 para orientación adicional sobre el diseño, ensamblaje y suministro de ácidos nucleicos para hacer que células y animales respondan a rapálogos de interés y para orientación adicional sobre las aplicaciones de tales sistemas). Las células se hacen crecer o se mantienen en cultivo. Se añade un rapálogo al medio de cultivo y tras un periodo de incubación adecuado (para permitir la expresión y secreción de genes, por ejemplo, varias horas o durante la noche) se mide la presencia del producto de gen indicador. Los resultados positivos, es decir, multimerización, se correlacionan con la transcripción del gen indicador tal como se observa mediante la aparición del producto de gen indicador. El producto de gen indicador puede ser una proteína detectable de manera conveniente (por ejemplo, mediante ELISA) o puede catalizar la producción de un producto detectable de manera conveniente (por ejemplo, coloreado). Se dan a conocer Materiales y métodos para producir líneas celulares apropiadas para realizar tales ensayos en las solicitudes internacionales de patente citadas anteriormente en esta sección. Los genes diana usados normalmente incluyen a modo de ejemplo SEAP, hGH, betagalactosidasa, proteína fluorescente verde y luciferasa, para los que están disponibles comercialmente ensayos convenientes.

La realización de tales ensayos permite al médico seleccionar rapálogos que presentan las características de unión y/o los valores de CI50 deseados. El ensayo FP de unión competitiva permite que se seleccionen rapálogos que presentan la preferencia de unión y/o los valores de CI50 deseados para una FKBP mutante o FKBP de tipo natural con relación a un control, tal como FK506.

## Aplicaciones

Los rapálogos de esta invención pueden usarse tal como se describe en los documentos WO 94/18317, WO 95/02684, WO 96/20951, WO 95/41865, WO 99/36553 y WO 01/14387, por ejemplo, para activar de manera regulable la transcripción de un gen deseado, delecionar un gen diana, activar la apoptosis o desencadenar otros acontecimientos biológicos en células modificadas mediante ingeniería que crecen en cultivo o en organismos completos, incluyendo en aplicaciones de terapia génica. Adicionalmente, determinados compuestos de esta invención presentan actividad inmunosupresora y/o anticancerígena y/o antiinflamatoria y/o actividad antiproliferativa y/o antifúngica, y/o inhiben la proliferación de timocitos *in vitro*, tal como puede cuantificarse y compararse usando métodos de ensayo convencionales. Por tanto, esos compuestos son útiles en el tratamiento o la inhibición del rechazo de trasplantes de órganos o tejidos; enfermedades autoinmunitarias tales como lupus, artritis reumatoide, diabetes mellitus y esclerosis múltiple; infección fúngica; enfermedades inflamatorias (tales como psoriasis, eccema, seborrea, enfermedad inflamatoria del intestino e inflamación pulmonar tal como asma, enfermedad obstructiva crónica, enfisema, bronquitis, etc.; enfermedad vascular hiperproliferativa (por ejemplo, reestenosis tras la introducción de una endoprótesis vascular) (véase, por ejemplo, Sousa *et al*, *Circulation*, 2001, 103:192-195); síndromes tales como esclerosis tuberosa (véase, por ejemplo, Kwiatkowski *et al*, *Human Molecular Genetics*, 2002, vol. 11, n.º 5, págs. 525 - 534) y determinados cánceres (por ejemplo, tumores de mama, próstata, ovario, pulmón, páncreas, colon, cabeza y cuello, glioblastoma u otros cánceres del cerebro, melanoma y cuello uterino) especialmente tumores deficientes en PTEN (véanse, por ejemplo, Neshat *et al*, *PNAS* 98(18):10314 10319; Podsypanina *et al*, *PNAS* 98(18):10320-10325; Mills *et al* *PNAS* 98(18):10031-10033; Hidalgo *et al*, *Oncogene* (2000) 19, 6680-6686). Determinados compuestos de la invención serán de interés por su capacidad para inhibir la función de osteoclastos, y pueden ser útiles en el tratamiento de pacientes con trastornos óseos debilitantes tales como osteoporosis, particularmente osteoporosis asociada con los estados peri y posmenopáusicos. También se contempla la administración de compuestos de esta invención para el tratamiento de pacientes que tienen, o corren el riesgo de desarrollar, enfermedad de Paget, hipercalcemia asociada con neoplasias óseas y otros tipos de enfermedades osteoporóticas y trastornos relacionados, incluyendo pero sin limitarse a osteoporosis involutiva, osteoporosis tipo I o posmenopáusica, osteoporosis tipo II o senil, osteoporosis juvenil, osteoporosis idiopática, anomalía endocrina, hipertiroidismo, hipogonadismo, agenesia ovárica o síndrome de Turner, hiperadrenocorticismos o síndrome de Cushing, hiperparatiroidismo, anomalías de la médula ósea, mieloma múltiple y trastornos relacionados, mastocitosis sistémica, carcinoma diseminado, enfermedad de Gaucher, anomalías del tejido conjuntivo, osteogénesis imperfecta, homocistinuria, síndrome de Ehlers-Danlos, síndrome de Marfan, síndrome de Menke, inmovilización o ingravidez, atrofia de Sudeck, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, administración de heparina crónica e ingestión crónica de fármacos anticonvulsivos.

A continuación se analizan adicionalmente varios de estos usos.

### 1. Terapia génica regulada.

En muchos casos, la capacidad para activar o desactivar un gen terapéutico a voluntad o para titular su nivel de expresión es importante para la eficacia terapéutica. Esta invención es particularmente idónea para lograr la expresión regulada de un gen diana terapéutico en el contexto de terapia génica humana. Un ejemplo usa un par de proteínas de fusión (una que contiene al menos un dominio de unión a FKBP:rapamicina (un dominio "FRB", *FKBP:rapamycin binding*) de la proteína, FRAP, conteniendo la otra al menos un dominio de FKBP), un rapálogo de esta invención que puede dimerizar las proteínas de fusión y un constructo génico diana. Una de las proteínas de fusión comprende un dominio de unión a ADN, preferiblemente un dominio de unión a ADN compuesto tal como se describe en Pomerantz *et al*, citado anteriormente, como el dominio efector heterólogo. La segunda proteína de fusión comprende un dominio de activación transcripcional como el dominio efector heterólogo. El rapálogo puede

unirse a ambas proteínas de fusión y por tanto reticularlas eficazmente. Se introducen moléculas de ADN que codifican para y que pueden dirigir la expresión de estas proteínas quiméricas, en las células que van a modificarse mediante ingeniería. También se introducen en las células un gen diana ligado a una secuencia de ADN a la que puede unirse el dominio de unión a ADN. La puesta en contacto de las células modificadas mediante ingeniería o su progenie con el rapálogo (administrándose al animal o paciente) conduce al ensamblaje del complejo de factor de transcripción y por tanto a la expresión del gen diana. El diseño y uso de componentes similares se da a conocer en el documento PCT/US94/01617 (WO 94/18317) y en el documento WO 96/41865 (Clackson *et al*). En la práctica, el nivel de expresión de gen diana debe ser una función del número o la concentración de complejos de factores de transcripción quiméricos, que a su vez debe ser una función de la concentración del rapálogo. Normalmente se observa una expresión génica sensible a la dosis (de rapálogo).

El rapálogo puede administrarse al receptor tal como se desee para activar la transcripción del gen diana. Dependiendo de la afinidad de unión del rapálogo, la respuesta deseada, el modo de administración, la semivida biológica del rapálogo y/o el ARNm de gen diana, el número de células modificadas mediante ingeniería presentes, pueden emplearse diversos protocolos. El rapálogo puede administrarse por diversas vías, incluyendo por vía parenteral o por vía oral. El número de administraciones dependerá de los factores descritos anteriormente. El rapálogo puede administrarse por vía oral como una pastilla, un polvo o una dispersión; por vía bucal; por vía sublingual; mediante inhalación; o mediante inyección intravascular, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea o intraarticular. El rapálogo (y compuesto antagonista monomérico) puede formularse usando métodos y materiales convencionales bien conocidos en la técnica para las diversas vías de administración. La dosis precisa y el método de administración particular dependerán de los factores anteriores y los determinará el médico encargado o profesional sanitario para seres humanos o animales. En su mayor parte, el modo de administración se determinará empíricamente.

En el caso de que se revierta o termine la activación transcripcional por el rapálogo, se termina la administración del rapálogo. Además, si se desea, puede administrarse un compuesto monomérico que puede competir con el rapálogo. Por tanto, en el caso de una reacción adversa o el deseo de terminar el efecto terapéutico, puede administrarse un antagonista para el agente de dimerización de cualquier manera conveniente, particularmente por vía intravascular, si se desea una reversión rápida. Alternativamente, puede preverse la presencia de un dominio de inactivación (o silenciador transcripcional) con un dominio de unión a ligando.

En otro enfoque, se modifican mediante ingeniería células para expresar un par de proteínas quiméricas que contienen dominios FRB y de FKBP tal como se analizó anteriormente, pero que contienen un dominio de señalización celular en lugar de un dominio de unión a ADN o dominio de activación de la transcripción. Se conocen tales dominios de señalización que tras su agrupación o dimerización u oligomerización, desencadenan muerte, proliferación o diferenciación celular. Este enfoque permite la regulación medida por rapálogos de la señalización celular (es decir, de la muerte, proliferación o diferenciación celular) en células modificadas mediante ingeniería genética u organismos que las albergan, tal como se describe en otra parte, que pueden adaptarse para el uso de rapálogos de esta invención. Véanse las solicitudes internacionales de patente PCT/US94/01617 (WO 94/18317) y PCT/US94/08008 (WO 95/02684).

La dosificación particular del rapálogo para cualquier aplicación puede determinarse según los procedimientos usados para la monitorización de la dosificación terapéutica, cuando se desea el mantenimiento de un nivel de expresión particular a lo largo de periodos de tiempo prolongados, por ejemplo, de más de aproximadamente dos semanas, o cuando hay una terapia repetitiva, con dosis individuales o repetidas de rapálogo a lo largo de cortos periodos de tiempo, con intervalos ampliados, por ejemplo, dos semanas o más. Se proporcionará una dosis del rapálogo dentro de un intervalo predeterminado y se monitorizará para determinar la respuesta, de modo que se obtenga una relación de tiempo-nivel de expresión, así como para observar la respuesta terapéutica. Dependiendo de los niveles observados durante el periodo de tiempo y la respuesta terapéutica, podrá proporcionarse una dosis mayor o menor la siguiente vez, tras la respuesta. Este proceso se repetirá de manera iterativa hasta obtenerse una dosificación dentro del intervalo terapéutico. Cuando el rapálogo se administra de manera crónica, una vez que se determina la dosificación de mantenimiento del rapálogo, podrán realizarse entonces ensayos a intervalos ampliados para asegurarse de que el sistema celular está proporcionando la respuesta y el nivel del producto de expresión apropiados.

Debe apreciarse que el sistema está sujeto a varias variables, tales como la respuesta celular al rapálogo, la eficacia de expresión y, según sea apropiado, el nivel de secreción, la actividad del producto de expresión, las necesidades particulares del paciente, que pueden variar con el tiempo y las circunstancias, la velocidad de pérdida de la actividad celular como resultado de la pérdida de células o actividad de expresión de células individuales, y similares.

## 2. Producción de proteínas y virus recombinantes.

La producción de proteínas terapéuticas recombinantes para fines comerciales y de investigación se logra a menudo a través del uso de líneas celulares de mamífero modificadas mediante ingeniería para expresar la proteína a alto nivel. El uso de células de mamífero, en vez de bacterias o levaduras, está indicado cuando la función apropiada de

la proteína requiere modificaciones postraduccionales no realizadas generalmente por células heterólogas. Los ejemplos de proteínas producidas comercialmente de esta manera incluyen eritropoyetina, activador del plasminógeno tisular, factores de coagulación tales como factor VIII:c, anticuerpos, etc. El coste de producir proteínas de este modo está relacionado directamente con el nivel de expresión logrado en las células modificadas mediante ingeniería. Una segunda limitación en la producción de tales proteínas es la toxicidad para la célula huésped: la expresión de proteínas puede impedir que las células crezcan hasta alta densidad, reduciendo bruscamente los niveles de producción. Por tanto, la capacidad para controlar estrictamente la expresión de proteínas, tal como se describe para la terapia génica regulada, permite que se hagan crecer células hasta alta densidad en ausencia de producción de proteínas. Sólo tras alcanzarse una densidad de células óptima, se activa la expresión del gen y posteriormente se recoge el producto proteico.

Se encuentra un problema similar en la construcción y el uso de "líneas de empaquetamiento" para la producción de virus recombinantes para uso comercial (por ejemplo, terapia génica) y experimental. Estas líneas celulares se modifican mediante ingeniería para producir proteínas virales requeridas para el ensamblaje de partículas virales infecciosas que albergan genomas recombinantes deficientes. Los vectores virales que dependen de tales líneas de empaquetamiento incluyen retrovirus, adenovirus y virus adenoasociados. En este último caso, el título de la reserva viral obtenida a partir de una línea de empaquetamiento está relacionado directamente con el nivel de producción de las proteínas virales rep y cap. Pero estas proteínas son altamente tóxicas para las células huésped. Por tanto, ha demostrado ser difícil generar virus VAA recombinantes de alto título. Esta invención proporciona una solución a este problema, al permitir la construcción de líneas de empaquetamiento en las que los genes rep y core se colocan bajo el control de factores de transcripción regulables del diseño descrito en el presente documento. La línea celular de empaquetamiento puede hacerse crecer hasta alta densidad, infectarse con virus auxiliar y transfectarse con el genoma viral recombinante. Entonces, se induce la expresión de las proteínas virales codificadas por las células de empaquetamiento mediante la adición de agente de dimerización para permitir la producción de virus a alto título.

### 3. Investigación biológica.

Esta invención es aplicable a una amplia gama de experimentos biológicos en los que se desea un control preciso sobre la expresión de un gen diana. Éstos incluyen, entre otros: (1) la expresión de una proteína o un ARN de interés para la purificación bioquímica; (2) la expresión regulada de una proteína o un ARN de interés en células de cultivo tisular (o *in vivo*, mediante células modificadas mediante ingeniería) para los fines de evaluar su función biológica; (3) la expresión regulada de una proteína o un ARN de interés en animales transgénicos para los fines de evaluar su función biológica; (4) regular la expresión de un gen que codifica para otra proteína reguladora, ribozima o molécula antisentido que actúa sobre un gen endógeno para los fines de evaluar la función biológica de ese gen. Los modelos de animales transgénicos y otras aplicaciones en las que pueden adaptarse los componentes de esta invención incluyen los datos a conocer en el documento PCT/US95/10591.

Esta invención proporciona además kits útiles para las aplicaciones anteriores. Tales kits contienen constructos de ADN que codifican para y que pueden dirigir la expresión de proteínas quiméricas de esta invención (y pueden contener dominios adicionales tal como se analizó anteriormente) y, en realizaciones que implican transcripción génica regulada, un constructo génico diana que contiene un gen diana ligado a uno o más elementos de control transcripcional que se activan mediante la multimerización de las proteínas quiméricas. Alternativamente, el constructo de gen diana puede contener un sitio de clonación para la inserción de un gen diana deseado por el médico. Tales kits también pueden contener una muestra de un agente de dimerización que puede dimerizar las dos proteínas recombinantes y activar la transcripción del gen diana. También pueden proporcionarse kits para la modificación mediante ingeniería genética de células u organismos para permitir la señalización celular mediada por fármacos (por ejemplo, que conduce a proliferación, diferenciación o muerte celular) usando rapálogos de esta invención.

### 4. Otros varios usos farmacéuticos.

Se encontró que los compuestos de esta invención que se sometieron a prueba para determinar la actividad contra una variedad de líneas celulares de cáncer inhibían el crecimiento de células cancerosas y por tanto son útiles como agentes antineoplásicos. En particular, los compuestos de esta invención pueden usarse solos o en combinación con otros fármacos y/o radioterapia en el tratamiento o la inhibición del crecimiento de diversos cánceres, incluyendo leucemias y tumores sólidos, incluyendo sarcomas y carcinomas, tales como astrocitomas, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de ovario. Su uso es análogo al de rapamicina o CCI779 tal como se da a conocer en Sorbera *et al.*, "CCI-779" Drugs of the Future 2002, 27(1):7-13; documentos WO 02/4000 y WO 02/13802, por ejemplo. Los ejemplos de otros fármacos que pueden usarse para tratar pacientes con cáncer junto con (es decir, antes, durante o después de la administración de un compuesto de esta invención) un compuesto de esta invención incluyen, entre otros, Zylprim, alemtuzmab, altretamina, amifostina, nastrozol, anticuerpos contra antígeno de membrana prostático específico (tales como MLN-591, MLN591RL y MLN2704), trióxido de arsénico, Avastin® (u otro anticuerpo anti-VEGF), bexaroteno, bleomicina, busulfano, capecitabina, carboplatino, oblea Gliadel, celecoxib, clorambucilo, cisplatino, gel de cisplatino-epinefrina, cladribina, citarabina liposomal, daunorubicina liposomal, daunorubicina, daunomicina, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, solución Elliott's B, epirubicina, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, VP-16, exemestano, fludarabina, 5-FU,

- fulvestrant, gemcitabina, gemtuzumab-ozogamicina, acetato de goserelina, hidroxiurea, idarubicina, idarubicina, Idamycin, ifosfamida, mesilato de imatinib, irinotecán (u otro inhibidor de topoisomerasa, incluyendo anticuerpos tales como MLN576 (XR11576)), letrozol, leucovorina, leucovorina levamisol, daunorubicina liposomal, melfalán, L-PAM, mesna, metotrexato, metoxsalen, mitomicina C, mitoxantrona, MLN518 o MLN608 (u otros inhibidores de la
- 5 tirosina cinasa receptora flt-3, PDFG-R o c-kit), itoxantrona, paclitaxel, pegademasa, pentostatina, porfímero sódico, rituximab (RITUXAN®), talco, tamoxifeno, temozolamida, tenipósido, VM-26, topotecán, toremifeno, trastuzumab (Herceptin®, u otro anticuerpo anti-HER2), 2C4 (u otro anticuerpo que interfiere en la señalización mediada por HER2), tretinoína, ATRA, valrubicina, vinorelbina, o pamidronato, zoledronato u otro bisfosfonato.
- 10 Los compuestos de esta invención también pueden usarse para el tratamiento o la inhibición del rechazo de tejidos trasplantados incluyendo, por ejemplo, aloinjertos de piel, riñón, corazón, hígado, pulmón, médula ósea, páncreas (células del islote), córnea e intestino delgado, y xenoinjertos de válvula cardiaca; en el tratamiento o la inhibición de enfermedad de injerto contra huésped; en el tratamiento o la inhibición de enfermedades autoinmunitarias tales como lupus, artritis reumatoide, diabetes mellitus, miastenia grave y esclerosis múltiple; y enfermedades de
- 15 inflamación tal como psoriasis, dermatitis, eccema, seborrea, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación pulmonar (incluyendo asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfisema, síndrome de dificultad respiratoria aguda, bronquitis, y similares) y uveítis ocular; linfoma/leucemia de células T del adulto; infecciones fúngicas; enfermedades vasculares hiperproliferativas incluyendo reestenosis; aterosclerosis vascular por injerto; y enfermedad cardiovascular, enfermedad vascular cerebral y enfermedad vascular periférica, tal como arteriopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, arteriosclerosis, aterosclerosis, arteriosclerosis no ateromatosa o daño de la pared vascular debido a acontecimientos celulares que conducen a daño vascular mediado por el sistema
- 20 inmunario, e inhibición de ictus o demencia multiinfarto. Los métodos y materiales para usar rapálogos de esta invención para tales aplicaciones pueden adaptarse a partir de los usados con rapamicina, CCI779 o RAD001.
- 25 Cuando se usa como agente inmunosupresor o antiinflamatorio, un rapálogo de esta invención puede administrarse junto con uno o más otros agentes inmunorreguladores. Tales otros agentes inmunorreguladores incluyen, pero no se limitan a azatioprina, corticosteroides, tales como prednisona y metilprednisolona, ciclofosfamida, rapamicina, ciclosporina A, FK-506, OKT-3, micofenolato y ATG. Combinando los compuestos de esta invención con tales otros fármacos o agentes para inducir inmunosupresión o tratar estados inflamatorios, pueden requerirse las cantidades
- 30 menores de cada uno de los agentes para lograr el efecto deseado. La base para tal terapia de combinación la estableció Stepkowski cuyos resultados mostraron que el uso de una combinación de rapamicina y ciclosporina A a dosis inferiores a la terapéutica individualmente prolongaba significativamente el tiempo de supervivencia de aloinjerto cardiaco. [Transplantation Proc. 23: 507 (1991)]. Pueden usarse rapálogos de esta invención para tratar enfermedad inflamatoria cardiaca, por ejemplo, mediante la adaptación de los métodos y materiales dados a conocer en la patente de EE.UU. 5.496.832; para tratar inflamación ocular, por ejemplo, mediante la adaptación de los métodos y materiales dados a conocer en la patente de EE.UU. 5.387.589; y para tratar enfermedad
- 35 inmunoinflamatoria del intestino y otras enfermedades inmunoinflamatorias, por ejemplo, mediante la adaptación de los métodos y materiales dados a conocer en las patentes de EE.UU. 5.286.731 y 5.286.730.
- 40 También pueden usarse rapálogos de esta invención en el tratamiento o la inhibición de enfermedad vascular (incluyendo entre otros, arteriopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, arteriosclerosis, aterosclerosis, arteriosclerosis no ateromatosa, daño de la pared vascular debido a acontecimientos celulares que conducen a daño vascular mediado por el sistema inmunario, ictus y demencia multiinfarto) para proporcionar beneficios cardiovasculares, cerebrales o vasculares periféricos como el único principio activo, o pueden administrarse en
- 45 combinación con otros agentes que proporcionan efectos cardiovasculares, cerebrales o vasculares periféricos beneficiosos. Tales agentes incluyen inhibidores de la ACE, tales como quinapril, perindopril, ramipril, captopril,trandolapril, fosinopril, lisinopril, moexipril y enalapril; antagonistas de los receptores de angiotensina II, tales como candesartán, irbesartán, losartán, valsartán y telmisartán; derivados del ácido fíbrico, tales como clofibrato y gemfibrozilo; inhibidores de la HMG Co-A reductasa, tales como cerivastatina, fluvastatina, atorvastatina, lovastatina, pravastatina, simvastatina; agentes bloqueantes beta-adrenérgicos, tales como sotalol, timolol, esmolol, carteolol, propranolol, betaxolol, penbutolol, nadolol, acebutolol, atenolol, metoprolol y bisoprolol; bloqueantes de los canales de calcio, tales como nifedipino, verapamilo, nicardipino, diltiazem, nimodipino, amlodipino, felodipino, nisoldipino y bepridil; antioxidantes; anticoagulantes tales como, warfarina, dalteparina, heparina, enoxaparina y danaparoiide; y agentes útiles en terapia de sustitución hormonal que contienen estrógenos, tales como estrógenos conjugados,
- 50 etinil-estradiol, 17-beta-estradiol, estradiol y estropipato. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. 5.288.711 y el documento WO 01/97809 para métodos y materiales que pueden adaptarse al uso de rapálogos de esta invención para tratar diversas enfermedades, incluyendo enfermedades hiperproliferativas y otras vasculares.
- 55 Los compuestos de esta invención también pueden usarse como agentes neurotróficos, y pueden ser particularmente útiles en la promoción de regeneración neuronal y recuperación funcional y en la estimulación del crecimiento de neuritas y por tanto en el tratamiento de diversos estados neuropatológicos, incluyendo daño a nervios periféricos y al sistema nervioso central provocado por lesión física (por ejemplo, lesión y traumatismo de la médula espinal, lesión o daño de nervios ciáticos o faciales), enfermedad (por ejemplo, neuropatía diabética), quimioterapia contra el cáncer (por ejemplo, mediante alcaloides de la vinca y doxorubicina), daño cerebral asociado con ictus e isquemia asociada con ictus, y trastornos neurológicos incluyendo, pero sin limitarse a, diversos
- 60 trastornos neurológicos y neuropáticos periféricos relacionados con neurodegeneración incluyendo, pero sin
- 65

limitarse a: neuralgia del trigémino, neuralgia del glossofaríngeo, parálisis de Bell, miastenia grave, distrofia muscular, esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular progresiva, atrofia muscular heredada bulbar progresiva, síndromes de hernia, ruptura o prolapsos de discos intervertebrales, espondilosis cervical, trastornos del plexo, síndromes de destrucción de la abertura torácica superior, neuropatías periféricas tales como las provocadas por plomo, acrilamidas, gamma-dicetonas (neuropatía por inhalación de pegamento), disulfuro de carbono, dapsona; garrapatas, porfiria, síndrome de Guillain-Barre, demencia, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y corea de Huntington.

#### 5. Uso para prevenir la reestenosis; uso con endoprótesis u otros dispositivos

Un rapálogo de esta invención puede usarse por sí mismo o junto con ácido micofenólico, por ejemplo, mediante la adaptación de los métodos y materiales dados a conocer en la patente de EE.UU. n.º 5.665.728, en el tratamiento o la reducción del riesgo o la gravedad de hiperplasia de células de músculo liso de la íntima, reestenosis y oclusión vascular en un mamífero, particularmente tras lesión vascular mediada o bien biológica o bien mecánicamente, o en estados que predispondrán a un mamífero a padecer tal lesión vascular. La lesión vascular mediada biológicamente incluye lesión atribuida a trastornos infecciosos incluyendo endotoxinas y virus del herpes tales como citomegalovirus; trastornos metabólicos tales como aterosclerosis; y lesión vascular que resulta de hipotermia e irradiación, entre otros. La lesión vascular mediada mecánicamente incluye, entre otros, lesión vascular provocada por procedimientos de cateterismo o procedimientos de raspado vascular tales como angioplastia coronaria transluminal percutánea; cirugía vascular; cirugía de trasplante; tratamiento con láser; y otros procedimientos invasivos que perturban la integridad del endotelio o la íntima vascular. Por tanto, solo o en combinación con ácido micofenólico, un rapálogo de esta invención puede usarse en la prevención de reestenosis tras procedimientos invasivos que perturban el revestimiento endotelial vascular, tales como procedimientos de angioplastia coronaria transluminal percutánea, cateterismo vascular, raspado vascular, cirugía vascular o tratamiento con láser.

Una aplicación de particular interés implica el uso de un rapálogo de esta invención para tratar o reducir la probabilidad de reestenosis tal como se produce en una parte de los pacientes tras un procedimiento de angioplastia. Cuando se usan en tales métodos, los compuestos de esta invención pueden administrarse antes del procedimiento de angioplastia, durante el procedimiento, de manera posterior al procedimiento, o cualquier combinación de los anteriores. Resulta de gran interés el uso de un rapálogo de esta invención administrado sobre o en una endoprótesis (u otro dispositivo insertado o implantado) para reducir las posibilidades de reestenosis tras la introducción del dispositivo. El uso de un rapálogo de esta invención junto con una endoprótesis puede lograrse mediante la adaptación de los métodos y materiales usados para la administración de otros fármacos, especialmente rapamicina, usando tales creaciones, por ejemplo, tal como se da a conocer en las patentes de EE.UU. n.ºs 5.516.781; 6.153.252; 5.665.728; 5.646.160; 5.563.146; y 5.516.781 así como en las solicitudes internacionales de patente publicadas WO 01/01957, 01/49338, 01/87263, 01/87342, 01/87372, 01/87373, 01/87374, 01/87375 y 01/87376 y otros documentos de patente referentes a endoprótesis y otros dispositivos que portan fármaco indicados en otra parte en el presente documento. Los rapálogos de esta invención son ampliamente compatibles a lo largo de la gama de diseños de endoprótesis y de métodos y materiales para el recubrimiento o carga de los mismos con fármaco. La carga de tales dispositivos médicos con un rapálogo de esta invención, dispositivos médicos cargados con un rapálogo de esta invención y la inserción de un dispositivo de este tipo cargado con un rapálogo de este tipo están todos abarcados por esta invención.

En términos generales, un dispositivo que porta rapálogo de esta invención comprende una estructura expansible que puede implantarse dentro de una luz corporal y un medio sobre o dentro de la estructura para liberar un compuesto de esta invención, en algunos casos a una velocidad preseleccionada. La liberación del compuesto puede ser a velocidades en un intervalo de desde 5 µg/día hasta 200 µg/día, preferiblemente en un intervalo de desde 10 µg/día hasta 60 µg/día. La cantidad total de compuesto liberado estará en algunos casos en un intervalo de desde 100 µg hasta 10 mg, preferiblemente en un intervalo de desde 300 µg hasta 2 mg, más preferiblemente en un intervalo de desde 500 µg hasta 1,5 mg.

La estructura expansible puede estar en forma de una endoprótesis, que mantiene adicionalmente permeabilidad luminal, o puede estar en forma de un injerto, que protege adicionalmente o potencia la resistencia de una pared luminal. La estructura expansible puede ser expansible radialmente y/o autoexpansible y es preferiblemente adecuada para la colocación luminal en una luz corporal. El sitio de implantación puede ser cualquier vaso sanguíneo en la vasculatura del paciente, incluyendo venas, arterias, aorta, e incluyendo particularmente arterias coronarias y periféricas, así como injertos, derivaciones, fístulas y similares, implantados previamente u otras luces corporales, tales como el conducto biliar, u otros órganos, tales como órganos, nervios, glándulas, conductos, y similares. Una endoprótesis a modo de ejemplo para su uso en la presente invención es la endoprótesis coronaria disponible comercialmente Duraflex (Avantec).

Por "expansible radialmente", quiere decirse que el dispositivo o segmento del mismo puede convertirse de una configuración de pequeño diámetro en una configuración habitualmente cilíndrica, expandida radialmente, lo que se logra cuando se implanta el dispositivo en un sitio diana deseado. El dispositivo puede tener una mínima resiliencia, por ejemplo, ser maleable, requiriendo por tanto la aplicación de una fuerza interna para expandirse y colocarlo en el sitio diana. Normalmente, la fuerza de expansión puede proporcionarse mediante un balón, tal como el balón de un

catéter de angioplastia para procedimientos vasculares. El dispositivo puede proporcionar eslabones sigmoidales entre segmentos unitarios sucesivos que son particularmente útiles para potenciar la flexibilidad y ondulabilidad de la endoprótesis.

- 5 Alternativamente, el dispositivo puede ser autoexpansible. Tales estructuras autoexpansibles se proporcionan usando un material con resiliencia, tal como un acero inoxidable templado o una aleación superelástica tal como una aleación Nitinol™, y formando el segmento de cuerpo de modo que presente su diámetro deseado, expandido radialmente cuando está sin constreñir, es decir liberado de las fuerzas de constricción radial de una funda. Para permanecer anclado a la luz corporal, el dispositivo permanecerá parcialmente constreñido por la luz. Puede seguirse la pista del dispositivo autoexpansible y colocarse en su configuración constreñida radialmente, por ejemplo, situando el dispositivo dentro de un tubo o funda de colocación y retirando la funda en el sitio diana.

- 15 Las dimensiones del dispositivo dependerán de su uso pretendido. Normalmente, el dispositivo tendrá una longitud en un intervalo de desde aproximadamente 5 mm hasta 100 mm, siendo habitualmente de desde aproximadamente 8 mm hasta 50 mm, para aplicaciones vasculares. El pequeño diámetro (colapsado radialmente) del dispositivo cilíndrico estará habitualmente en un intervalo de desde aproximadamente 0,5 mm hasta 10 mm, estando más habitualmente en un intervalo de desde 0,8 mm hasta 8 mm para aplicaciones vasculares. El diámetro expandido estará habitualmente en un intervalo de desde aproximadamente 1,0 mm hasta 100 mm, estando preferiblemente en un intervalo de desde aproximadamente 2,0 mm hasta 30 mm para aplicaciones vasculares. El dispositivo tendrá un grosor en un intervalo de desde 0,025 mm hasta 2,0 mm, estando preferiblemente en un intervalo de desde 0,05 mm hasta 0,5 mm.

- 25 Los segmentos del dispositivo pueden formarse de materiales convencionales usados para injertos y endoprótesis de luces corporales, estando formados normalmente de metales maleables, tales como acero inoxidable de la serie 300, o de metales con resiliencia, tales como aleaciones superelásticas y de memoria de forma, por ejemplo, aleaciones Nitinol™, aceros inoxidables para resortes, y similares. Es posible que los segmentos de cuerpo pudieran formarse de combinaciones de estos metales, o combinaciones de estos tipos de metales y otros materiales no metálicos. Se ilustran estructuras adicionales para los segmentos unitarios o de cuerpo de la presente invención en las patentes de EE.UU. n.ºs 5.195.417; 5.102.417; y 4.776.337, cuyas divulgaciones completas se incorporan al presente documento como referencia. Se describen endoprótesis a modo de ejemplo y la liberación retardada o escalonada de fármaco, incluyendo a velocidades preseleccionadas, en la patente de EE.UU. n.º 6.471.980, cuya divulgación completa también se incorpora al presente documento como referencia.

- 35 En una realización ilustrativa, el medio para liberar el compuesto comprende una matriz formada sobre al menos una parte de la estructura. La matriz puede estar compuesta de un material que es polímero degradable, parcialmente degradable, no degradable, material sintético o natural. El compuesto puede disponerse dentro de la matriz o adyacente a la matriz en un patrón que proporciona una velocidad de liberación deseada. Alternativamente, el compuesto puede disponerse sobre o dentro de la estructura expansible adyacente a la matriz para proporcionar la velocidad de liberación deseada. Los materiales de matriz biodegradable o bioerosionable adecuados incluyen polianhídridos, poliolefinas, policaprolactona, poli(acetato de vinilo), polihidroxibutirato-poli(hidroxivalerato), poli(ácido glicólico), copolímeros de poli(ácido láctico)/poli(ácido glicólico) y otros poliésteres alifáticos, entre una amplia variedad de sustratos poliméricos empleados para este fin. Un material de matriz biodegradable preferido a menudo es un copolímero de poli(ácido 1-láctico) y poli-ε-caprolactona. materiales de matriz no degradable adecuados incluyen poliuretano, polietilenoimina, acetato-butirato de celulosa, copolímero de etileno-alcohol vinílico, o similar.

- 50 La matriz de polímero puede degradarse mediante degradación volumétrica (es decir, en la que la matriz se degrada en su totalidad) o mediante degradación superficial (es decir, en la que se degrada una superficie de la matriz a lo largo del tiempo a la vez que se mantiene la integridad volumétrica). A veces se prefieren matrices hidrófobas ya que tienden a liberar compuesto a una velocidad de liberación predeterminada. Alternativamente, puede usarse una matriz no degradable para liberar la sustancia por difusión.

- 55 En algunos casos, la matriz puede comprender múltiples capas adyacentes de material de matriz igual o diferente, en la que al menos una capa contiene compuesto y otra capa contiene compuesto, al menos una sustancia distinta del compuesto, o no contiene sustancia. Por ejemplo, el compuesto dispuesto dentro de una capa degradable superior de la matriz se libera a medida que se degrada la capa de matriz superior y una segunda sustancia dispuesta dentro de una capa de matriz no degradable adyacente se libera principalmente por difusión. En algunos casos, pueden disponerse múltiples sustancias dentro de una capa de matriz individual. La sustancia opcional usada además del compuesto de esta invención puede seleccionarse, por ejemplo, de las enumeradas en el documento US 6.471.980.

- 65 Adicionalmente, puede formarse una barrera limitante de la velocidad adyacente a la estructura y/o la matriz. Tales barreras limitantes de la velocidad pueden ser no erosionables o no degradables, tales como silicona, politetrafluoroetileno (PTFE), Parylene y PARYLAST™, y controlan la velocidad de flujo de liberación que pasa a través de la barrera limitante de la velocidad. En tal caso, el compuesto puede liberarse por difusión a través de la barrera limitante de la velocidad. Además, puede formarse una capa biocompatible o compatible con la sangre, tal

como polietilenglicol (PEG), sobre la matriz o barrera limitante de la velocidad para hacer que la prótesis de administración sea más biocompatible.

5 En otra realización, el medio para liberar el compuesto puede comprender una barrera limitante de la velocidad formada sobre al menos una parte de la estructura. Puede disponerse compuesto dentro de la barrera o adyacente a la barrera. La barrera limitante de la velocidad puede tener un grosor suficiente de modo que proporcione la velocidad de liberación deseada de compuesto. Las barreras limitantes de la velocidad tendrán normalmente un grosor total en un intervalo de desde 0,01 micrómetros hasta 100 micrómetros, preferiblemente en un intervalo de desde 0,1 micrómetros hasta 10 micrómetros, para proporcionar liberación de compuesto a la velocidad de liberación deseada. La barrera limitante de la velocidad es normalmente no erosionable tal como silicona, PTFE, PARYLAST™, poliuretano, Parylene, o una combinación de los mismos y la liberación de compuesto a través de tales barreras limitantes de la velocidad se consigue habitualmente por difusión. En algunos casos, la barrera limitante de la velocidad puede comprender múltiples capas adyacentes de material de barrera igual o diferente, en la que al menos una capa contiene compuesto y otra capa contiene compuesto, al menos una sustancia distinta del compuesto, o no contiene sustancia. Múltiples sustancias también pueden estar contenidas dentro de una única capa de barrera.

20 En otra realización, el medio para liberar la sustancia comprende un depósito sobre o dentro de la estructura que contiene compuesto y una cubierta sobre el depósito. La cubierta puede ser degradable o parcialmente degradable a lo largo de un periodo de tiempo preseleccionado de modo que proporcione la velocidad de liberación de compuesto deseada. La cubierta puede comprender una matriz de polímero, tal como se describió anteriormente, que contiene compuesto dentro del depósito. Una barrera limitante de la velocidad, tal como silicona, puede formarse adicionalmente adyacente al depósito y/o la cubierta, permitiendo por tanto que se libere compuesto por difusión a través de la barrera limitante de la velocidad. Alternativamente, la cubierta puede ser una matriz no degradable o una barrera limitante de la velocidad.

30 Otro dispositivo de esta invención comprende una estructura expansible que puede implantarse dentro de una luz corporal con una barrera limitante de la velocidad sobre la estructura que permite la liberación de compuesto a una velocidad preseleccionada, por ejemplo, una velocidad seleccionada para inhibir la proliferación de células del músculo liso. La barrera comprende múltiples capas, en la que cada capa comprende PARYLAST™ o Parylene y tiene un grosor en un intervalo de 50 nm - 10 micrómetros. Al menos una capa contiene compuesto, y otra capa contiene compuesto, al menos una sustancia distinta del compuesto, o no contiene sustancia.

35 Otro dispositivo de este tipo es una prótesis vascular que comprende una estructura expansible, una fuente de compuesto sobre o dentro de la estructura, y opcionalmente una fuente de al menos otra sustancia además del compuesto sobre o dentro de la estructura. El compuesto se libera de la fuente cuando la estructura expansible se implanta en un vaso sanguíneo. La sustancia adicional opcional también se libera de su fuente cuando la estructura expansible se implanta en un vaso sanguíneo. Cada fuente puede comprender una matriz, membrana limitante de la velocidad, depósito, u otro medio de control de la velocidad tal como se describe en el presente documento. Los ejemplos de la sustancia adicional opcional incluyen una sustancia inmunosupresora (por ejemplo, ácido micofenólico o un análogo del mismo), agente antiplaquetario, agente antitrombótico o agente de IIb/IIIa tal como se da a conocer en el documento US 6.471.980.

45 Por tanto, esta invención proporciona métodos para inhibir la reestenosis en un vaso sanguíneo tras la recanalización del vaso sanguíneo. Por ejemplo, un método incluye implantar una prótesis vascular, que porta un compuesto de esta invención, en la luz corporal tal como un vaso sanguíneo coronario o periférico, por ejemplo, para impedir el cierre de nuevo del vaso. El compuesto se libera entonces, en algunos casos a una velocidad seleccionada para inhibir la proliferación de células del músculo liso. La liberación del compuesto puede producirse inmediatamente tras la introducción o expansión de la endoprótesis, o la liberación puede retardarse. Por tanto, en algunos casos puede retardarse la liberación sustancial de compuesto durante al menos una hora tras la implantación de la prótesis. La liberación retardada desde su depósito puede proporcionarse usando un material que se degrada al menos parcialmente en un entorno vascular a lo largo de esa hora. En algunos casos, puede ralentizarse la liberación mediante el uso de una matriz que se degrada al menos parcialmente en un entorno vascular a lo largo de esa hora. En otros casos, puede ralentizarse la liberación con una matriz no degradable o barrera limitante de la velocidad que permite la difusión de compuesto a través de dicha matriz no degradable o barrera después de esa hora. La liberación de compuesto será normalmente a velocidades en un intervalo de desde 5 µg/día hasta 200 µg/día, preferiblemente en un intervalo de desde 10 µg/día hasta 60 µg/día. Normalmente, se libera compuesto en un periodo de tiempo de 1 día a 45 días en un entorno vascular, preferiblemente en un periodo de tiempo de 7 días a 21 días en un entorno vascular.

60 El dispositivo puede recubrirse con una matriz o barrera mediante pulverización, inmersión, deposición o pintado. Tales recubrimientos pueden no ser uniformes. Por ejemplo, el recubrimiento puede aplicarse sólo a un lado de la prótesis o el recubrimiento puede ser más grueso en un lado. Asimismo, el dispositivo también puede incorporar el compuesto en virtud de recubrimiento, pulverización, inmersión, deposición, unión química o pintado del compuesto sobre todas las superficies o superficies parciales del dispositivo.

65

En los casos en los que el dispositivo también porta al menos una sustancia adicional además del compuesto, el compuesto puede liberarse en un periodo de tiempo de 1 día a 45 días y la sustancia o sustancias adicionales pueden liberarse en un periodo de tiempo de 2 días a 3 meses. Por tanto, la liberación del compuesto y la(s) sustancia(s) adicional(es) pueden ser simultáneas o secuenciales.

5 La cantidad total del compuesto liberado depende en parte del nivel y la cantidad de lesión del vaso. En algunas realizaciones, la velocidad de liberación estará en un intervalo de desde 100 mg hasta 10 mg, preferiblemente en un intervalo de desde 300 mg hasta 2 mg, más preferiblemente en un intervalo de desde 500 mg hasta 1,5 mg. Se prefiere a menudo que la velocidad de liberación durante la fase inicial sea de desde 0 µg/día hasta 50 µg/día, habitualmente desde 5 µg/día hasta 30 µg/día. La velocidad de liberación de compuesto durante la fase posterior será mucho mayor, estando normalmente en el intervalo de desde 5 µg/día hasta 200 µg/día, habitualmente desde 10 µg/día hasta 100 µg/día. Por tanto, la velocidad de liberación inicial será normalmente de desde el 0% hasta el 99% de las velocidades de liberación posteriores, habitualmente desde el 0% hasta el 90%, preferiblemente desde el 0% hasta el 75%. La concentración en tejido de mamífero del compuesto en una fase inicial estará normalmente dentro de un intervalo de desde 0 µg/mg de tejido hasta 100 µg/mg de tejido, preferiblemente desde 0 µg/mg de tejido hasta 10 µg/mg de tejido. La concentración en tejido de mamífero de la sustancia en una fase posterior estará normalmente dentro de un intervalo de desde 1 picogramo/mg de tejido hasta 100 µg/mg de tejido, preferiblemente desde 1 nanogramo/mg de tejido hasta 10 µg/mg de tejido.

20 La duración de la fase inicial, fases posteriores y cualquier otra fase adicional puede variar. Normalmente, la fase inicial será lo suficientemente larga como para permitir la endotelización o celularización inicial de al menos parte de la endoprótesis, siendo habitualmente de menos de 12 semanas, más habitualmente desde 1 hora hasta 8 semanas, más preferiblemente desde 12 horas hasta 2 semanas, lo más preferiblemente desde 1 día hasta 1 semana. Las duraciones de las fases posteriores también pueden variar, siendo normalmente de desde 4 horas hasta 24 semanas, más habitualmente desde 1 día hasta 12 semanas, más preferiblemente en un periodo de tiempo de 2 días a 8 semanas en un entorno vascular, lo más preferiblemente en un periodo de tiempo de 3 días a 50 días en un entorno vascular.

30 En algunos casos, el perfil de liberación del compuesto a lo largo de un tiempo predeterminado puede permitir una mayor velocidad de liberación durante una fase inicial, normalmente de desde 40 µg/día hasta 300 µg/día, habitualmente desde 40 µg/día hasta 200 µg/día. En tales casos, la liberación de compuesto durante la fase posterior será mucho menor, estando normalmente en el intervalo de desde 1 µg/día hasta 100 µg/día, habitualmente desde 10 µg/día hasta 40 µg/día. La duración del periodo de la fase inicial para la mayor velocidad de liberación estará en un intervalo de desde 1 día hasta 7 días, estando el periodo de la fase posterior para la menor velocidad de liberación en un intervalo de desde 2 días hasta 45 días. La concentración en tejido de mamífero de la sustancia en la fase inicial de 1-7 días estará normalmente dentro de un intervalo de desde 10 nanogramos/mg de tejido hasta 100 µg/mg de tejido. La concentración en tejido de mamífero de la sustancia en la fase posterior de 2-45 días estará normalmente dentro de un intervalo de desde 0,1 nanogramos/mg de tejido hasta 10 µg/mg de tejido. En otros casos, la liberación del compuesto puede ser constante a una velocidad de entre 5 µg/día y 200 µg/día para una duración de tiempo en el intervalo de desde 1 día hasta 45 días. La concentración en tejido de mamífero a lo largo de este periodo de 1-45 días estará normalmente dentro de un intervalo de desde 1 nanogramos/mg de tejido hasta 10 µg/mg de tejido.

45 En una realización, el medio para liberar el compuesto comprende una matriz o capa de recubrimiento formada sobre al menos una parte del dispositivo, en el que la matriz se compone de material que experimenta degradación. El compuesto puede disponerse dentro de la matriz en un patrón que proporciona la velocidad de liberación deseada. Alternativamente, el compuesto puede disponerse dentro de o sobre el dispositivo bajo la matriz para proporcionar la velocidad de liberación deseada.

50 Se apreciará que el dispositivo actúa como soporte mecánico para la matriz de administración, permitiendo por tanto que se utilice una amplia variedad de materiales como matriz de administración. Los materiales de matriz biodegradables o bioerosionables adecuados incluyen polianhídridos, poliortoésteres, policaprolactona, poli(acetato de vinilo), polihidroxibutirato-polihidroxivalerato, poli(ácido glicólico), copolímeros de poli(ácido láctico)/poli(ácido glicólico) y otros poliésteres alifáticos, entre una amplia variedad de sustratos poliméricos sintéticos o naturales empleados para este fin.

60 Un ejemplo de un material de matriz biodegradable útil en la puesta en práctica de la presente invención es un copolímero de poli-(ácido 1-láctico) (que tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 200.000 daltons) y poli-ε-caprolactona (que tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 30.000 daltons). La poli-ε-caprolactona (PCL) es un polímero semicristalino con un punto de fusión en un intervalo de desde 59°C hasta 64°C y un tiempo de degradación de aproximadamente 2 años. Por tanto, puede combinarse poli-(ácido 1-láctico) (PLLA) con PCL para formar una matriz que genera la velocidad de liberación deseada. Una razón preferida de PLLA con respecto a PCL es de 75:25 (PLLA/PCL). Tal como describe generalmente Rajasubramanian *et al.* en *ASAIO Journal*, 40, págs. M584-589 (1994), cuya divulgación completa se incorpora al presente documento como referencia, una combinación de copolímero de PLLA/PCL 75:25 presenta propiedades de resistencia y tracción

suficientes como para permitir un recubrimiento más fácil de la matriz de PLLA/PLA sobre el andamiaje. Adicionalmente, una matriz de copolímero de PLLA/PCL 75:25 permite una administración de fármaco controlada a lo largo de un periodo de tiempo predeterminado ya que el menor contenido en PCL hace que la combinación de copolímero sea menos hidrófoba mientras que un mayor contenido en PLLA conduce a una porosidad volumétrica reducida.

La matriz de polímero puede degradarse mediante degradación volumétrica, en la que se degrada la matriz en su totalidad, o preferiblemente mediante degradación superficial, en la que sólo se degrada una superficie de la matriz a lo largo del tiempo a la vez que se mantiene la integridad volumétrica. Alternativamente, la matriz puede componerse de un material no degradable que libera el compuesto por difusión. Los materiales de matriz no degradables adecuados incluyen poliuretano, polietilenimina, acetato-butirato de celulosa, copolímero de etileno-alcohol vinílico, o similar.

La matriz puede comprender múltiples capas, conteniendo cada capa el compuesto, una sustancia diferente, o no conteniendo sustancia. Una capa superior puede no contener sustancia mientras que una capa inferior contiene el compuesto. A medida que se degrada la capa superior, aumenta la velocidad de administración de compuesto. Adicionalmente, la presente invención puede emplear una barrera limitante de la velocidad formada entre el dispositivo y la matriz, o puede formarse opcionalmente sobre la matriz. Tales barreras limitantes de la velocidad pueden ser no erosionables y controlar la velocidad de flujo de liberación por difusión del compuesto a través de la barrera. Las barreras limitantes de la velocidad no erosionables adecuada incluyen silicona, PTFE, PARYLAST™, y similares. Además, una capa tal como polietilenglicol (PEG), y similares, puede formarse sobre la matriz para hacer que el dispositivo de administración sea más biocompatible.

En otra realización, el medio para liberar el compuesto comprende un depósito sobre o dentro del dispositivo que contiene el compuesto y una cubierta sobre el depósito. La cubierta es degradable a lo largo de un periodo de tiempo preseleccionado de modo que la liberación del compuesto desde el depósito comienza sustancialmente después del periodo de tiempo preseleccionado. La cubierta, en este ejemplo, puede comprender una matriz de polímero, tal como se describió anteriormente, que contiene el compuesto dentro del depósito de modo que se repone la matriz mediante el compuesto dentro del depósito. Una barrera limitante de la velocidad puede formarse adicionalmente entre el depósito y la cubierta, o encima de la cubierta, permitiendo por tanto que el compuesto se libere por difusión a través de la barrera limitante de la velocidad.

En funcionamiento, métodos para la administración del compuesto comprenden proporcionar una prótesis luminal que incorpora o que porta el compuesto. La prótesis se recubre con una matriz que experimenta degradación en un entorno vascular. La prótesis se implanta en una luz corporal de modo que al menos una parte de la matriz se degrada a lo largo de un periodo de tiempo predeterminado y la liberación sustancial de compuesto comienza después de haberse degradado la parte. Opcionalmente, la prótesis puede recubrirse con una barrera limitante de la velocidad o matriz no degradable que tiene un grosor suficiente como para permitir la difusión del compuesto a través de la barrera o matriz no degradable. La prótesis se implanta en una luz corporal de modo que la liberación sustancial de compuesto desde la barrera o matriz no degradable comienza, preferiblemente después de un periodo de tiempo preseleccionado. Como los efectos proliferativos de reestenosis se producen habitualmente en el plazo de unas pocas semanas a unos pocos meses, la liberación sustancial del compuesto en algunas realizaciones comenzará en un periodo de tiempo de 4 horas a 24 semanas en un entorno vascular, preferiblemente en un periodo de tiempo de 1 día a 12 semanas en un entorno vascular, más preferiblemente en un periodo de tiempo de 2 días a 8 semanas en un entorno vascular, lo más preferiblemente en un periodo de tiempo de 3 días a 50 días en un entorno vascular.

El compuesto puede incorporarse en un depósito en o sobre el dispositivo. En esta configuración, el depósito está cubierto por la matriz de modo que la liberación de compuesto comienza sustancialmente después de que se haya degradado la matriz suficientemente como para descubrir el depósito. Alternativamente, el compuesto puede disponerse en la matriz, recubriendo la matriz un dispositivo. En esta configuración, una capa externa de la matriz está sustancialmente libre del compuesto de modo que la liberación de compuesto no comenzará sustancialmente hasta que se haya degradado la capa externa. Opcionalmente, el compuesto puede disponerse dentro de o sobre una parte del dispositivo recubierta por la matriz.

La prótesis puede incorporar el compuesto mediante recubrimiento, pulverización, inmersión, deposición o pintado del compuesto sobre la prótesis. Habitualmente, el compuesto se disuelve en un disolvente para preparar una disolución. Los disolventes incluyen disolventes acuosos (por ejemplo, agua con tampones de pH, agente de ajuste del pH, sales orgánicas y sales inorgánicas), alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, propanol, isopropanol, hexanol y glicoles), nitrilos (por ejemplo, acetonitrilo, benzonitrilo y butironitrilo), amidas (por ejemplo, formamida y N-dimetilformamida), cetonas, ésteres, éteres, DMSO, gases (por ejemplo, dióxido de carbono), y similares. Por ejemplo, la prótesis puede pulverizarse con o sumergirse en la disolución y secarse de modo que queden cristales del compuesto sobre una superficie de la prótesis. Alternativamente, la prótesis puede recubrirse con la disolución de matriz mediante pulverización, inmersión, deposición o pintado de la disolución de polímero sobre la prótesis. Habitualmente, el polímero se pulveriza finamente sobre la prótesis mientras que se hace rotar la prótesis en un mandril. Puede controlarse el grosor del recubrimiento de matriz mediante un periodo de tiempo de pulverización y

una velocidad de rotación del mandril. El grosor del recubrimiento de matriz está normalmente en un intervalo de desde 0,01 micrómetros hasta 100 micrómetros, preferiblemente en un intervalo de desde 0,1 micrómetros hasta 10 micrómetros. Una vez que se ha recubierto la prótesis con el compuesto/matriz, la endoprótesis puede colocarse en un horno o a vacío para completar la evaporación del disolvente.

5 Por ejemplo, se pulveriza una endoprótesis de acero inoxidable Duraflex.TM, que tiene dimensiones de 3,0 mm - 14 mm con una disolución del compuesto 25 mg/ml en un disolvente del 100% de etanol, metanol, acetona, acetato de etilo, cloruro de metileno u otro. La endoprótesis se seca y el disolvente se evapora dejando el compuesto sobre una superficie de la endoprótesis. Un copolímero de PLLA/PCL 75:25 (vendido comercialmente por Polysciences) se prepara en 1,4-dioxano (vendido comercialmente por Aldrich Chemicals). La endoprótesis cargada con compuesto se carga en un mandril que rota a 200 rpm y una pistola pulverizadora (vendida comercialmente por Binks Manufacturing) dispensa la disolución de copolímero en una pulverización fina sobre la endoprótesis cargada con compuesto a medida que rota durante un periodo de 10-30 segundos. La endoprótesis se sitúa entonces en un

15 Alternativamente, en otra realización, pueden prepararse endoprótesis que portan un rapálogo de esta invención y usarse en analogía a los métodos de Sousa *et al*, Circulation, 2001; 103:192; Sousa *et al*, Circulation, 2001; 104:2007; y Morice *et al*. N Engl J Med 2002;346(23):1773-1780, pero sustituyendo sirolimús por el rapálogo. Por tanto, pueden tratarse pacientes con arteriopatía coronaria nativa y angina de pecho con la implantación de una endoprótesis Bx VELOCITY de elución de un único rapálogo.

20 En esta realización, el rapálogo se combina en una mezcla de polímeros no erosionables (véanse por ejemplo, Kindt-Larsen *et al*, J Appl Biomater. 1995;6:75-83; Revell *et al*, Biomateriales. 1998;19:1579-1586), y se aplica una capa de 5 µm de grosor de matriz de polímero-rapálogo sobre la superficie de la endoprótesis Bx VELOCITY (Cordis), una endoprótesis expansible de balón, de acero inoxidable 316L, cortada con láser. Ésta se denomina formulación de liberación rápida [FR, *fast release*].

El fármaco estará casi completamente eluido a los 15 días después de la implantación en la formulación FR.

30 Para crear una formulación de liberación lenta [SR, *slow release*], se aplica otra capa de polímero libre de fármaco encima de la matriz de polímero-fármaco para introducir una barrera a la difusión y prolongar la liberación de fármaco hasta >28 días. Aproximadamente el 80% del rapálogo debe liberarse de la formulación SR en el plazo de aproximadamente 30 días.

35 En esta realización, las endoprótesis, independientemente de la composición del recubrimiento, se cargan con una cantidad fijada de fármaco por unidad de área superficial de metal (140 µg de fármaco/cm<sup>2</sup>).

40 Basándose en la experiencia con sirolimús, los niveles de fármaco en sangre completa deben alcanzar un máximo en 1 hora (~2 - 3 ng/ml, FR; ~1 ng/ml, SR) después de la implantación y disminuir por debajo del límite inferior de cuantificación en aproximadamente 72 horas. Teniendo en cuenta que los pacientes con trasplante renal mantienen niveles de rapamicina en sangre crónicos de entre 8 y 17 ng/ml, el nivel en sangre máximo después de la implantación de esta clase de endoprótesis de elución de rapálogo debe ser insignificante.

45 Las endoprótesis Bx VELOCITY que portan rapálogo se implantan según la práctica convencional, después de la dilatación previa de balón y seguido por el balón a alta presión (>12 atmósferas) después de la dilatación. Las endoprótesis en esta realización son de 18 mm de largo y de 3 a 3,5 mm de diámetro. Puede administrarse heparina para mantener el tiempo de coagulación activada >300 segundos. Los pacientes también pueden recibir aspirina (325 mg/d, de manera indefinida) empezando al menos 12 horas antes del procedimiento y una dosis de carga de 300 mg de clopidogrel inmediatamente después de la implantación de la endoprótesis y 75 mg/d durante 60 días.

50 En otras realizaciones, el medio para liberar el compuesto puede comprender un depósito sobre o dentro del andamiaje que contiene el compuesto y una fuente de energía externa para dirigir la energía a la prótesis después de la implantación para efectuar la liberación del compuesto. Una matriz puede formarse sobre el depósito para contener el compuesto dentro del depósito. Alternativamente, el medio para liberar el compuesto puede comprender una matriz formada sobre al menos una parte del andamiaje, en el que el compuesto se dispone bajo o dentro de la matriz, y una fuente de energía externa para dirigir energía a la prótesis después de la implantación para efectuar la liberación del compuesto. Las fuentes de energía externas adecuadas incluyen ultrasonidos, obtención de imágenes mediante resonancia magnética, campo magnético, radiofrecuencia, cambio de temperatura, electromagnéticas, rayos X, radiación, calor, radiación gamma y microondas.

60 Por ejemplo, puede usarse una fuente de energía externa de ultrasonidos que tiene una frecuencia en un intervalo de desde 20 kHz hasta 100 MHz, preferiblemente en un intervalo de desde 0,1 MHz hasta 20 MHz, y un nivel de intensidad en un intervalo de desde 0,05 W/cm<sup>2</sup> hasta 10 W/cm<sup>2</sup>, preferiblemente en un intervalo de desde 0,5 W/cm<sup>2</sup> hasta 5 W/cm<sup>2</sup>. La energía de ultrasonidos debe dirigirse a la prótesis desde una distancia en un intervalo de desde 1 mm hasta 30 cm, preferiblemente en un intervalo de desde 1 cm hasta 20 cm. Los ultrasonidos pueden aplicarse de manera continua o pulsarse, durante un periodo de tiempo en un intervalo de desde 5 s hasta

30 minutos, preferiblemente en un intervalo de desde 1 minuto hasta 15 minutos. La temperatura de la prótesis de administración durante este periodo estará en un intervalo de desde 37°C hasta 48°C. Los ultrasonidos pueden usarse para aumentar la porosidad de la prótesis, permitiendo de ese modo la liberación del compuesto desde la prótesis.

5 En una realización, el medio para liberar el compuesto comprende partículas magnéticas acopladas al compuesto y una fuente magnética para dirigir un campo magnético a la prótesis después de la implantación para efectuar la liberación del compuesto. Opcionalmente, el medio para liberar el compuesto puede comprender partículas magnéticas acopladas a una matriz formada sobre el dispositivo y una fuente magnética para dirigir un campo magnético a la prótesis después de la implantación para efectuar la liberación del compuesto. El compuesto puede disponerse bajo o dentro de la matriz. Las partículas magnéticas pueden formarse de perlas magnéticas y tendrán normalmente tienen un tamaño en un intervalo de desde 1 nm hasta 100 nm. La fuente magnética expone la prótesis a su campo magnético a una intensidad normalmente en el intervalo de desde 0,01 T hasta 2 T, que activará las partículas magnéticas, y efectuará de ese modo la liberación del compuesto desde la prótesis.

15 Por tanto, esta invención incluye compuestos para su uso en un método para la administración a una arteria. El método es del tipo en el que se implanta una prótesis en la arteria y la prótesis libera el compuesto. El método implica implantar una prótesis que está programada para comenzar la liberación sustancial del compuesto, comenzando preferiblemente después del crecimiento de al menos una capa de células sobre una parte de la prótesis. Las células comprenderán normalmente células endoteliales, de músculo liso o inflamación, indicando la aparición de reestenosis.

25 También se proporciona un método para colocar la prótesis de administración en una luz corporal para administrar el compuesto en la misma. En un enfoque, se usará normalmente un catéter de dilatación de balón para colocar la prótesis en una región de estenosis en un vaso sanguíneo. La prótesis está soportada inicialmente en su configuración de diámetro colapsado radialmente sobre un balón desinflado del catéter de balón. El catéter de balón se introduce normalmente sobre un hilo guía con orientación fluoroscópica. Los catéteres e hilos guía pueden introducirse a través de sitios de acceso convencionales al sistema vascular, tal como a través de la arteria femoral, o braquial, arterias subclavias o radiales, para el acceso a las arterias coronarias. Después de que se coloque apropiadamente la prótesis de administración dentro de la región de estenosis, se infla el balón para expandir radialmente la prótesis dentro de la región estenótica. Entonces puede desinflarse el balón, y retirarse el catéter sobre el hilo guía. Después de la retirada del hilo guía, se deja en su sitio la prótesis expandida para proporcionar la administración luminal del compuesto tal como se describió anteriormente para inhibir efectos reestenóticos.

35 En general, será posible combinar elementos de las diferentes prótesis y métodos de tratamiento tal como se describió anteriormente. Por ejemplo, una prótesis que tiene medios de depósito para liberar el compuesto puede incorporar además una barrera limitante de la velocidad. Adicionalmente, métodos de la presente invención pueden combinar angioplastia de balón y/u otros tratamientos intervencionistas para resolver un sitio estenótico con los tratamientos de administración del compuesto de manera luminal descritos en el presente documento.

#### 40 Formulaciones, composiciones farmacéuticas, dosificación y administración

Los rapálogos de esta invención pueden existir en forma libre o, cuando sea apropiado, en forma de sal. Los expertos en la técnica conocen bien sales farmacéuticamente aceptables de muchos tipos de compuestos y su preparación. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales no tóxicas convencionales incluyendo las sales de amonio cuaternario formadas por tales compuestos con ácidos o bases inorgánicos u orgánicos.

50 Los compuestos de la invención pueden formar hidratos o solvatos. Los expertos en la técnica saben que los compuestos cargados forman especies hidratadas cuando se liofilizan con agua, o forman especies solvatadas cuando se concentran en una disolución con un disolvente orgánico apropiado.

Esta invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente (o profilácticamente) eficaz de un compuesto de la invención, y uno o más portadores y/u otros excipientes farmacéuticamente aceptables. Los portadores incluyen, por ejemplo, solución salina, solución salina tamponada, dextrosa, agua, glicerol, etanol, y combinaciones de los mismos, y se analizan en mayor detalle a continuación. La composición, si se desea, también puede contener cantidades minoritarias de agentes humectantes o emulsionantes o agentes de tamponamiento del pH. La composición puede ser una disolución líquida, suspensión, emulsión, comprimido, pastilla, cápsula, formulación de liberación sostenida o polvo. La composición puede formularse como un supositorio, con aglutinantes y portadores tradicionales tales como triglicéridos. La formulación oral puede incluir portadores convencionales tales como calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio, etc. La formulación puede implicar mezclado, granulación y compresión o disolución de los componentes según sea apropiado para dar la preparación deseada. En otro enfoque, la composición puede formularse en nanopartículas.

65 El portador farmacéutico empleado puede ser, por ejemplo, o bien un sólido o bien un líquido.

Los portadores sólidos ilustrativos incluyen lactosa, alabastro, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábica, estearato de magnesio, ácido esteárico y similares. Un portador sólido puede incluir una o más sustancias que también pueden actuar como agentes aromatizantes, lubricantes, solubilizadores, agentes de suspensión, cargas, deslizantes, adyuvantes de compresión, aglutinantes o agentes de disgregación de comprimidos; también puede ser un material de encapsulación. En polvos, el portador es un sólido finamente dividido que está en mezcla con el principio activo finamente dividido. En comprimidos, el principio activo se mezcla con un portador que tiene las propiedades de compresión necesarias en proporciones adecuadas, y se compacta en la forma y el tamaño deseados. Los polvos y los comprimidos contienen preferiblemente hasta el 99% del principio activo. Los portadores sólidos adecuados incluyen, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, metil-celulosa, carboximetil-celulosa sódica, polivinilpirrolidina, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio iónico.

Los portadores líquidos ilustrativos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, agua, etc. Se usan portadores líquidos en la preparación de disoluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires y composiciones a presión. El principio activo puede disolverse o suspenderse en un portador líquido farmacéuticamente aceptable tal como agua, un disolvente orgánico, una mezcla de ambos o aceites o grasas farmacéuticamente aceptables. El portador líquido puede contener otros aditivos farmacéuticos adecuados tales como solubilizadores, emulsionantes, tampones, conservantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, colores, reguladores de la viscosidad, estabilizadores o reguladores osmóticos. Los ejemplos adecuados de portadores líquidos para la administración oral y parenteral incluyen agua (que contiene parcialmente aditivos como anteriormente, por ejemplo, derivados de celulosa, preferiblemente disolución de carboximetil-celulosa sódica), alcoholes (incluyendo alcoholes monohidroxilados y alcoholes polihidroxilados, por ejemplo, glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de coco fraccionado y aceite de maní). Para la administración parenteral, el portador también puede ser un éster oleoso tal como oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los portadores líquidos estériles son útiles en composiciones en forma líquida estériles para la administración parenteral. El portador líquido para composiciones a presión puede ser hidrocarburo halogenado u otro propelente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas líquidas que son disoluciones o suspensiones estériles pueden administrarse, por ejemplo, mediante inyección intravenosa, intramuscular, intraperitoneal o subcutánea. La inyección puede ser mediante infusión con un único pulso o gradual, por ejemplo, infusión intravenosa durante 30 minutos. El compuesto también puede administrarse por vía oral en una forma de composición o bien líquida o bien sólida.

El portador o excipiente puede incluir un material de retardo temporal, cuyos ejemplos se conocen bien en la técnica, tales como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, y puede incluir además una cera, etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metacrilato de metilo y similares. Cuando se formula para la administración oral, se ha reconocido que Tween 80 al 0,01% en PHOSAL PG-50 (concentrado de fosfolípidos con 1,2-propilenglicol, A. Nattermann & Cie. GmbH) proporciona una formulación oral aceptable para otros compuestos, y puede adaptarse para formulaciones para diversos compuestos de esta invención.

Por tanto, puede emplearse una amplia variedad de formas farmacéuticas en la administración de compuestos de esta invención. Si se usa un portador sólido, la preparación puede prepararse como comprimidos, situarse en una cápsula de gelatina dura en forma de polvo o microgránulo o en forma de un trocisco o pastilla para chupar. La cantidad de portador sólido variará ampliamente pero será preferiblemente de desde aproximadamente 25 mg hasta aproximadamente 1 g. Si se usa un portador líquido, la preparación estará en forma de jarabe, emulsión, cápsula de gelatina blanda, disolución o suspensión inyectable estéril en una ampolla o un vial o suspensión líquida no acuosa.

Para obtener una forma de dosificación soluble en agua estable, el compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede disolverse en una disolución acuosa de un ácido orgánico o inorgánico, tal como una disolución 0,3 M de ácido succínico o ácido cítrico. Alternativamente, pueden disolverse derivados ácidos en disoluciones básicas adecuadas. Si no está disponible una forma soluble, el compuesto se disuelve en un codisolvente adecuado o combinaciones del mismo. Los ejemplos de tales codisolventes adecuados incluyen, pero no se limitan a, alcohol, propilenglicol, polietilenglicol 300, polisorbato 80, glicerina, ácidos grasos polioxetilados, alcoholes grasos o ésteres de hidroxíácidos grasos de glicerina y similares en concentraciones que oscilan entre el 0-60% del volumen total.

Se conocen diversos sistemas de administración y pueden usarse para administrar el compuesto, o las diversas formulaciones del mismo, incluyendo comprimidos, cápsulas, disoluciones inyectables, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, etc. Los métodos de introducción incluyen pero no se limitan a las vías dérmica, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, pulmonar, epidural, ocular y (tal como se prefiere habitualmente) oral. El compuesto puede administrarse por cualquier vía conveniente o apropiada por lo demás, por ejemplo, mediante infusión o inyección en bolo, mediante absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) o mediante una endoprótesis cargada con fármaco y puede administrarse junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local. Para el tratamiento o la profilaxis de estados nasales, bronquiales o pulmonares, vías de administración preferidas son oral, nasal o mediante un nebulizador o aerosol bronquial.

En determinadas realizaciones, puede ser deseable administrar el compuesto localmente a una zona que necesita

tratamiento; esto puede lograrse mediante, por ejemplo, y no a modo de limitación, infusión local durante cirugía, aplicación tópica, mediante inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio, o por medio de un parche para la piel o endoprótesis u otro implante, siendo dicho implante normalmente de un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluyendo membranas, tales como membranas Sikalastic o fibras.

5 En una realización específica, la composición se formula usando métodos de rutina como una composición farmacéutica para la administración intravenosa a seres humanos. Normalmente, las composiciones para la administración intravenosa son disoluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Cuando sea necesario, la composición también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Generalmente, se suministran los componentes o bien por separado o bien mezclados entre sí en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como polvo liofilizado o concentrado libre de agua en un envase cerrado herméticamente tal como una ampolla o un sobre que indica la cantidad de principio activo. Cuando la composición va a administrarse mediante infusión, puede dispensarse con un frasco de infusión que contiene solución salina o agua de calidad farmacéutica estéril. Cuando la composición se administra mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de solución salina o agua para inyección estéril de modo que los componentes pueden mezclarse antes de la administración.

20 Por ejemplo, una disolución de un rapálogo de esta invención para inyección puede contener de 0,1 a 10 mg/ml, por ejemplo, 1-3 mg/ml, de rapálogo en una disolución de diluyente que contiene Phosal 50 PG (fosfatidilcolina, propilenglicol, mono- y di-glicéridos, etanol, ácidos grasos de soja y palmitato de ascorbilo) y polisorbato 80, que contiene el 0,5 - 4% de etanol, por ejemplo, el 1,5% - 2,5% de etanol. Como otro ejemplo, el diluyente puede contener el 2-8%, por ejemplo, el 5 - 6%, cada uno de propilenglicol USP y polisorbato 80 en agua para inyección. Se ha encontrado que el 5,2% de cada uno funciona bien en algunos casos. Normalmente se procesa una disolución usando métodos y materiales convencionales, incluyendo, por ejemplo, una o más tandas de filtración estéril.

25 Las formulaciones orales que contienen un compuesto de esta invención pueden comprender cualquier forma oral usada de manera convencional, incluyendo comprimidos, cápsulas, formas bucales, trociscos, pastillas para chupar y suspensiones o disoluciones, líquidas orales. Las cápsulas pueden contener mezclas del/de los compuesto(s) activo(s) con cargas y/o diluyentes inertes tales como los almidones farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, almidón de maíz, patata o tapioca), azúcares, agentes edulcorantes artificiales, celulosas en polvo, tales como celulosas cristalinas y microcristalinas, harinas, gelatinas, gomas, etc. Pueden prepararse formulaciones de comprimidos útiles mediante métodos convencionales de compresión, granulación en húmedo o granulación en seco y utilizar diluyentes, agentes de unión, lubricantes, disgregantes, agentes de modificación de la superficie (incluyendo tensioactivos), agentes de suspensión o estabilizantes farmacéuticamente aceptables, incluyendo, pero sin limitarse a, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, laurilsulfato de sodio, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa cálcica, polivinilpirrolidona, gelatina, ácido algínico, goma arábiga, goma xantana, citrato de sodio, silicatos complejos, carbonato de calcio, glicina, dextrina, sacarosa, sorbitol, fosfato de dicalcio, sulfato de calcio, lactosa, caolín, manitol, cloruro de sodio, talco, almidones secos y azúcar en polvo. Los agentes de modificación de la superficie adecuados incluyen agentes de modificación de la superficie no iónicos y aniónicos.

30 Los ejemplos representativos de agentes de modificación de la superficie incluyen, pero no se limitan a, poloxámero 188, cloruro de benzalconio, estearato de calcio, alcohol cetosteárico, cera emulsionante de cetomacrogol, ésteres de sorbitano, dióxido de silicio coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, silicato de aluminio y magnesio y trietanolamina. Las formulaciones orales en el presente documento pueden utilizar formulaciones de liberación retardada o programada convencionales para alterar la absorción del/de los compuesto(s) activo(s). La formulación oral también puede consistir en administrar el principio activo en agua o un zumo de frutas, que contiene solubilizadores o emulsionantes apropiados según sea necesario. Se dan a conocer formulaciones orales que pueden adaptarse para su uso con rapálogos de esta invención en las patentes de EE.UU. n.ºs 5.559.121; 5.536.729; 5.989.591; 5.985.325; 5.145.684 (nanopartículas); 6.197.781; y el documento WO 98/56358. Los comprimidos que contienen un rapálogo de esta invención pueden contener componentes inactivos convencionales incluyendo, por ejemplo, sacarosa, lactosa, polietilenglicol 8000, sulfato de calcio, celulosa microcristalina, esmalte de calidad farmacéutica, talco, dióxido de titanio, estearato de magnesio, povidona, poloxámero 188, polietilenglicol 20.000, monooleato de glicerilo, cera carnauba, y otros componentes. También pueden usarse composiciones de tamaño nanométrico para la administración oral. En tales casos, se forman nanopartículas a partir de composiciones que contienen (en una base de peso/peso) el 1-20% de rapálogo, el 70 - 95% de material inerte tal como sacarosa, del 0,1 al 4% de materiales tales como polivinilpirrolidona y cloruro de benzalconio y el 0 - 1% de tensioactivo tal como Tween. Una composición ilustrativa de este tipo contiene aproximadamente el 15% de rapálogo, el 81% de sacarosa, el 2% de polivinilpirrolidona, el 2% de cloruro de benzalconio y el 0,1% de Tween.

60 En algunos casos puede ser deseable administrar los compuestos directamente a las vías respiratorias en forma de aerosol.

65 La administración a un individuo de una cantidad eficaz del compuesto también puede conseguirse de manera tópica administrando el/los compuesto(s) directamente a la zona afectada de la piel del individuo. Para este fin, el compuesto se administra o se aplica en una composición que incluye un portador tópico farmacológicamente aceptable, tal como un gel, una pomada, una loción o una crema, que incluye, sin limitación, portadores tales como agua, glicerol, alcohol, propilenglicol, alcoholes grasos, triglicéridos, ésteres de ácidos grasos o aceites minerales.

Otros portadores tópicos incluyen vaselina líquida, palmitato de isopropilo, polietilenglicol, etanol (al 95%), monolaurato de polioxietileno (al 5%) en agua, o laurilsulfato de sodio (al 5%) en agua. Otros materiales tales como antioxidantes, humectantes, estabilizadores de la viscosidad, y agentes similares pueden añadirse según sea necesario. También pueden incluirse potenciadores de la penetración percutánea tales como Azone.

Además, en determinados casos, se espera que el compuesto pueda disponerse dentro de dispositivos transdérmicos colocados sobre, en o bajo la piel. Tales dispositivos incluyen parches, implantes e inyecciones que liberan el compuesto en la piel, mediante mecanismos de liberación o bien activos o bien pasivos. Para los fines de esta divulgación, se entiende que administraciones transdérmicas incluyen todas las administraciones a través de la superficie del cuerpo y los revestimientos internos de pasos corporales incluyendo tejidos epiteliales y mucosos. Tales administraciones pueden llevarse a cabo usando los presentes compuestos, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en lociones, cremas, espumas, parches, suspensiones, disoluciones y supositorios (rectales y vaginales).

La administración transdérmica puede conseguirse a través del uso de un parche transdérmico que contiene el compuesto activo y un portador que es inerte para el compuesto activo, no es tóxico para la piel y permite la administración del agente para la absorción sistémica en el torrente sanguíneo a través de la piel. El portador puede adoptar cualquiera de varias formas tales como cremas y pomadas, pastas, geles y dispositivos oclusivos. Las cremas y pomadas pueden ser emulsiones líquidas o semisólidas viscosas del tipo o bien aceite en agua o bien agua en aceite. También pueden ser adecuadas pastas que se componen de polvos absorbentes dispersos en vaselina o vaselina hidrófila que contienen el principio activo. Una variedad de dispositivos oclusivos pueden usarse para liberar el principio activo en el torrente sanguíneo tal como una membrana semipermeable que cubre un depósito que contiene el principio activo con o sin un portador, o una matriz que contiene el principio activo. Otros dispositivos oclusivos se conocen en la bibliografía.

Pueden prepararse formulaciones de supositorios a partir de materiales tradicionales, incluyendo manteca de cacao, con o sin la adición de ceras para alterar el punto de fusión del supositorio y glicerina. También pueden usarse bases de supositorio solubles en agua, tales como polietilenglicoles de diversos pesos moleculares.

Se conocen en la técnica materiales y métodos para producir las diversas formulaciones y pueden adaptarse para la puesta en práctica de la invención objeto. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n.ºs 5.182.293 y 4.837.311 (comprimidos, cápsulas y otras formulaciones orales así como formulaciones intravenosas) y las publicaciones de patente europea n.ºs 0 649 659 (publicada el 26 de abril de 1995; formulación ilustrativa para la administración i.v.) y 0 648 494 (publicada el 19 de abril de 1995; formulación ilustrativa para la administración oral). Véanse también las patentes de EE.UU. n.ºs 5.145.684 (nanopartículas) y 5.989.591 (formas de dosificación sólidas) y el documento WO 98/56358 así como Yu, K. *et al.*, *Endocrine-Related Cancer* (2001) 8, 249-258 y Georger *et al.*, *Cancer Res.* (2001) 61 1527-1532.

La dosis sistémica eficaz del compuesto estará normalmente en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del mamífero, administrada en dosis únicas o múltiples. Generalmente, el compuesto puede administrarse a pacientes que necesitan tal tratamiento en un intervalo de dosis diaria de aproximadamente 1 a aproximadamente 2000 mg por paciente. La administración puede ser una vez o múltiples veces al día, a la semana (o en algún otro intervalo diario múltiple) o en un programa intermitente. Por ejemplo, el compuesto puede administrarse una o más veces al día de manera semanal (por ejemplo, cada lunes) durante un periodo de semanas, por ejemplo, 4 - 10 semanas. Alternativamente, puede administrarse diariamente durante un periodo de días (por ejemplo, 2 - 10 días) seguido por un periodo de días (por ejemplo, 1 - 30 días) sin la administración del compuesto, repitiéndose ese ciclo un número dado de veces, por ejemplo, 4 - 10 ciclos. Como ejemplo, un compuesto anticancerígeno de la invención puede administrarse diariamente durante 5 días, luego interrumpirse durante 9 días, luego administrarse diariamente durante otro periodo de 5 días, luego interrumpirse durante 9 días, etcétera, repitiendo el ciclo un total de 4 - 10 veces.

La cantidad de compuesto que será eficaz en el tratamiento o la prevención de un trastorno o estado particular dependerá en parte de factores bien conocidos que afectan a la dosificación del fármaco, y en el caso de aplicaciones de terapia génica y celular, también dependerá de las características de las proteínas de fusión que van a multimerizarse, las características y la ubicación de las células modificadas mediante ingeniería, y de la naturaleza del trastorno o estado, que pueden determinarse mediante técnicas clínicas convencionales. Además, opcionalmente pueden emplearse ensayos *in vitro* o *in vivo* para ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. Pueden extrapolarse dosis eficaces a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba *in vitro* o de modelos con animales. El nivel de dosificación preciso debe determinarse por el médico encargado u otro profesional sanitario y dependerá de factores bien conocidos, incluyendo la vía de administración, y la edad, el peso corporal, el sexo y la salud general del individuo; la naturaleza, la gravedad y el estadio clínico de la enfermedad; el uso (o no) de terapias concomitantes; y la naturaleza y la extensión de la modificación genética de células en el paciente.

5 Cuando se administra para el tratamiento o la inhibición de un estado patológico o trastorno particular, la dosificación eficaz del rapálogo de esta invención puede variar dependiendo del compuesto particular utilizado, el modo de administración, el estado y la gravedad del mismo, del estado que esté tratándose, así como los diversos factores físicos relacionados con el individuo que esté tratándose. En muchos casos, pueden obtenerse resultados satisfactorios cuando se administra el rapálogo en una dosificación diaria de aproximadamente 0,01 mg/kg-100 mg/kg, preferiblemente entre 0,01-25 mg/kg, y más preferiblemente entre 0,01-5 mg/kg. Se espera que las dosificaciones diarias proyectadas varíen con la vía de administración. Por tanto, la dosificación parenteral será a menudo a niveles de aproximadamente el 10% al 20% de los niveles de dosificación oral.

10 Cuando el rapálogo se usa como parte de un régimen de combinación, las dosificaciones de cada uno de los componentes de la combinación se administran durante un periodo de tratamiento deseado. Los componentes de la combinación pueden administrarse al mismo tiempo; o bien como forma de dosificación unitaria que contiene ambos componentes, o bien como unidades de dosificación separadas; los componentes de la combinación también pueden administrarse en diferentes momentos durante un periodo de tratamiento, o puede administrarse uno como pretratamiento para los otros.

15 La invención también proporciona un paquete o kit farmacéutico que comprende uno o más envases que contienen uno o más de los componentes de las composiciones farmacéuticas de la invención. Opcionalmente puede estar asociada con tal(es) envase(s) una notificación en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos o biológicos, notificación que refleja la aprobación por la agencia de la fabricación, el uso o la venta para administración a seres humanos. La notificación o el prospecto pueden contener instrucciones para el uso de un rapálogo de esta invención, que concuerda con la divulgación en el presente documento.

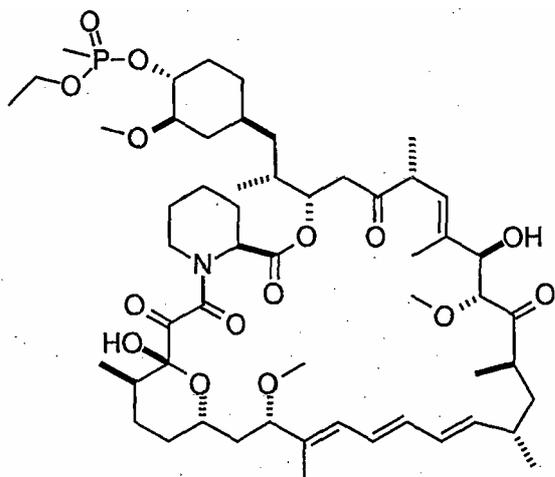
20 Los siguientes ejemplos contienen importante información adicional, ejemplificación y orientación que pueden adaptarse a la práctica de esta invención en sus diversas realizaciones. Se ofrecen los ejemplos a modo de ilustración, no deben considerarse limitativos en modo alguno. Numerosas modificaciones y variaciones de la presente invención deben resultar evidentes a un experto en la técnica. Tales modificaciones y variaciones, incluyendo elecciones de diseño en la selección, preparación, formulación y administración del rapálogo de esta invención; la elección del diseño, materiales y métodos de endoprótesis, y materiales para cargar el rapálogo en la misma y para la colocación de la endoprótesis de elución de fármaco, etc. se definen en las reivindicaciones adjuntas.

25 La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de la química orgánica de síntesis, incluyendo la recuperación, purificación y formulación de productos, así como de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están dentro de los conocimientos de la técnica.

30 Tales técnicas se explican en detalle en la bibliografía de patentes y científica. Véanse, por ejemplo, en el caso de técnicas biológicas: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª ed., ed. por Sambrook, Fritsch y Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press: 1989); *DNA Cloning*, Volúmenes I y II (D. N. Glover ed., 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait ed., 1984); Mullis *et al.* patente de EE.UU. n.º 4.683.195; *Nucleic Acid Hybridization* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); *Transcription And Translation* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); *Culture Of Animal Cells* (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press, 1986); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); el tratado, *Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells* (J. H. Miller y M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); *Methods In Enzymology*, Vols. 154 y 155 (Wu *et al.* eds.), *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Mayer y Walquer, eds., Academic Press, Londres, 1987); *Handbook of Experimental Immunology*, Volúmenes I-IV (D. M. Weir y C. C. Blackwell, eds., 1986); *Manipulating the Mouse Embryo*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986).

## Ejemplos

55 Ejemplo 1: Éster de rapamicina en C-43 de éster etílico del ácido metil-fosfónico



Metilfosfonocloridato de etilo

- 5 A una disolución enfriada (0°C) de metilfosfonato de dietilo (15,2 g, 0,1 mol) en benceno (30 ml) se le añadió  $\text{PCl}_5$  (20,8 g, 0,1 mol) en una porción. Después de agitarse la mezcla de reacción a 0°C durante 2 horas, se eliminó el disolvente y el  $\text{POCl}_3$  subproducto a alto vacío. Se destiló el producto dando 12,7 g de un aceite incoloro: p.e. de 52-54°C/1 mmHg;  $^{31}\text{P}$ -RMN (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 40,7.

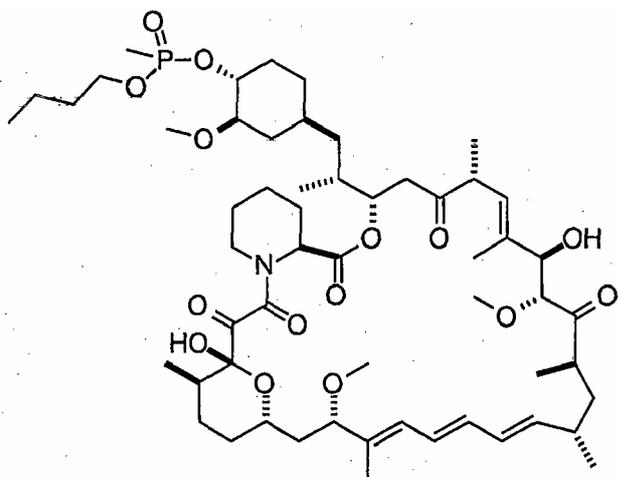
10 *Éster de rapamicina en C-43 de éster etílico del ácido metil-fosfónico*

- A una disolución enfriada (0°C) de rapamicina (0,1 g, 0,109 mmol) en 1,5 ml de diclorometano se le añadió una disolución de 3,5-lutidina (0,088 g, 0,82 mmol) en 0,25 ml de diclorometano, bajo una atmósfera de  $\text{N}_2$ , seguido inmediatamente por una disolución de metilfosfonocloridato de etilo (0,078 g, 0,547 mmol) en 0,25 ml de diclorometano. Se agitó la disolución de reacción incolora a 0°C durante 3 h (monitorizándose la reacción mediante EM; diluyéndose una muestra de reacción directamente con  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  50:50, 1 gota de DMSO, antes del análisis). Se diluyó la disolución de reacción fría (0°C) con ~20 ml de EtOAc, luego se transfirió a un embudo de decantación que contenía EtOAc (150 ml) y  $\text{NaHCO}_3$  saturado (100 ml). Tras retirar la fase acuosa, se lavó la fase orgánica sucesivamente con HCl 1 N enfriado con hielo (1x100 ml),  $\text{NaHCO}_3$  saturado (1x100 ml) y salmuera (1x100 ml), luego se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  y se concentró. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (eluyendo con MeOH/DCM/EtOAc/hexano 0,5:10:3:3) proporcionando 0,024 g de un sólido blanco (mezcla diastereomérica ~2:1):  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 4,19 (m, 1Ha, 1Hb), 4,15-4,01 (m, 3Ha, 3Hb), 1,56-1,27 (m, 6Ha, 6Hb);  $^{31}\text{P}$ -RMN (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 32,1, 29,9; 1043  $m/z$  (M+Na).

25 Ejemplo 1. Síntesis alternativa

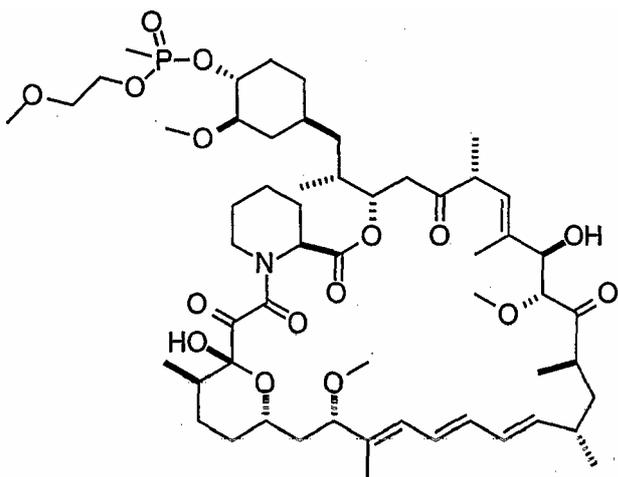
- Se cargan la rapamicina y el diclorometano en un matraz de reacción purgado con nitrógeno. Se enfría la disolución con agitación hasta aproximadamente 0°C (se mantiene una temperatura externa de  $-5 \pm 5^\circ\text{C}$  en la totalidad de la reacción). Entonces se añade una disolución de metilfosfonocloridato de etilo en diclorometano a lo largo de un periodo de aproximadamente 8-13 minutos. Esto va seguido inmediatamente por la adición de una disolución de 3,5-lutidina en diclorometano a lo largo de un periodo de aproximadamente 15-20 minutos. En la totalidad de ambas adiciones, se mantiene la temperatura interna de la reacción inferior a 0°C. Se agita la disolución de reacción enfriada durante 3 horas, tiempo durante el cual se monitoriza el avance de la reacción mediante análisis de CCF (Me-OH/DCM/EtOAc/hexanos 1:10:3:3) y HPLC de fase inversa. A su debido tiempo, se diluye la mezcla de reacción con acetato de etilo y se somete a tratamiento final como anteriormente.

Ejemplo 2: Éster de rapamicina en C-43 de éster n-butílico del ácido metil-fosfónico



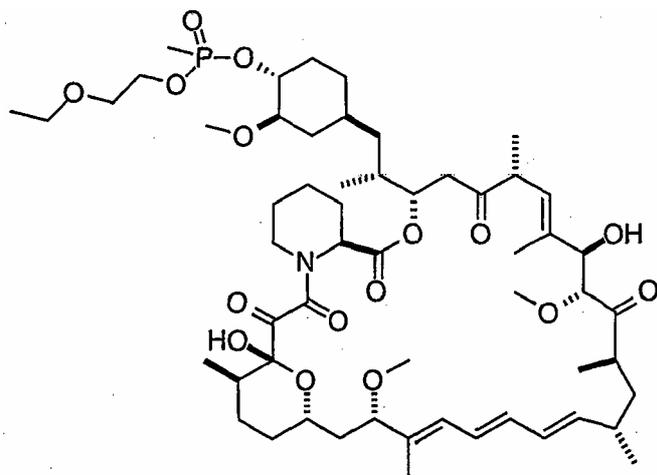
A un matraz que contenía 1*H*-tetrazol (~0,002 g, 0,028 mmol) se le añadió una disolución de n-butanol (0,041 g, 0,55 mmol) en 0,33 ml de DCM, seguido por una disolución de 3,5-lutidina (0,090 g, 0,84 mmol) en 0,33 ml de DCM. Se enfrió la disolución transparente resultante hasta 0°C, luego se le añadió, bajo una atmósfera de N<sub>2</sub>, una disolución de dicloruro metilfosfónico (0,073 g, 0,55 mmol) en 0,33 ml de DCM. Se agitó la suspensión blanca resultante hasta la temperatura ambiental durante la noche. A una disolución enfriada (0°C) de rapamicina (0,1 g, 0,11 mmol) en 0,5 ml de DCM se le añadió una disolución de 3,5-lutidina (0,090 g, 0,84 mmol) en 0,5 ml de DCM, seguido inmediatamente por el reactivo de fosforilación (disolución de color amarillo con precipitado blanco) y un lavado con 1,0 ml de DCM. Se agitó la disolución de color amarillo resultante a 0°C durante 1,0 h (seguido mediante EM). Se diluyó la disolución de reacción fría (0°C) con ~20 ml de EtOAc, luego se transfirió a un embudo de decantación que contenía EtOAc (120 ml) y NaHCO<sub>3</sub> saturado (100 ml). Tras retirar la fase acuosa, se lavó la fase orgánica sucesivamente con HCl 1 N enfriado con hielo (1x100 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (3x100 ml) y salmuera (1x100 ml), luego se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (eluyendo con MeOH/DCM/EtOAc/hexano 0,25:10:3:3) luego RP-HPLC (MeOH al 85%/H<sub>2</sub>O) proporcionando 0,063 g de un sólido blanco (mezcla diastereomérica ~2:1): <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) d 4,15 (m, 1 Ha, 1Hb), 4,11-3,89 (m, 3Ha, 3Hb), 3,04 (m, 1Ha, 1Hb); <sup>31</sup>P-RMN (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>) d 32,1, 29,9; 1071 m/z (M+Na).

20 Ejemplo 3: Éster de rapamicina en C-43 de éster 2-metoxi-etílico del ácido metil-fosfónico



Se sintetizó el compuesto del título de manera similar a la descrita para el ejemplo 2. Se obtuvo el producto como un sólido blanco (mezcla diastereomérica ~2:1): <sup>31</sup>P-RMN (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>) d 33,0, 30,8; 1073 m/z (M+Na).

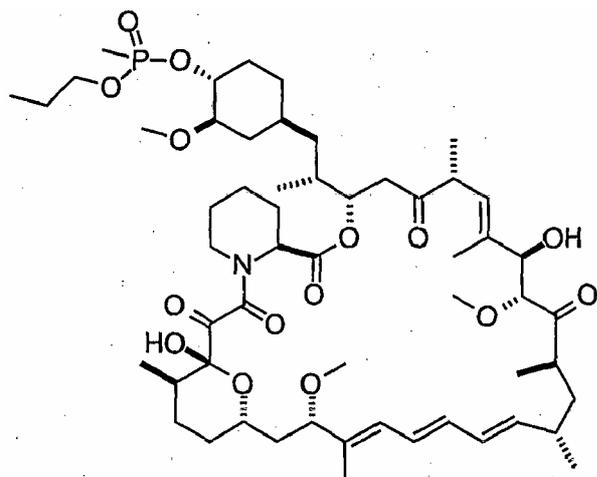
25 Ejemplo 4: Éster de rapamicina en C-43 de éster 2-etoxi-etílico del ácido metil-fosfónico



Se sintetizó el compuesto del título de manera similar a la descrita para el ejemplo 2. Se obtuvo el producto como un sólido blanco (mezcla diastereomérica ~2:1):  $^{31}\text{P}$ -RMN (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 32,8, 30,8; 1087 m/z (M+Na).

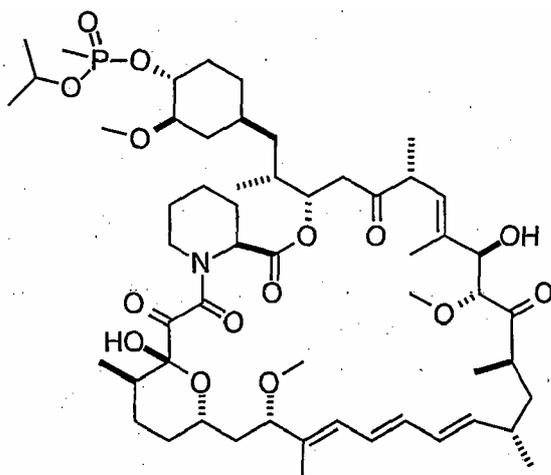
5

Ejemplo 5: Éster de rapamicina en C-43 de éster n-propílico del ácido metil-fosfónico



10 Se sintetizó el compuesto del título de manera similar a la descrita para el ejemplo 2. Se obtuvo el producto como un sólido blanco (mezcla diastereomérica ~2:1):  $^{31}\text{P}$ -RMN (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 32,1, 29,9; 1057 m/z (M+Na).

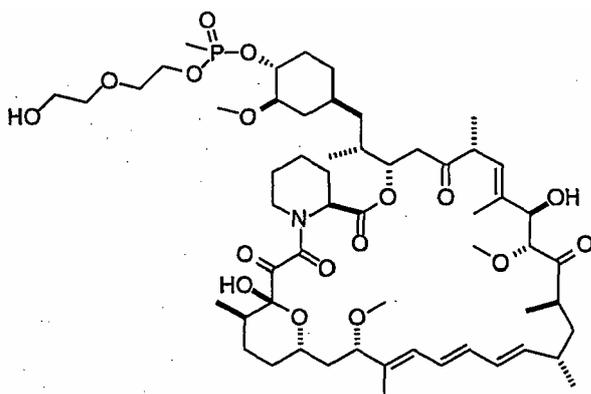
Ejemplo 6: Éster de rapamicina en C-43 de éster isopropílico del ácido metil-fosfónico



Se sintetizó el compuesto del título de manera similar a la descrita para el ejemplo 2. Se obtuvo el producto como un sólido blanco (mezcla diastereomérica ~2:1): <sup>31</sup>P-RMN (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 31,3, 28,8; 1057 m/z (M+Na).

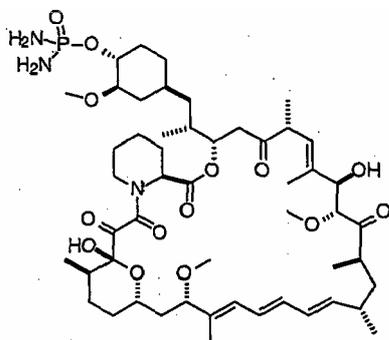
5

Ejemplo 7: Éster de rapamicina en C-43 de éster 2-(2-hidroxi-etoxi)-etilico del ácido metil-fosfónico



10 Se sintetizó el compuesto del título de manera similar a la descrita para el ejemplo 2. Se obtuvo el producto como un sólido blanco (mezcla diastereomérica ~2:1): <sup>31</sup>P-RMN (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 32,7, 30,9; 1103 m/z (M+Na).

Ejemplo 8: Éster de rapamicina en C-43 del ácido diamino-fosfónico



15

*Éster de rapamicina en C-43 del ácido diamino-fosfónico*

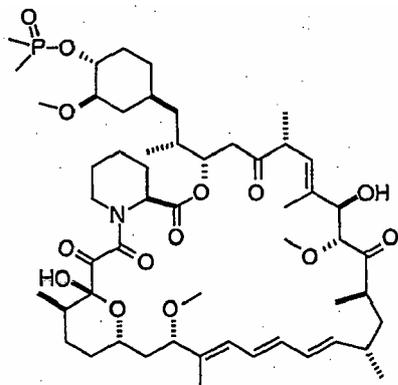
A una disolución con agitación (0°C) de rapamicina (0,109 g, 0,12 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (0,072 g, 0,59 mmol) en 5,0 ml de DCM se le añadió, gota a gota, oxicluro de fósforo (0,050 ml, 0,54 mmol). Después de un periodo de 15 min., se diluyó la mezcla con unos 5,0 ml adicionales de DCM y se enfrió hasta -78°C. Entonces se burbujeó amoniaco a través de la mezcla de reacción durante un periodo de dos minutos produciendo un precipitado blanco espeso. Entonces se repartió la mezcla de reacción entre una mezcla bifásica de 75 ml de EtOAc y 25 ml de HCl ac. al 5%. Se lavó la parte orgánica de manera secuencial con 25 ml de agua y 25 ml de salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró. Se purificó el residuo resultante mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice

25

(eluyendo con diclorometano/metanol 9:1), lo que produjo 0,029 g del producto deseado:  $^{31}\text{P}$ -RMN (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 16,4; 1014  $m/z$  (M+Na).

Ejemplo 9: Éster de rapamicina en C-43 del ácido dimetil-fosfínico

5



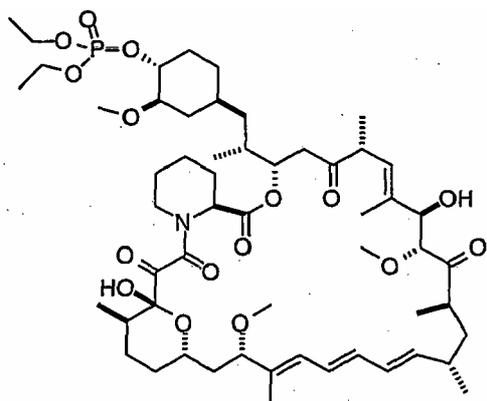
*Éster de rapamicina en C-43 del ácido dimetil-fosfínico*

- 10 A una disolución enfriada (0°C) de rapamicina (0,1 g, 0,109 mmol) en 1,8 ml de diclorometano se le añadió 0,168 g (0,82 mmol) de 2,6-di-*t*-butil-4-metilo piridina, bajo una corriente de  $\text{N}_2$ , seguido inmediatamente por una disolución de cloruro dimetilfosfínico (0,062 g, 0,547 mmol) en 0,2 ml de diclorometano. Se agitó la disolución de reacción de color ligeramente amarillo a 0°C, bajo una atmósfera de  $\text{N}_2$ , durante 3,5 h (monitorizándose la reacción mediante TLC). Se diluyó la disolución de reacción fría (0°C) con ~20 ml de EtOAc, luego se transfirió a un embudo de decantación que contenía EtOAc (150 ml) y  $\text{NaHCO}_3$  saturado (100 ml). Tras retirar la fase acuosa, se lavó la fase orgánica sucesivamente con HCl 1 N enfriado con hielo (1x100 ml),  $\text{NaHCO}_3$  saturado (1x100 ml) y salmuera (1x100 ml), luego se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  y se concentró. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (eluyendo con MeOH/DCM/EtOAc/hexano 1:10:3:3) proporcionando 0,092 g de un sólido blanco:  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 4,18 (m, 1H), 4,10 (m, 1 H), 3,05 (m, 1 H), 1,51 (m, 6H);  $^{31}\text{P}$ -RMN (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 53,6; 1013  $m/z$  (M+Na).
- 15
- 20

Ejemplo 9. Síntesis alternativa:

- 25 Se cargan la rapamicina y el diclorometano en un matraz de reacción purgado con nitrógeno. Se enfría la disolución con agitación hasta aproximadamente 0°C (se mantiene una temperatura externa de  $-5 \pm 5^\circ\text{C}$  en la totalidad de la reacción). Entonces se añade una disolución de cloruro dimetilfosfínico (2,0 equivalentes molares) en diclorometano a lo largo de un periodo de aproximadamente 8-13 minutos. Esto va seguido inmediatamente por la adición de una disolución de 3,5-lutidina (2,2 equivalentes molares) en diclorometano a lo largo de un periodo de aproximadamente 15-20 minutos. En la totalidad de ambas adiciones, la temperatura interna de la reacción permanece inferior a 0°C.
- 30 Se agita la disolución de reacción enfriada durante 1 hora y luego se transfiere, cuando todavía está fría, a un extractor que contiene  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado y metil-*t*-butil éter (MTBE), acetato de etilo o dietil éter. Se retiran muestras en proceso en los puntos de tiempo de 30 y 60 minutos. Se preparan muestras de modo similar al descrito para el tratamiento final de la reacción. Se monitoriza el avance de la reacción mediante análisis de CCF (MeOH/DCM/EtOAc/hexanos 1:10:3:3) y HPLC de fase inversa. Se lava sucesivamente la fase orgánica aislada con HCl 1 N enfriado con hielo,  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado (2 veces), NaCl acuoso saturado, y se seca sobre sulfato de sodio. Tras filtración y eliminación del disolvente, el residuo experimenta intercambio de disolvente por acetona seguido por concentración a vacío proporcionando producto bruto, que puede analizarse para determinar la pureza mediante HPLC de fase normal e inversa.
- 35

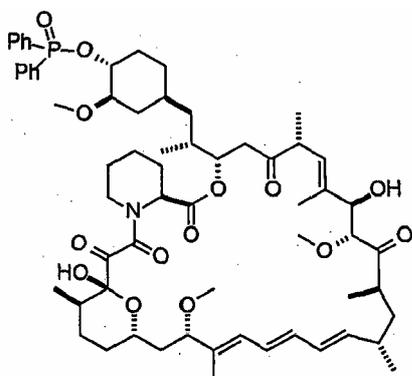
- 40 Ejemplo 10: Éster de rapamicina en C-43 del éster dietílico del ácido fosfórico



Se sintetizó el compuesto del título de manera similar a la descrita para el ejemplo 9. Se obtuvo el producto como un sólido blanco:  $^{31}\text{P}$ -RMN (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d -1,2; 1073  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ).

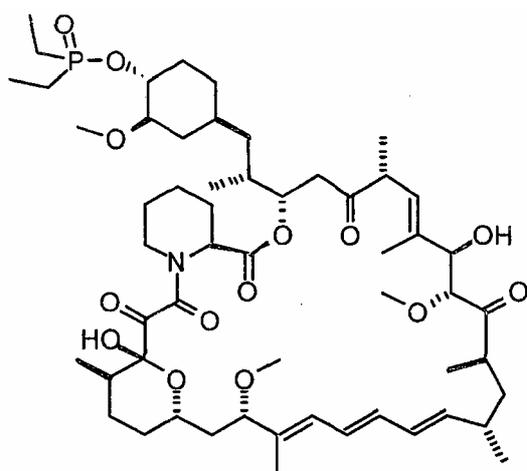
5

Ejemplo 11: Éster de rapamicina en C-43 del ácido difenilfosfínico



10 Se sintetizó el compuesto del título de manera similar a la descrita para el ejemplo 9. Se obtuvo el producto como un sólido blanco:  $^{31}\text{P}$ -RMN (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 31,3; 1137  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ).

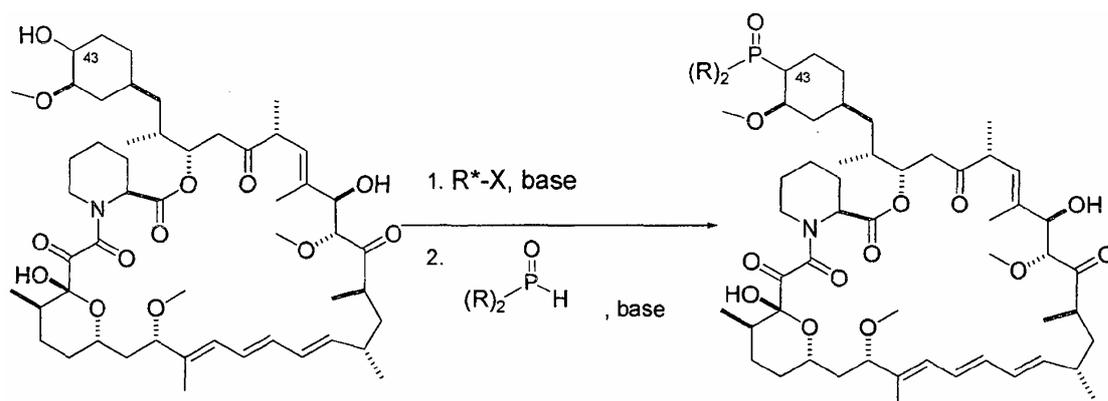
Ejemplo 12: Éster de rapamicina en C-43 del ácido dietilfosfínico



15

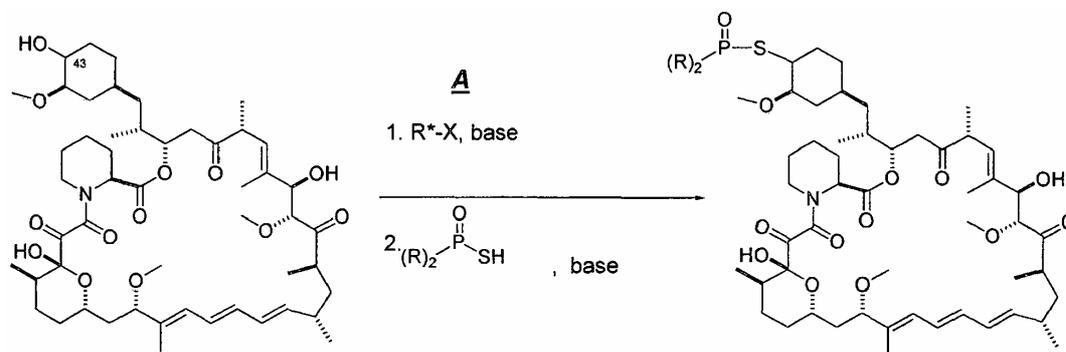
Se sintetizó el compuesto del título de manera similar a la descrita para el ejemplo 9. Se obtuvo el producto como un sólido blanco:  $^{31}\text{P}$ -RMN (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 61,3; 1041  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ).

20 Ejemplo 14: Preparación de derivados de rapamicina en C-43 con unión a fósforo

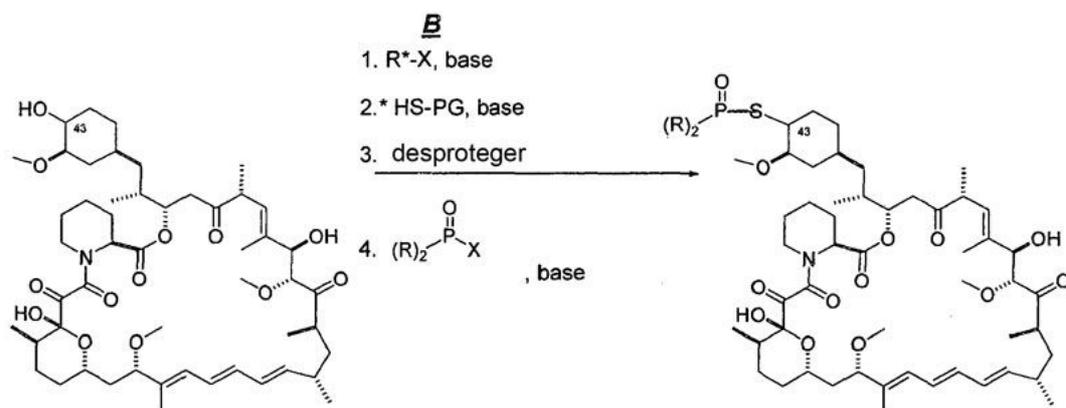


5 Pueden prepararse compuestos con unión a fósforo de la clase mostrada anteriormente mediante la adaptación de los métodos de Yamashita, M. *et al*, Bull Chem Soc Japan, 1983, 56, 1871-1872 usando los reactivos representados en los que X es halógeno o anhídrido por ejemplo,  $R^*X$  genera un resto  $R^*O$  en C-43 que actúa como grupo saliente, y cada aparición de R es tal como se definió anteriormente para  $R^5$  y opcionalmente  $R^2$  en la definición de J.

Ejemplos 18: Preparación de derivados con unión a tio de rapamicina en C-43 que contienen fósforo adicionales

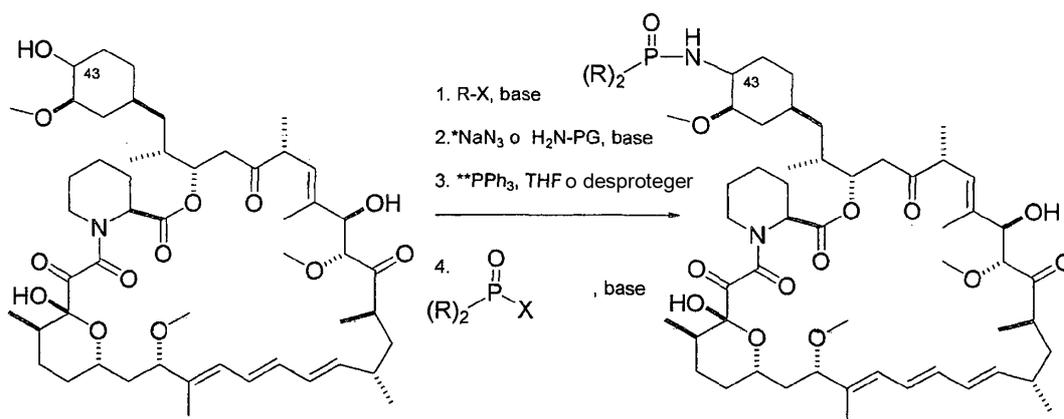


10



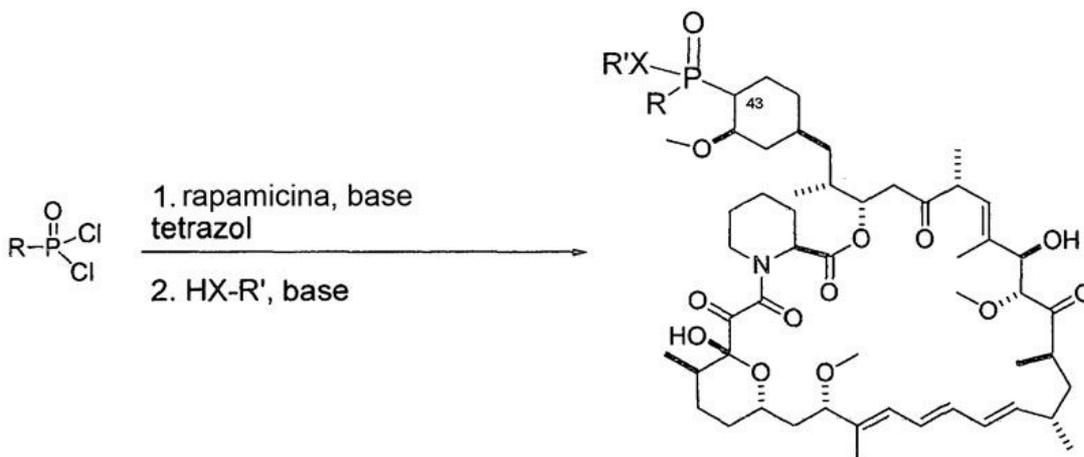
15 Pueden prepararse tiocompuestos de la clase mostrada anteriormente mediante la adaptación de los métodos de Yuan *et al*, Synthesis, 1989, 1, 48 - 50 (ruta A) o Grinfield *et al*, publicación de solicitud internacional PCT n.º WO 98/09972 y Masson S *et al*, Bull Soc Chim Fr, 1996, 133, 951-964 (ruta B) usando los reactivos representados en los que X es halógeno o anhídrido por ejemplo,  $R^*X$  genera un resto  $R^*O$  en C-43 que actúa como grupo saliente, y cada aparición de R es tal como se definió anteriormente para  $R^5$  y opcionalmente  $R^2$  en la definición de J.

20 Ejemplo 19: Preparación de derivados con unión a amino de rapamicina en C-43 que contienen fósforo adicionales



Pueden prepararse compuestos de la clase mostrada anteriormente mediante la adaptación de los métodos de Grinfield *et al*, publicación de solicitud internacional PCT n.º WO 98/09972; Bravo, F *et al*, Tetrahedron: Asymmetry, 2001, 12, 1635 - 1643; y Wang M, *et al*, J Org Chem, 1995, 60, 7364 - 7365 usando los reactivos representados, en los que X es halógeno o anhídrido por ejemplo, R\*X genera un resto R\*O en C-43 que actúa como grupo saliente, PG es un grupo protector y cada aparición de R es tal como se definió anteriormente para R<sup>5</sup> y opcionalmente R<sup>2</sup> en la definición de J.

10 Ejemplo 20: Preparación de derivados de éster mixto de rapamicina en C-43 que contienen fósforo



Pueden prepararse compuestos de la clase mostrada anteriormente mediante la adaptación de los métodos de Zhao, K. *et al*, Tetrahedron, 1993, 49, 363-368 usando los reactivos representados, en los que X es un NH, O o S y cada aparición de R y R' es tal como se definió anteriormente para R<sup>5</sup> y opcionalmente R<sup>2</sup> en la definición de J.

Ejemplo 24: Purificación

20 Los compuestos de los ejemplos ilustrativos anteriores pueden purificarse usando cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para eliminar posibles impurezas tales como reactantes residuales (incluyendo material de partida de rapálogo o rapamicina residual) y subproductos no deseados. Los sistemas de cromatografía ultrarrápida adecuados incluyen sistemas de cartuchos precargados disponibles comercialmente, tales como los de BIOTAGE, Inc. (apartado de correos 8006), Charlottesville, Va 22906-8006). Pueden obtenerse cartuchos que contienen sílice de tamaño de partícula de ~30 -70 μM, tamaño de poro de 60 Å. Se proporciona a continuación un protocolo para usar tales sistemas de cromatografía ultrarrápida para purificar compuestos de esta invención.

Se disuelve producto bruto en una cantidad mínima de un disolvente apropiado (por ejemplo, diclorometano, "DCM") y se carga en un cartucho FLASH Biotage. Se eluyen las impurezas apolares con DCM, seguido por elución del producto con un sistema de disolventes tal como MeOH/DCM/EtOAc/hexanos 0,5:10:3:3. Se realiza un lavado final de la columna, por ejemplo, con un sistema de disolventes de MeOH/DCM/EtOAc/hexanos 1:10:3:3. Pueden analizarse las fracciones recogidas mediante CCF, HPLC de fase normal e inversa. Se identifican las fracciones de producto puro de dos o más series de elución mediante HPLC de fase normal, luego se combinan y se concentran a vacío. Para mejorar el rendimiento global de producto purificado, pueden volver a purificarse las fracciones impuras en un sistema FLASH Biotage separado usando los mismos disolventes de elución y criterios de pureza para la combinación. Se someten individualmente las múltiples reservas de producto purificadas a múltiples intercambios de

- disolvente, por ejemplo, por acetona (normalmente de 4 a 6 veces) y luego se combinan usando el mismo disolvente (por ejemplo, acetona) como disolvente de transferencia. Antes de la combinación, pueden someterse a ensayo las reservas para confirmar una pureza aceptable. Pueden realizarse intercambios de disolvente adicionales (normalmente 2) con el mismo disolvente (acetona, en este ejemplo) en el lote de producto combinado, que luego se seca a vacío hasta peso constante a la temperatura ambiental proporcionando material del que pueden tomarse muestras si se desea para análisis QC.

Ejemplo 25: Compuesto cargado sobre endoprótesis vascular

- 10 Se pulveriza una endoprótesis de acero inoxidable Duraflex.TM, que tiene dimensiones de 3,0 mm x 14 mm con una disolución de un compuesto 25 mg/ml de cualquiera de los ejemplos 1 - 12 en disolvente del 100% de etanol, acetona o acetato de etilo. Se seca la endoprótesis y se evapora el disolvente dejando el compuesto sobre una superficie de la endoprótesis. Se prepara un copolímero de PLLA/PCL 75:25 (vendido comercialmente por Polisciences) en 1,4-dioxano (vendido comercialmente por Aldrich Chemicals). Se carga la endoprótesis cargada con compuesto en un mandril que rota a 200 rpm y una pistola pulverizadora (vendida comercialmente por Binks Manufacturing) dispensa la disolución de copolímero en una pulverización fina sobre la endoprótesis cargada con compuesto a medida que rota durante un periodo de 10-30 segundos. Entonces se sitúa la endoprótesis en un horno a 25-35°C hasta 24 horas para completar la evaporación del disolvente.

20 Ejemplo 26: Carga aumentada de compuesto sobre endoprótesis vascular

- Se corta con láser la endoprótesis de acero inoxidable Duraflex (3,0 x 13 mm) a partir de un tubo SS. Se aumenta el área superficial para cargar el fármaco aumentando la rugosidad de superficie de la endoprótesis. Pueden aumentarse adicionalmente el área superficial y el volumen de la endoprótesis creando surcos de 10 nm de ancho y 5 nm de profundidad a lo largo de los eslabones del sostén de la endoprótesis. Se crean los surcos en zonas que experimentan menos tensión durante la expansión de modo que la resistencia radial de la endoprótesis no se vea comprometida. Entonces puede cargarse un compuesto de cualquiera de los ejemplos 1 - 12 sobre la endoprótesis y en el surco mediante inmersión o pulverización de la endoprótesis con una disolución del compuesto preparado en disolvente de baja tensión superficial tal como diclorometano, alcohol isopropílico, acetona, acetato de etilo, etanol o metanol. Entonces se seca la endoprótesis y el compuesto permanece sobre la superficie de la endoprótesis y en los surcos, que sirven como depósito de fármaco. Entonces se deposita Parylene sobre la endoprótesis para servir como barrera limitante de la velocidad. El compuesto eluye de la endoprótesis a lo largo de un periodo de tiempo en el intervalo de desde 1 día hasta 45 días.

35 Ejemplo 27

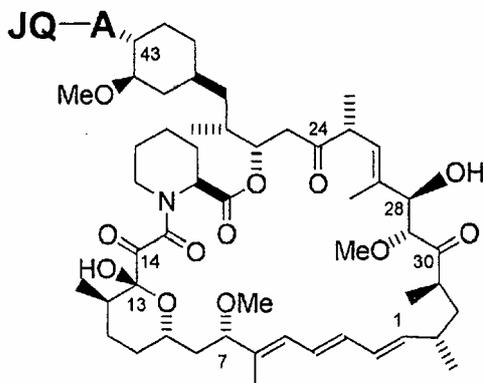
- Se disuelve un compuesto de cualquiera de los ejemplos 1 - 12 en acetato de etilo, luego se pulveriza sobre la endoprótesis, y se deja secar evaporando el disolvente, quedando el compuesto sobre la superficie de la endoprótesis. Se pulveriza una matriz o barrera (silicona, politetrafluoretileno, PARYLAST™, Parylene) o se deposita sobre la endoprótesis que encapsula el compuesto. La cantidad del compuesto varía desde 100 microgramos hasta 2 miligramos, con velocidades de liberación de desde 1 día hasta 45 días.

Ejemplo 28

- 45 Se prepara una matriz con compuesto recubierto sobre una endoprótesis, tal como se describe en el ejemplo 25, y luego se recubre o se pulveriza con una capa de recubrimiento superior de una barrera limitante de la velocidad (y/o una matriz sin fármaco de modo que actúe como barrera limitante de la velocidad). Alternativamente, puede recubrirse el compuesto sobre una endoprótesis mediante una barrera limitante de la velocidad, y luego cubrirse con una capa de recubrimiento superior (otra barrera o matriz). El uso de capas de recubrimiento superior proporciona un control adicional de la velocidad de liberación, una biocompatibilidad y/o resistencia a los arañazos y al agrietamiento tras la colocación o expansión de la endoprótesis.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula:



5

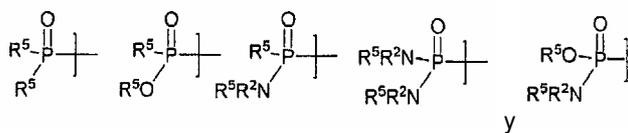
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

A es -O-, -S- o -NR<sup>2</sup>- o está ausente;

10

Q está ausente;

J se selecciona de

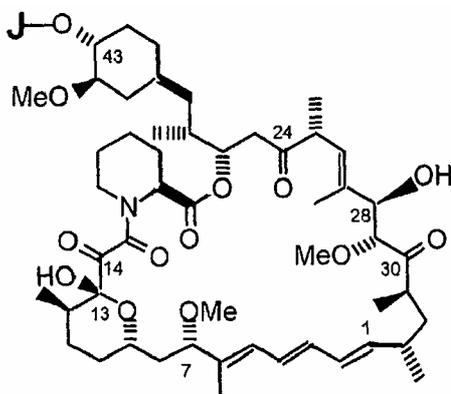


15

cada aparición de R<sup>2</sup> y R<sup>5</sup> se elige de manera independiente de etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, 2-butilo, t-butilo, fenilo o heteroarilo, portando opcionalmente cada uno de ellos uno o más sustituyentes halo, -OH, alcoxilo, alcoxialcoxi-, haloalquil-, hidroxialcoxi-, heterocíclico, arilo o heteroarilo, y además, -OR<sup>5</sup> y -NR<sup>2</sup>R<sup>5</sup>, pueden ser -OH y -NHR<sup>5</sup>; y con un peso molecular inferior a 1700 unidades de masa excluyendo la contribución de un contraión cuando el compuesto está en una forma de sal.

20

2. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de fórmula:



25

en la que J se selecciona de: -P(O)Me<sub>2</sub>, -P(O)Et<sub>2</sub>, -P(O)Ph<sub>2</sub>, -P(O)(OEt)(Me), -P(O)(OnPr)(Me), -P(O)(O*i*Pr)(Me), -P(O)(OnBu)(Me), -P(O)(Me)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe), -P(O)(Me)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OEt), -P(O)(Me)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), -P(O)(OEt)<sub>2</sub> y -P(O)(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

30

3. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 2, en el que J es -P(O)Me<sub>2</sub>.

4. Compuesto según la reivindicación 2, en el que J es -P(O)Me<sub>2</sub>.
5. Composición que comprende (a) un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable, que contiene opcionalmente (c) o uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 10 6. Composición adecuada para la administración oral a un mamífero, comprendiendo la composición (a) un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable, que contiene opcionalmente (c) uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 15 7. Composición adecuada para la administración parenteral a un mamífero, comprendiendo la composición (a) un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable, que contiene opcionalmente (c) uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 20 8. Uso de una composición según la reivindicación 5, para la preparación de un medicamento para suprimir la respuesta inmunitaria de un sujeto.
9. Uso de una composición según la reivindicación 5, para la preparación de un medicamento para tratar o suprimir el rechazo de tejidos trasplantados en un receptor.
- 25 10. Uso de una composición según la reivindicación 5, para la preparación de un medicamento para tratar enfermedad de injerto contra huésped, lupus, artritis reumatoide, diabetes mellitus, miastenia grave, esclerosis múltiple, psoriasis, dermatitis, eccema, seborrea, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación pulmonar, uveítis ocular; linfoma/leucemia de células T del adulto; infecciones fúngicas; reestenosis hiperproliferativa; aterosclerosis vascular por injerto; enfermedad vascular cerebral, arteriopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, arteriosclerosis, aterosclerosis, arteriosclerosis no ateromatosa o daño de la pared vascular debido a acontecimientos celulares que conducen a daño vascular mediado por el sistema inmunitario, ictus o demencia multiinfarto en un sujeto que lo necesita.
- 30 11. Uso de una composición según la reivindicación 5, para la preparación de un medicamento para tratar arteriopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, arteriosclerosis, aterosclerosis, arteriosclerosis no ateromatosa, daño de la pared vascular debido a acontecimientos celulares que conducen a daño vascular mediado por el sistema inmunitario, ictus o demencia multiinfarto en un sujeto que lo necesita, en combinación con un inhibidor de la ACE tal como quinapril, perindopril, ramipril, captopril, trandolapril, fosinopril, lisinopril, moexipril y enalapril; antagonista de los receptores de angiotensina II tal como candesartán, irbesartán, losartán, valsartán y telmisartán; derivado del ácido fíbrico tal como clofibrato y gemfibrozilo; inhibidor de la HMG Co-A reductasa tal como cerivastatina, fluvastatina, atorvastatina, lovastatina, pravastatina o simvastatina; agente bloqueante beta-adrenérgico tal como sotalol, timolol, esmolol, carteolol, propranolol, betaxolol, penbutolol, nadolol, acebutolol, atenolol, metoprolol y bisoprolol; bloqueante de los canales de calcio tal como nifedipino, verapamilo, nicardipino, diltiazem, nimodipino, amlodipino, felodipino y bepridil; antioxidante; anticoagulante tal como warfarina, dalteparina, heparina, enoxaparina y danaparoides; o agente útil en terapia de sustitución hormonal que contiene estrógenos tales como estrógenos conjugados, etinil-estradiol, 17-beta-estradiol, estradiol y estropipato.
- 45 12. Uso de una composición según la reivindicación 5, para la preparación de un medicamento para tratar cáncer en un sujeto que lo necesita.
- 50 13. Uso según la reivindicación 12, en el que el tratamiento se proporciona en combinación con una o más de otras terapias contra el cáncer.
14. Uso según la reivindicación 13, en el que la otra terapia o terapias comprenden uno o más de un agente de intercalación o alquilación anticancerígeno; un agente antiestrógenos; un inhibidor de una cinasa por ejemplo, Src, BCR/Abl, kdr, aurora-2, glucógeno sintasa cinasa 3 "GSK-3"; un anticuerpo frente a un receptor o una hormona implicados en un cáncer, por ejemplo, EGFR, PDGFR, IGF-R e IL-2; o un receptor soluble u otro antagonista de receptor para tal receptor; un inhibidor del proteasoma u otro inhibidor de NF-kB; o radiación.
- 55 15. Uso según la reivindicación 13, en el que la otra terapia o terapias comprenden uno o más de Zylprim, alemtuzumab, altretamina, amifostina, nastrozol, anticuerpos contra antígeno de membrana prostático específico tales como MLN-591, MLN591RL y MLN2704, trióxido de arsénico, Avastin® u otro anticuerpo anti-VEGF, bexaroteno, bleomicina, busulfano, capecitabina, carboplatino, oblea Gliadel, celecoxib, clorambucilo, cisplatino, gel de cisplatino-epinefrina, cladribina, citarabina liposomal, daunorubicina liposomal, daunorubicina, daunomicina, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, solución Elliott's B, epirubicina, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, exemestano, fludarabina, 5-FU, fulvestrant, gemcitabina, gemtuzumab-ozogamicina, acetato de goserelina, hidroxiurea, idarubicina, idarubicina, idamicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, irinotecán u otro inhibidor de topoisomerasa,
- 60 65

- incluyendo anticuerpos tales como MLN576 XR11576, letrozol, leucovorina, leucovorina, levamisol, daunorubicina liposomal, melfalán, L-PAM, mesna, metotrexato, metoxsalen, mitomicina C, mitoxantrona, MLN518 o MLN608 u otros inhibidores de la tirosina cinasa receptora flt-3, PDGF-R o c-kit, itoxantrona, paclitaxel, pegademas, pentostatina, porfímero sódico, rituximab RITUXAN®, talco, tamoxifeno, temozolamida, tenipósido, VM-26 ,  
5 topotecán, toremifeno, trastuzumab Herceptin®, u otro anticuerpo anti-HER2, 2C4 u otro anticuerpo que interfiere en la señalización mediada por HER2, tretinoína, ATRA, valrubicina, vinorelbina, o pamidronato, zoledronato u otro bisfosfonato.
16. Uso según la reivindicación 13, en el que la otra terapia o terapias comprenden un anticuerpo frente a IGF-R.  
10
17. Composición según la reivindicación 5, para su uso en la supresión de la respuesta inmunitaria en un sujeto.
18. Composición según la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento o la supresión del rechazo de tejidos trasplantados en un sujeto.  
15
19. Composición según la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de enfermedad de injerto contra huésped, lupus, artritis reumatoide, diabetes mellitus, miastenia grave, esclerosis múltiple, psoriasis, dermatitis, eccema, seborrea, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación pulmonar, uveítis ocular; linfoma/leucemia de células T del adulto; infecciones fúngicas; reestenosis hiperproliferativa; aterosclerosis vascular por injerto; enfermedad vascular cerebral, arteriopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, arteriosclerosis, aterosclerosis, arteriosclerosis no ateromatosa o daño de la pared vascular debido a acontecimientos celulares que conducen a daño vascular mediado por el sistema inmunitario, ictus o demencia multiinfarto en un sujeto que lo necesita.  
20
20. Composición según la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de arteriopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, arteriosclerosis, aterosclerosis, arteriosclerosis no ateromatosa, daño de la pared vascular debido a acontecimientos celulares que conducen a daño vascular mediado por el sistema inmunitario, ictus o demencia multiinfarto en un sujeto que lo necesita, en combinación con un inhibidor de la ACE tal como quinapril, perindopril, ramipril, captopril, trandolapril, fosinopril, lisinopril, moexipril y enalapril; antagonista de los receptores de angiotensina II tal como candesartán, irbesartán, losartán, valsartán y telmisartán; derivado del ácido fibrótico tal como clofibrato y gemfibrozilo; inhibidor de la HMG Co-A reductasa tal como cerivastatina, fluvastatina, atorvastatina, lovastatina, pravastatina o simvastatina; agente bloqueante beta-adrenérgico tal como sotalol, timolol, esmolol, carteolol, propranolol, betaxolol, penbutolol, nadolol, acebutolol, atenolol, metoprolol y bisoprolol; bloqueante de los canales de calcio tal como nifedipino, verapamilo, nicardipino, diltiazem, nimodipino, amlodipino, felodipino, nisoldipino y bepridil; antioxidante; anticoagulante tal como warfarina, dalteparina, heparina, enoxaparina y danaparoides; o agente útil en terapia de sustitución hormonal que contiene estrógenos tales como estrógenos conjugados, etinil-estradiol, 17-beta-estradiol, estradiol y estropipato.  
25
21. Composición según la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita.  
30
22. Composición para su uso según la reivindicación 21, en la que el tratamiento se proporciona en combinación con una o más de otras terapias contra el cáncer.  
35
23. Composición para su uso según la reivindicación 22, en la que la otra terapia o terapias comprenden uno o más de un agente de intercalación o alquilación anticancerígeno; un agente antiestrógenos; un inhibidor de una cinasa por ejemplo, Src, BCR/Abl, kdr, aurora-2, glucógeno sintasa cinasa 3 "GSK-3"; un anticuerpo frente a un receptor o una hormona implicados en un cáncer, por ejemplo, EGFR, PDGFR, IGFR e IL-2; o un receptor soluble u otro antagonista de receptor para tal receptor; un inhibidor del proteasoma u otro inhibidor de NFkB; o radiación.  
45
24. Composición para su uso según la reivindicación 22, en la que la otra terapia o terapias comprenden la administración al sujeto de uno o más de Zylprim, alemtuzumab, altretamina, amifostina, nastrozol, anticuerpos contra antígeno de membrana prostático específico tales como MLN-591, MLN591RL y MLN2704, trióxido de arsénico, Avastin® u otro anticuerpo anti-VEGF), bexaroteno, bleomicina, busulfano, capecitabina, carboplatino, oblea Gliadel, celecoxib, clorambucilo, cisplatino, gel de cisplatino-epinefrina, cladribina, citarabina liposomal, daunorubicina liposomal, daunorubicina, daunomicina, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, solución Elliott's B, epirubicina, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, exemestano, fludarabina, 5-FU, fulvestrant, gemcitabina, gemtuzumab-ozogamicina, acetato de goserelina, hidroxurea, idarubicina, idarubicina, Idamycin, ifosfamida, mesilato de imatinib, irinotecán u otro inhibidor de topoisomerasa, incluyendo anticuerpos tales como MLN576 XR11576, letrozol, leucovorina, leucovorina, levamisol, daunorubicina liposomal, melfalán, L-PAM, mesna, metotrexato, metoxsalen, mitomicina C, mitoxantrona, MLN518 o MLN608 u otros inhibidores de la tirosina cinasa receptora flt-3, PDGF-R o c-kit, itoxantrona, paclitaxel, pegademas, pentostatina, porfímero sódico, rituximab RITUXAN®, talco, tamoxifeno, temozolamida , tenipósido, VM-26 , topotecán, toremifeno, trastuzumab Herceptin®, u otro anticuerpo anti-HER2, 2C4 u otro anticuerpo que interfiere en la señalización mediada por HER2, tretinoína, ATRA, valrubicina, vinorelbina, o pamidronato, zoledronato u otro bisfosfonato.  
50
25. Composición para su uso según la reivindicación 22, en la que la otra terapia o terapias comprenden un anticuerpo frente a IGF-R.  
60
- 65

26. Endoprótesis vascular de elución de fármaco que comprende una endoprótesis vascular que contiene un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo disperso en una matriz o dispuesto en canales, depósitos u otras cámaras sobre o en dicha endoprótesis.

5

27. Endoprótesis de elución de fármaco según la reivindicación 26, en la que la endoprótesis es una endoprótesis Angiomed (Bard), Cardiocoil (In-Stent Medtronic), CORIN-THIAN (BSC), Radius (Scimed), Wallstent (Schneider), Act-one (ACT), Angiostent (AngioDynamics), be-Stent (In-Stent Medtronic), BiodivYsio (Biocompatibles), Cordis, Cross-flex (Cordis), Crown (JJIS), Freedom (Global therapeutics), Gianturco-Roubin II (Cook), Jo-med, Jostent flex (Jomed), Microstent GFX (AVE), Multilink (Guidant-ACS), NIR (Medinol), NIR Royal (Medinol), NIRflex (Medinol), NIRSIDE flex (Medinol), Palmaz-Schatz (JJIS), STS (De Scheerder), Tensum (Biotronic), Wiktor-GX (Medtronic), Wiktor-I (Medtronic), X-Trode (Bard), Y-Flex (Devon), Tsunami (Terumo), Bx Velocity (J&J), SLK-View (Advanced Stent Technologies, Inc.) o Duraflex (Avantec).

10