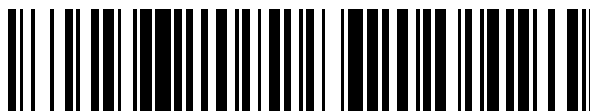


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 516 692**

51 Int. Cl.:

C07D 498/18 (2006.01)

A61K 31/439 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

A61F 2/06 (2013.01)

A61L 31/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2004 E 07012359 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.09.2014 EP 1852437**

54 Título: **Derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina y composiciones que comprenden derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina**

30 Prioridad:

12.11.2003 US 706055

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

31.10.2014

73 Titular/es:

BIOSENSORS INTERNATIONAL GROUP, LTD.

(100.0%)

Clarendon House, 2 Church Street

Hamilton HM 11, BM

72 Inventor/es:

BETTS, RONALD E.;

SAVAGE, DOUGLAS R. y

SHULZE, JOHN E.

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 516 692 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

Derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina y composiciones que comprenden derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina

5

Ámbito de la Invención

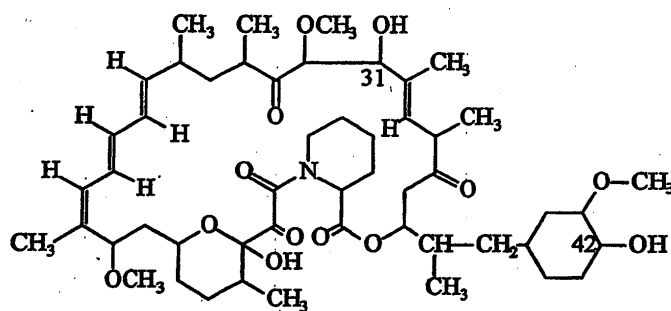
[0001] La presente invención hace referencia a derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina y composiciones que comprenden derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina.

10

Antecedentes de la invención

[0002] La rapamicina es un compuesto trieno macrocíclico que se extrajo en un principio de un estreptomiceto (*Streptomyces hygroscopicus*) aislado de una muestra de suelo de la Isla de Pascua (Vezina et al., *J. Antibiot.* 28:721 (1975); Patentes EE.UU. n.º 3.929.992; 3.993.749). La rapamicina tiene la estructura mostrada en la Fórmula I:

15



Originalmente se describió para su uso como fármaco antimicótico (Patente EE.UU. n.º 3.929.992) y después se vio que era un fármaco eficaz para otros trastornos, como el tratamiento del cáncer y tumores (Patente EE.UU. n.º 4.885.171), la prevención de inmunopatías experimentales (encefalitis alérgica experimental y artritis inducida por adyuvante; Martel, R., *Can. J. Physiol.*, 55:48 (1977)), la inhibición del rechazo de trasplantes (Patente EE.UU. n.º 5.100.899) y la inhibición de la proliferación de las células musculares lisas (Morris, R., *J. Heart Lung Transplant*, 11(pt 2) (1992)).

20

25

[0003] El acuerdo para numerar la rapamicina ha cambiado recientemente y, bajo la nomenclatura revisada del Chemical Abstract Service, lo que antes era la posición 40 es ahora la posición 42 y la antigua posición 28 es ahora la 31.

30

[0004] La utilidad del compuesto como sustancia farmacéutica está limitada por su biodisponibilidad muy baja y variable y su elevada toxicidad. Además, la rapamicina es muy poco soluble en agua, es decir, 20 microgramos por mililitro, lo que hace difícil formularla en composiciones estables adecuadas para que se libere in vivo. Para superar estos problemas se han sintetizado profármacos y derivados del compuesto. Se han descrito profármacos hidrosolubles preparados derivando las posiciones 31 y 32 (antes posiciones 28 y 40) de la estructura de la rapamicina para formar los profármacos glicinato, propionato y butirato de pirrolidina (Patente EE.UU. n.º 4.650.803). Los numerosos derivados de la rapamicina descritos en el arte son los derivados monoacilo y diacilo (Patente EE.UU. n.º 4.316.885), los derivados acetal (Patente EE.UU. n.º 5.151.413), los ésteres sililo (Patente EE.UU. n.º 5.120.842), hidroxiésteres (Patente EE.UU. n.º 5.362.718) y los derivados alquilo, arilo, alquenilo y alquinilo (Patentes EE.UU. n.º 5.665.772; 5.258.389; 6.384.046; WO 97/35575).

35

EE.UU. 5.151.413 se relaciona con acetales de rapamicina, su uso médico y las composiciones farmacéuticas correspondientes.

EE.UU. 5.378.836 se relaciona con los derivados oxima e hidrazona de la rapamicina.

WO 95/16691A se relaciona con los derivados demetoxi de la rapamicina y su uso como inmunodepresores.

5 WO 03/090684 se relaciona con composiciones de polímero que comprenden los derivados alquilo 42-O-hidroxi-C₇₋₁₁ de la rapamicina y sus usos médicos, por ejemplo en la inhibición de la restenosis en el lugar de lesión de la pared vascular, en cuya composición entra una cubierta situada sobre la porción que está en contacto con la pared vascular de una endoprótesis vascular expansible.

10 EE.UU. 5.985.890 se relaciona entre otras con derivados con sustituciones 42-O-hidroxi alquilo y 42-O-alcoxi alquilo de la rapamicina y su uso médico como en el tratamiento de la proliferación de la célula muscular lisa y la restenosis.

15 **[0005]** Una de las deficiencias de muchos de los profármacos y derivados de la rapamicina es la síntesis complicada que conlleva la preparación del profármaco o del derivado, en la que son necesarios pasos sintéticos adicionales para proteger y desproteger ciertas posiciones. Además, hay que tener cuidado para diseñar profármacos y derivados que conserven la actividad del compuesto y no oculten de forma estérica posiciones necesarias para la unión de proteínas u otras interacciones celulares. Los derivados que tienen una cadena de longitud o volumen estérico cortos en la estructura química unida al compuesto tienen menos probabilidades de producir obstáculos estéricos en los lugares de unión. Sería deseable diseñar un derivado que tuviera una cadena corta o un tamaño menor de la estructura unida.

20 **[0006]** Uno de los usos terapéuticos recientes de la rapamicina y de sus derivados ha sido el del tratamiento de la restenosis. La restenosis después de la angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) sigue siendo una de sus principales limitaciones (Harhon, M. et al., *Drug Therapy*, 4:291-301 (1998)). La aparición de la restenosis después de una ACTP se sitúa entre el 30 y 50% de los casos, a pesar del éxito inicial (Bauters, C. et al., *Am. Coll. Cardiol.*, 20:845-848 (1992); Bauters C. et al., *Eur. Heart J.*, 16:33-48 (1995)). La restenosis después de la ACTP se considera un proceso que posee los dos componentes de hiperplasia de la íntima y reestructuración vascular, el primero en primer lugar y el segundo más tardío en el proceso (Hoffman, R. et al., *Circulation*, 94:1247-1254 (1996); Oesterie, S. et. al., *Am. Heart J.*, 136:578-599 1998)).

25 **[0007]** Una estrategia para eliminar o reducir la restenosis es limitar el proceso de reestructuración vascular. Esto puede conseguirse colocando una endoprótesis en la luz del vaso después de la ACTP. Las endoprótesis coronarias son pequeños implantes tubulares metálicos que se utilizan ampliamente para evitar un nuevo cierre agudo o colapso de los vasos después de la angioplastia. En la actualidad, las endoprótesis se colocan habitualmente en el 70 a 80% de todos los casos intervenidos.

30 **[0008]** En muchos casos, esta estrategia funciona, pero aún queda mucho para entender completamente o conquistar el problema de la restenosis (Hamon, M. et. al., *Drug Therapy*, 4:291 -301 (1998); Oesterie, S. et. al., *Am. Heart J.*, 136:578-599 (1998)). La lesión provocada por la angioplastia y la colocación de la endoprótesis causa a menudo una respuesta cicatricial excesiva, incluidas la trombosis y la proliferación celular rápida dentro de la endoprótesis, lo que lleva de nuevo al cierre del conducto vascular. Sigue siendo necesario resolver el nuevo estrechamiento final de la luz dentro de la endoprótesis (es decir restenosis) después de la angioplastia y la colocación de la endoprótesis que experimentan muchos pacientes.

40 **Resumen de la invención**

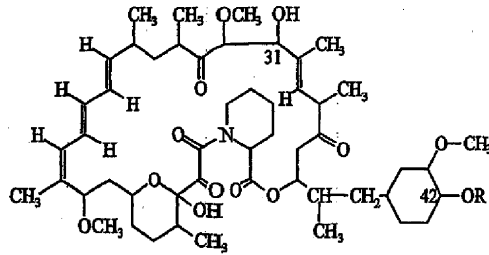
45 **[0009]** Por consiguiente, es objetivo de la invención proporcionar un compuesto para tratar los trastornos que respondan al tratamiento con rapamicina. De forma más específica, es objeto de la invención proporcionar un derivado éter de la rapamicina que posea actividad inmunodepresora, antimicótica, antitumoral o antiinflamatoria en vivo y que sea por tanto útil para el tratamiento del rechazo del trasplante, las enfermedades infecciosas, las enfermedades autoinmunitarias y aquellos trastornos caracterizado por una proliferación celular excesiva.

[0010] Otro objetivo de la invención es proporcionar una composición que comprenda un derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina.

[0011] Aún es otro objetivo de la invención proporcionar derivados de la rapamicina que puedan prepararse mediante síntesis con facilidad respecto a otros derivados de la rapamicina.

5 **[0012]** Es aún otro objetivo de la invención proporcionar una endoprótesis capaz de liberar un derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina.

[0013] En un aspecto, la invención comprende un compuesto de la forma:



10

donde R es de la forma $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_mH$, donde n es de 2 a 4 y m es de 2 a 4 y donde el número de átomos de carbono en R es de 5 o 6.

[0014] En otro aspecto, la invención incluye una composición que comprende un compuesto como el descrito antes, junto a un transportador. En varias versiones, el transportador es un preparado farmacéutico que tiene la forma de una pomada o un gel, micropartículas de polímero o un preparado farmacéutico que tiene forma líquida.

15

[0015] En una realización preferida, el transportador es una endoprótesis. La endoprótesis puede estar hecha de metal o polímero, incluidos polímeros biodegradables. Cuando el transportador es una endoprótesis, en una realización el compuesto farmacológico puede llevarse directamente en la superficie de la endoprótesis.

20

Otra alternativa es que el compuesto vaya en la capa de polímero que está en contacto con la endoprótesis.

[0016] En otro aspecto, la invención comprende una endoprótesis para el tratamiento de la restenosis. La endoprótesis está compuesta de un cuerpo expansible; y sobre el cuerpo de la endoprótesis, para su liberación a una velocidad controlada, está un compuesto que tiene la forma dada antes. El cuerpo de la endoprótesis puede estar hecho de metal o polímero, incluido un polímero biodegradable.

25

[0017] En una realización, la endoprótesis comprende además una capa de polímero en contacto con el cuerpo de la endoprótesis y el compuesto está incorporado en la capa de polímero. La capa de polímero puede estar compuesta de un polímero biodegradable o de un polímero no biodegradable.

[0018] En otra realización, la endoprótesis comprende una capa de imprimación de polímero dispuesta entre el cuerpo de la endoprótesis y el compuesto o capa de polímero.

30

[0019] En otra realización, la superficie del cuerpo de la endoprótesis está tratada para aumentar la adhesión del compuesto farmacológico, respecto a la superficie de la endoprótesis sin tratamiento. Por ejemplo, en una realización, la superficie de la endoprótesis se trata con una solución de ácido nítrico. En otra realización alternativa, la superficie de la endoprótesis se trata mediante un proceso como el chorro de arena, el grabado con láser o el grabado químico.

35

[0020] En otra realización, el compuesto se aplica a la superficie de la endoprótesis a partir de una solución del compuesto en un disolvente orgánico.

[0021] La endoprótesis también puede incluir una membrana aplicada sobre el compuesto para controlar su biodisponibilidad. Por ejemplo, se contempla una membrana formada de un material polímero y colocada sobre la endoprótesis cubierta de fármaco para controlar la velocidad de liberación del compuesto.

[0022] En otra realización, la endoprótesis incluye una capa de imprimación de un polímero en contacto con la superficie de la endoprótesis, y la película de compuesto/polímero está en contacto con la capa de imprimación de un polímero. Es decir, que la capa de imprimación está dispuesta entre el cuerpo de la endoprótesis y la capa de polímero cargada de fármaco. Ejemplos de capas de imprimación de un polímeros son el politetrafluoroetileno (Teflon^(R)) y el poli(dicloro-para-xilileno) (parileno).

[0023] En una realización, el compuesto se aplica al cuerpo de la endoprótesis en forma de una solución del compuesto en un disolvente orgánico. La solución se aplica a la endoprótesis mediante una técnica seleccionada entre el cepillado, el pulverizado, la inmersión y el flujo. En una realización preferida, la aplicación del compuesto se hace de tal manera que forma una capa vidriosa del compuesto sobre la superficie de la endoprótesis. Se prefieren las soluciones compuestas de entre el 2 y el 60 % del peso de compuesto, y el resto es disolvente. Un ejemplo de disolvente orgánico es el acetato de etilo.

[0024] El compuesto de la invención puede utilizarse para tratar trastornos que respondan a la rapamicina, mediante la administración del compuesto con la forma descrita anteriormente. El compuesto puede administrarse en forma de un transportador, como los descritos anteriormente.

[0025] En otro aspecto, la endoprótesis de la invención puede usarse para tratar la restenosis.

[0026] Estos y otros objetivos de la invención se apreciarán mejor cuando se lea la siguiente descripción detallada de la invención junto a los dibujos acompañantes.

Breve descripción de los dibujos

[0027] La Fig. 1 muestra un patrón de fragmentación en MS representativo de un derivado 42-O-alcoxilalquilo de la rapamicina, la 42-O-(2-etoxietil) rapamicina;

[0028] La Fig. 2 es un gráfico que muestra la proliferación celular de las células musculares lisas humanas *in vitro*, expresada en forma de porcentaje del crecimiento respecto a las células control, y en función de la concentración molar del fármaco 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina (cuadrados), rapamicina (triángulos, círculos) y 42-O-(hidroxi heptilo) rapamicina (diamantes);

[0029] Las Figs. 3A-3C ilustran una endoprótesis vascular que tiene un cuerpo de filamentos metálicos y está formada de acuerdo con una realización de la presente invención, y que muestra la endoprótesis en sus estados contraído (Fig. 3A) y expandido (Fig. 3B, Fig. 3C) en las vistas lateral (Fig. 3B) y transversal (Fig. 3C);

[0030] La Fig. 4 muestra la liberación en el laboratorio del fármaco, en μg , en un medio de liberación de etanol-agua en función del tiempo, en horas, a partir de seis endoprótesis, cada una con una carga de ácido poli-D-láctico con (42-O-(2-etoxietilo) rapamicina;

[0031] Las Figs. 5A-5I son microfotografías generadas por ordenador de cortes histológicas de un cerdo al que se le implantaron tres endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina en la arteria descendente anterior izquierda (Figs. 5A-5C), la arteria circunfleja izquierda (Figs. 5D-5F) y la arteria coronaria derecha (Figs. 5G-5I);

[0032] Las Figs. 6A-6I son microfotografías generadas por ordenador de cortes histológicos de un cerdo al que se implantaron tres endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina en la arteria descendente anterior izquierda (Figs. 6A-6C), la arteria circunfleja izquierda (Figs. 6D-6F) y la arteria coronaria derecha (Figs. 6G-6I);

[0033] Las Figs. 7A-7C muestran la arteria coronaria derecha de un animal control 30 días después de la implantación de una endoprótesis metálica desnuda; la Fig. 7A muestra una imagen de la endoprótesis colocada en la arteria y las Figs. 7B-7C muestran vistas transversales de la endoprótesis con dos aumentos diferentes;

[0034] Las Figs. 8A-8C muestran la arteria descendente anterior izquierda de un animal control 30 días después de la implantación de una endoprótesis de metal desnuda; la Fig. 8A muestra una imagen de la endoprótesis colocada en la arteria y las Figs. 8B-8C muestran vistas transversales de la endoprótesis con dos aumentos diferentes;

5 **[0035]** Las Figs. 9A-9C muestran la arteria circunfleja izquierda de un animal control 30 días después de la implantación de una endoprótesis de metal desnuda; la Fig. 9A muestra una imagen de la endoprótesis colocada en la arteria y las Figs. 9B-9C muestran vistas transversales de la endoprótesis con dos aumentos diferentes;

10 **[0036]** La Fig. 10 es un gráfico de una pérdida tardía, en mm, en función de la puntuación de la lesión en endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina (línea continua), endoprótesis liberadoras de 42-O-hidroxi heptilo rapamicina (línea discontinua) y endoprótesis control (metal desnudo) (línea punteada) 30 días después de su implantación en vasos de cerdo; y

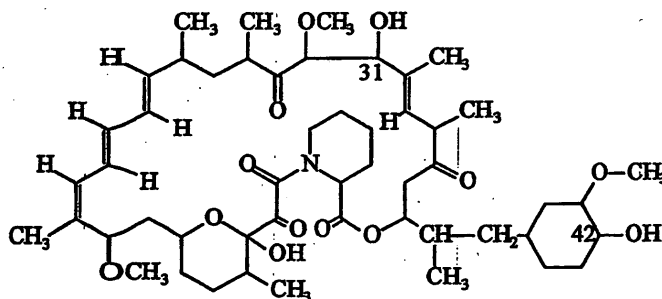
15 **[0037]** La Fig. 11 es un gráfico de la pérdida tardía, en mm, en función de la puntuación de la lesión en endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina (línea continua), endoprótesis liberadoras de 42-O-hidroxi heptilo rapamicina (es decir everolimus) (línea discontinua) y endoprótesis control (metal desnudo) (línea punteada), 30 días después de la implantación en vasos de cerdo.

20 **[0038]** La Fig. 12 muestra un gráfico de la frecuencia de restenosis con el incremento de la longitud de las endoprótesis. Los datos se obtuvieron del Sirius Trial de endoprótesis liberadoras de sirolimús (Cypher) tal y como se comunicó en 2002 en las Trans Catheter Therapeutics Scientific Sessions mantenidas en Washington DC.

Descripción detallada de invención

I. Definiciones

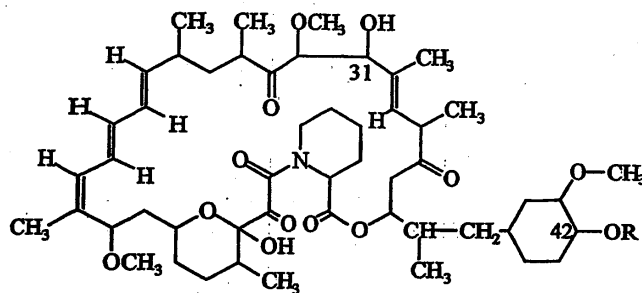
[0039] «Rapamicina» tal y como se usa aquí se refiere a un compuesto con la estructura:



25 A este compuesto también se le conoce en el arte como «sirolimús».

30 **[0040]** Un «derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina» se refiere a un compuesto donde el grupo hidroxilo del carbono número 42 del compuesto rapamicina se ha modificado por una estructura de la forma $(CH_2)_n - O - (CH_2)_mH$, donde n es dos (2) o más y m es uno (1) o más. Recientemente ha cambiado el acuerdo para numerar la rapamicina y, bajo la nomenclatura revisada del Chemical Abstracts Service, lo que antes era la posición 40 es ahora la posición 42.

[0041] «Everolimus» se refiere a un compuesto con la estructura



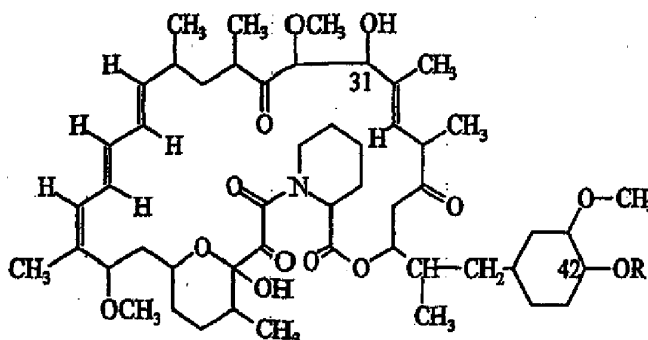
donde R es CH₂CH₂OH (hidroxi etilo).

[0042] El compuesto referido aquí como «42-O-hidroxi heptilo rapamicina» se refiere a la estructura mostrada para el everolimus donde el grupo R tiene la forma (CH₂)₇OH.

[0043] Una «cantidad eficaz» o una «cantidad efectiva» se refieren a una dosis suficiente para tratar el trastorno o estado morboso deseado. Esto variará en función del paciente, la enfermedad y el tratamiento efectuado, pero se determina fácilmente usando marcadores clínicos particulares del trastorno o enfermedad que preocupa. Por ejemplo, una medida del área transversal de la cantidad de nuevas células (es decir tejido) crecidas dentro de una endoprótesis después de la implantación y la lesión de la pared vascular por una expansión forzada de la endoprótesis con un catéter con globo proporciona un marcador clínico de la restenosis. Una reducción o estabilización del volumen de tejido después de la aplicación de una dosis de un fármaco activo en el lugar de un tumor proporciona un marcador clínico del tratamiento del tumor. Un marcador clínico relacionado con el trasplante de órganos o la cirugía de injerto vascular sería vigilar la función orgánica o la permeabilidad continua (es decir ausencia de reoclusión o nuevo estrechamiento) en los aloinjertos trasplantados. Para las heridas cutáneas, un marcador clínico sería vigilar los cambios en los marcadores de la inflamación de enrojecimiento, formación de granuloma o fibrosis. Para una hipertrofia de la próstata, un marcador clínico sería vigilar cualquier reducción en la recidiva del bloqueo ureteral.

II. Compuestos derivados 42-O-alcóxialquilo de la rapamicina

[0044] En un aspecto, la invención proporciona derivados de la rapamicina, específicamente derivados 42-O-(alcóxialquilo) de la rapamicina de la forma:



donde R es R^a-O-R^b, donde R^a es C₂₋₄ alquilenos y R^b es C₂₋₄ alquilo. Como se utiliza aquí, «alquilenos» se refiere a un grupo alquilo divalente, p. ej. -CH₂CH₂- (etileno). La suma de los átomos de carbono en R^a y R^b es 5 o 6. En R^a y R^b, los grupos alquilenos o alquilo que tienen tres o más carbonos son lineales. Según ello, R es de la forma -(CH₂)_n-O-(CH₂)_mH, donde *n* es de 2 a 4 y *m* es de 2 a 4.

[0045] En versiones seleccionadas, m puede ser 2. En otras versiones seleccionadas, n es 2 (es decir, R^a es etileno).

[0046] Los derivados 42-O-(alcoxilquilo) de la rapamicina de la invención pueden prepararse mediante la reacción del grupo 42-hidroxilo de la rapamicina con un compuesto de la forma $L-R^a-O-R^b$, donde R_a y R_b son como se definió antes y L es un grupo saliente. Los grupos salientes adecuados son, por ejemplo, los halogenados, como el bromo o el yodo, y sulfonatos, como el tosilato, el mesilato o el sulfonato de trifluorometano (triflato). El derivado se forma desplazando el grupo saliente con el grupo 42-hidroxilo de la rapamicina, como se ilustra en el Ejemplo 1. En la Fig. 1 se muestra un escaneado del producto iónico representativo de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina obtenido usando espectrometría de masas en tándem (Sciex AP14000).

[0047] Compuestos de la forma $L-R^a-O-R^b$ se preparan fácilmente a partir de los alcoholes alcoxi $HO-R^a-O-R^b$ correspondientes, por reacción con, por ejemplo, anhídrido trifluorometilosulfónico (tríflico), generalmente en presencia de un catalizador amina como la lutidina, como se describió en el Ejemplo 1 que se muestra más abajo.

[0048] Muchos alcoholes alcoxi se encuentran comercializados. Por ejemplo, los compuestos 2-etoxi etanol, 2-metoxi etanol, 1-metoxi-2-propanol, 3-etoxi-1-propanol, 2-isopropoxi etanol, 1-metoxi-2-butanol, 3-metoxi-1-butanol, 2-propoxi etanol, 2-butoxi etanol, 3-metoxi-3-metilo-1-butanol, 3-propoxi propanol, 1-tert-butoxi-2-propanol, 3-butoxi propanol y éter de propilenglicol butilo pueden adquirirse en Aldrich Corporation. Con respecto a las versiones seleccionadas anteriormente, los compuestos en los que n es 2 (es decir, R^a es etileno) y m es 1-2 (es decir, R^b es metilo o etilo) pueden prepararse usando 2-metoxi etanol y 2-etoxi etanol, respectivamente; la preparación de 42-O-(2-metoxietilo) rapamicina se describe en el Ejemplo 2 y la preparación de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina en el Ejemplo 1.

[0049] Los alcoholes alcoxi $HO-R^a-O-R^b$ pueden adquirirse o prepararse a partir de los dioles correspondientes $HO-R^a-OH$ mediante eterificación con R^b , usando preferiblemente un proceso que da de forma predominante o exclusiva un producto monoderivado. Por ejemplo, Shanzer (tet. Lett. 21(2), 221-2,1980) describe un proceso para la monoalquilación eficiente de dioles mediante la reacción de un intermediario estanoxano, derivado del diol, con un haluro alquilo. Martinelli et al. describen la monotosilación de dioles por reacción con cloruro de p-toluenesulfonilo y trietiloamina en presencia de Bu_2SnO catalítico (*J. Am. Chem. Soc.* 124(14):3578-3585.2002). El monotosilato podría entonces tratarse con un alcóxido para dar el alcohol alcoxi. Los procedimientos citados son los más adecuados para los 1,2-dioles; es decir, donde R_a representa una cadena de dos carbonos que separan los grupos hidroxilo (como en los derivados preferidos). Se ofrece un método de monoderivación de dioles más largos en McDougal (*J. Org. Chem.*, 51:3388 (1986)). Se obtiene un alto rendimiento de producto tert-butildimetilosilil monosilado ($TBS-OR^a-OH$) a partir de dioles simétricos. Este producto protegido puede activarse con un grupo saliente adecuado como el triflato mediante la reacción con el anhídrido trifluorometano sulfónico y una base adecuada como la 2,6-lutidina. La reacción del producto triflato con el alcohol adecuado (R^b-OH) y 2,6-lutidina seguida de la hidrólisis del grupo protector sililo con ácido obtendrá el alcoxi alcohol. En el caso de los dioles que no son simétricos, el término menos escondido reaccionará generalmente de forma preferente. En cualquier caso, cualquier subproducto bis-alcoxi (p. ej. $R^bO-R^a-OR^b$) puede separarse fácilmente del alcohol alcoxi deseado ($HO-R^a-OR^b$) por procedimientos de purificación estándar, como la cromatografía.

[0050] La potencia de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina se estudió en el laboratorio y se comparó con la potencia de otro derivado de la rapamicina, 42-O-hidroxi heptilo rapamicina, y con la potencia de la rapamicina. El procedimiento de prueba se describe en el Ejemplo 3 y los resultados se muestran en la Fig. 2.

[0051] El derivado 42-O-(2-etoxietil) de la rapamicina (cuadrados) inhibió de forma eficaz el crecimiento de las células musculares lisas en unos cinco órdenes de magnitud de concentración tanto en células porcinas

como humanas, como se observa en la Fig. 2. También se observó que la 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina inhibió el crecimiento celular de forma tan eficaz como la 42-O-hidroxi heptilo rapamicina (diamantes) o la rapamicina (triángulos, círculos).

5 **III. Composiciones que comprendan un derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina**

10 **[0052]** En otro aspecto, la invención incluye una composición que incorpora el compuesto derivado 42-O-(alcoxialquilo) de la rapamicina. Se contempla una amplia variedad de composiciones y preparados y se expondrán con más detalle más adelante varios ejemplos específicos. En general, la composición sirve como cierto tipo de reservorio del fármaco que contiene y libera el compuesto después de la aplicación o depósito de la composición en la zona diana.

A. Partículas de polímero

15 **[0053]** Un ejemplo de composición es un preparado de partículas de polímero que son adecuadas para su colocación *in vivo* por medio de inyección o transporte y depósito usando un dispositivo, como un catéter. Las partículas de polímero pueden ser microporosas, macroporosas o no porosas y pueden estar formadas de un polímero capaz de retener el compuesto derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina deseado.

20 **[0054]** Las partículas porosas de polímero tienen poros interconectados que se abren a la superficie de la partícula para su comunicación con el exterior de la partícula y los espacios internos del poro. Se han descrito ejemplos de partículas para formar tales reservorios macroporosos, por ejemplo, en la Patente EE.UU. n.º 5.135.740, incorporada por referencia aquí. De forma rápida, las partículas porosas se forman, por ejemplo, mediante polimerización por suspensión en un sistema de líquido-líquido. En general, se forma una solución que contiene monómeros y un catalizador de la polimerización que es inmisible con el agua. Se incluye en la solución un disolvente inerte miscible con la solución pero inmisible con el agua. La solución se suspende entonces en una solución acuosa, que generalmente contiene aditivos tales como surfactantes y dispersantes para promover la suspensión o la emulsión. Una vez establecida la suspensión con gotículas separadas del tamaño deseado, se consigue la polimerización, habitualmente activando los reactivos mediante el incremento de la temperatura o la irradiación. Una vez que se ha completado la polimerización, se recuperan las partículas sólidas resultantes de la suspensión. Las partículas son estructuras sólidas, esféricas y porosas, y el polímero se forma alrededor del líquido inerte, estableciendo así la red de poros. El disolvente inerte, que sirvió como porógeno, o sustancia formadora de poros, ocupa los poros de las partículas. El porógeno se elimina posteriormente.

35 **[0055]** Las partículas macroporosas pueden prepararse también mediante la evaporación del disolvente a partir de un polímero biodegradable o no degradable. Para el proceso de evaporación del disolvente, el polímero deseado se disuelve en un disolvente orgánico y la solución se vierte entonces sobre una capa de cristales de cloruro de sodio del tamaño de partícula deseado (Mooney, et al., J. Biomed. Mater. Res. 37:413-420, (1997)). El disolvente se elimina, generalmente por evaporación, y el polímero sólido resultante se sumerge en agua para eliminar el cloruro de sodio, lo que da lugar a un reservorio de polímero poroso. Los cristales de cloruro de sodio también pueden dispersarse en la solución de polímero mediante agitación para obtener una dispersión uniforme de los cristales de cloruro de sodio. La dispersión se forma por extrusión gota a gota en una sustancia no disolvente para el polímero mientras se agita para precipitar las gotículas de polímero alrededor de los cristales de cloruro de sodio. Las partículas sólidas de polímero se recogen por filtración o centrifugación y después se sumergen en agua para eliminar el cloruro de sodio, lo que origina un reservorio de polímero poroso. Se apreciará que las alternativas al cloruro de sodio son cualquier sal hidrosoluble o polímero hidrosoluble de masa molecular baja no tóxico que puede eliminarse para producir la porosidad deseada.

[0056] Las partículas porosas pueden cargarse en uno o más fármacos incluyendo compuestos en el polímero durante la formación de la partícula o cargando las partículas después de su formación. La carga después de la formación de las partículas puede hacerse, por ejemplo, disolviendo el compuesto farmacológico en un disolvente que actúe disolviendo el fármaco pero no disuelva el polímero y mezclándolo agitando las partículas y la solución del fármaco. Las partículas absorben la solución del fármaco para dar lugar a un polvo de flujo libre. Las partículas pueden tratarse entonces para eliminar el disolvente, cuando sea necesario.

[0057] Otro ejemplo de composición de partícula de polímero es el de las partículas no porosas, como las microcápsulas y las micropartículas que tienen el compuesto contenido o dispersado en su interior. Tanto las microcápsulas como las micropartículas son bien conocidas en las industrias farmacéutica y de liberación de fármacos (v., por ejemplo, Baker, R.W., CONTROLLED RELEASE OF BIOLOGICALLY ACTIVE AGENTS, John Wiley & Sons, NY, 1987; Ranade V. y Hollinger, M., fármaco DELIVERY SYSTEMS. CRC Press, 1996). Las microcápsulas se refieren habitualmente a un reservorio de la sustancia activa rodeado de una cubierta de membrana de polímero. Una micropartícula se refiere habitualmente a un sistema monolítico donde la sustancia(s) terapéutica se dispersa a través de la partícula. Hay, sin embargo, muchos preparados que encajan en estas dos definiciones, como los aglomerados de microcápsulas, y tales preparados serían adecuados aquí.

[0058] Las microcápsulas y las micropartículas pueden prepararse a partir de polímeros biodegradables o no biodegradables. Las microcápsulas se forman fácilmente por diferentes métodos, como la coacervación, la polimerización interfacial, la evaporación con disolvente y la encapsulación física (, Baker, R.W., CONTROLLED RELEASE OF BIOLOGICALLY ACTIVE AGENTS, John Wiley & Sons, NY, 1987). Las micropartículas se preparan mediante numerosas técnicas conocidas en el arte; una forma sencilla es simplemente moler una película de polímero que contenga la sustancia terapéutica dispersada en un tamaño adecuado. Otro método es el secado por pulverización de la sustancia terapéutica en partículas a partir de una solución de polímero. En la patente EE.UU. n.º 4.675.189 y la solicitud de patente EE.UU. n.º 20010033868 se revelan procedimientos específicos para la encapsulación de sustancias con actividad biológica que se incorporan por referencia aquí.

[0059] Los polímeros adecuados para la formación de partículas son numerosos y variados; el criterio de selección general es el de ser un polímero capaz de portar el compuesto derivado 42-O-alcoxilalquilo rapamicina. Algunos ejemplos de polímeros son, entre otros, polímeros poli(ácido-*D*-láctico), poli(ácido-*L*-láctico), poli(ácido-*D*-láctico), polímeros de metacrilato, como el polibutilo metacrilato y los similares etileno vinil alcohol (EVOH), ϵ -caprolactona, glicólida, etilovinilo acetato hidroxilado (EVA), alcohol polivinílico (PVA), óxidos de polietileno (PEO), amidas poliéster y copolímeros y mezclas de los anteriores. Estos polímeros tienen un registro de uso seguro e inflamatorio bajo en la circulación sistémica. Habitualmente se combinará entre un 20-70 del porcentaje del peso del polímero con un 30-80 del porcentaje del peso del compuesto 42-O-hidroxi alquilo sustituido de rapamicina para formar la composición del polímero.

[0060] Las partículas, ya sean porosas o no porosas, pueden variar ampliamente de tamaño, desde unos 0,1 micrones a unos 100 micrones de diámetro, preferiblemente de unos 0,5 micrones a unos 40 micrones. Las partículas pueden administrarse como partículas limpias, o prepararse en un gel, pasta, pomada, ungüento o líquido viscoso para su aplicación en la zona diana.

[0061] En otra realización, las partículas de polímero se mezclan con el derivado de la rapamicina y la mezcla se aplica a la superficie de una endoprótesis. Las partículas de polímero en esta realización sirven para unir el fármaco a un material de cubierta y controlar la velocidad de liberación del fármaco desde la cubierta. Son adecuadas partículas formadas de ceras, lípidos, polímeros de cadena corta, como el propano y el butano.

[0062] Como ejemplo de partículas de polímero, la composición del polímero de la invención es capaz de dispensarse o colocarse en la zona diana, para el contacto de la composición del polímero con el tejido en la zona diana. Aquellos hábiles en el arte apreciarán que las partículas de polímero son solo un ejemplo de una composición que consigue el contacto con el tejido diana. Los polímeros capaces de llevar una carga de un

compuesto hidrofóbico pueden formularse en películas, parches, pastas, ungüentos o geles, todos los cuales pueden colocarse o dispensarse en la zona diana. Por ejemplo, un simple parche de polímero preparado a partir de un polímero cargado con el derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina puede colocarse en la superficie del tejido que precise tratamiento. Tal superficie tisular puede ser un vaso, un órgano, un tumor o una superficie corporal lesionada o herida.

B. Composición del polímero mucoadhesivo

[0063] En otra realización, la composición está formada por un sustrato de polímero que tiene propiedades mucoadhesivas, con el fin de colocarlo adyacente al tejido mucoso. Las mucosas del cuerpo son el fondo de saco del ojo, la cavidad oral, la nariz, el recto, la vagina, la bolsa periodontal, los intestinos y el colon. Los sistemas de liberación mucoadhesivos se adhieren a los tejidos mucosos con el fin de administrar el compuesto(s) contenido dentro del polímero mucoadhesivo.

[0064] Se utilizan varias composiciones poliméricas en los preparados de liberación mucosa. Tiene un interés particular en el uso de los derivados 42-O-alcoxialquilos de la rapamicina es que son mucoadhesivos que tienen una combinación de propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas. Un ejemplo son los adhesivos que son una combinación de pectina, gelatina y carboximetilo sódico celulosa en un polímero hidrocarbonado adherente, para adherirse a la mucosa oral. Otros mucoadhesivos que tienen dominios hidrofílicos e hidrofóbicos son, por ejemplo, los copolímeros de poli(metilo vinilo éter/anhídrido maleico) y gelatina, dispersados en un base de pomada, como aceite mineral que contiene polietileno dispersado (Pat. EE.UU. n.º 4.948.580). Otro sistema hidrofílico/hidrofóbico se describe en la Pat. EE.UU. n.º 5.413.792 donde se revela una preparación en forma de pasta de un poliorganosiloxano y un material polimérico hidrosoluble.

[0065] En la presente invención se contempla una composición polimérica formada por un sustrato de polímero mucoadhesivo y un derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina. La composición del polímero mucoadhesivo se formula en un sistema de liberación adecuado para su colocación junto a una superficie mucosa. El compuesto, cuando se coloca junto al tejido mucoso adyacente, se libera del polímero hacia el tejido. El sistema de liberación puede tomar la forma de un parche para su colocación en la superficie del tejido que se va a tratar. El tejido puede ser un órgano, un vaso, un tumor o cualquier superficie corporal que precise tratamiento

C. Composiciones tradicionales del sistema liberador del fármaco: líquido, pomada, gel, parche

[0066] Los derivados 42-O-alcoxialquilo se formulan, en otras versiones, en preparados farmacéuticos de forma sólida, semisólida o líquida. Tales preparados son bien conocidos en el arte, donde el ingrediente activo se mezcla con un transportador orgánico o inorgánico o un excipiente adecuado para su administración externa, entérica o parenteral. Los transportadores y los excipientes para la preparación de comprimidos, gránulos, cápsulas, supositorios, soluciones, emulsiones y suspensiones son muy conocidos y comprenden, entre otros, el agua, la glucosa, la lactosa, la goma arábiga, la gelatina, el manitol, el almidón, el trisilicato de magnesio, el talco, la queratina, el sílice coloidal, la urea y similares. Pueden usarse sustancias estabilizadoras y espesantes.

[0067] Los preparados líquidos están compuestos de uno o más derivados 42-O-alcoxialquilo mezclados con un líquido transportador o un excipiente. Tal preparado puede contener otros componentes, como estabilizadores, cuando se desee. Cuando se mezcle con el transportador, el compuesto derivado 42-O-alcoxialquilo puede estar presente en un estado disuelto o suspendido. Pueden añadirse componentes, en particular disolventes orgánicos, para aumentar la solubilidad del derivado 42-O-alcoxialquilo.

[0068] También se contempla la preparación de geles o pomadas. La adición de espesantes al preparado líquido con el derivado 42-O-alcoxialquilo es una forma simplificada de preparar el gel. Pueden incluirse

componentes que aumenten el transporte del compuesto activo a través de la piel, la mucosa y las membranas celulares en el gel o pomada.

[0069] Los compuestos derivados 42-O-alcoxialquilo también pueden formularse en parches tópicos para su aplicación en la superficie corporal, incluidas las superficies cutáneas y mucosas. La preparación de tales parches tópicos es muy conocida en el campo de la liberación de fármacos.

D. Endoprótesis vascular

[0070] Otro ejemplo de transportador para usar la composición de la presente invención es una endoprótesis. Las endoprótesis vasculares suelen ser dispositivos habitualmente de forma cilíndrica capaces de expandirse de forma radial. Cuando se coloca en una luz corporal, una endoprótesis en su estado expandido ejerce una presión radial sobre la pared de la luz que contrarresta cualquier tendencia de esta a cerrarse. Las endoprótesis han encontrado un uso particular en el mantenimiento de la permeabilidad vascular tras una angioplastia, p. ej., en la prevención de la restenosis del vaso. En esta aplicación, se introduce una endoprótesis en un vaso dañado montándola en un catéter con globo, se hace avanzar el catéter hasta la localización deseada en el cuerpo del paciente, se inflan el globo para expandir la endoprótesis y después se desinfla y se retira el catéter. La endoprótesis en su estado expandido en el vaso ejerce una presión radial sobre la pared vascular en la zona de la lesión, para contrarrestar cualquier tendencia del vaso a cerrarse. También se conocen las endoprótesis «autoexpandibles», hechas de material de resorte, tubos de malla o aleaciones con memoria de forma. Estos dispositivos se suelen montar en un catéter con un vástago rodeado de una vaina que constriñe la expansión de los elementos de resorte de la endoprótesis hasta que la endoprótesis se coloca en el lugar de la lesión. La retracción de la vaina permite a la endoprótesis expandirse y contactar con la luz del vaso.

1. Geometría de la endoprótesis

[0071] En esta realización de la invención, la endoprótesis lleva uno o más derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina. El compuesto puede situarse en la superficie externa de la endoprótesis, para el contacto directo con una pared de la luz cuando la endoprótesis se despliegue, sobre la superficie interna de la endoprótesis o en sus superficies interna y externa. El compuesto(s) podría también situarse sobre partes seleccionadas de la superficie de la endoprótesis para obtener efectos terapéuticos más localizados (v. p. ej. solicitud EE.UU. compartida n.º de serie 10/133.814 y solicitud PCT n.º PCT/US03/12750, que se incorporan aquí por referencia). El compuesto puede llevarse directamente en la superficie de la endoprótesis o incorporarse en un polímero que porte la endoprótesis, como describiremos más adelante.

[0072] Se conocen numerosas geometrías y configuraciones de la endoprótesis en el arte, y cualquiera de las geometrías es adecuada para usarla aquí. Los requisitos básicos de la geometría de la endoprótesis son 1) que sea expandible tras colocarla en la zona de la lesión vascular y 2) que sea adecuada para recibir una cubierta de fármaco o llevar una cubierta que contenga el fármaco, en su superficie, con el fin de liberar el fármaco en la luz en la que se coloque la endoprótesis. Es preferible que el cuerpo de la endoprótesis tenga además una estructura en enrejado o malla que permita a las células endoteliales viables crecer entre las «ventanas» de la endoprótesis y encapsular sus puntales que soportan la luz vascular. El cuerpo de la endoprótesis puede estar formado de metal o polímero, incluidos polímeros biodegradables.

[0073] En las Figs. 3 y 4, donde se muestra una endoprótesis vascular adecuada para llevar un derivado 42-O-alcoxialquilo, se ilustra una configuración preferida de la endoprótesis. En las Figs. 3A-3B se muestra una endoprótesis 20 en los estados contraído (Fig. 3A) y expandido (Fig. 3B). La endoprótesis comprende un miembro estructural o cuerpo 22 que tiene una superficie externa para retener, directa o indirectamente, y liberar el derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina, como se describirá con mayor detalle más adelante. El cuerpo de la endoprótesis está formado por muchos miembros tubulares conectados, como los miembros 24 y 26. Cada

miembro está formado por un filamento que tiene una configuración expandible en zig zag, dientes de sierra o sinusoidal. Los miembros están unidos por conexiones axiales, como las conexiones 28 y 30, que unen los picos y los valles de miembros adyacentes. Esta construcción permite a la endoprótesis expandirse desde un estado contraído, que se muestra en la Fig. 3A, a uno expandido, que se muestra en la Fig. 3B, con poco o ningún cambio en su longitud. Al mismo tiempo, las conexiones relativamente infrecuentes entre los picos y los valles de miembros tubulares adyacentes permiten a la endoprótesis acomodarse al combado axial y la flexión. Esta característica puede ser particularmente importante cuando la endoprótesis se está colocando en una zona vascular en su estado contraído, como dentro o sobre un catéter. La endoprótesis tiene un diámetro típico en estado contraído (Fig. 3A) de entre 0,5 y 2 mm, preferiblemente de 0,71 a 1,65 mm, y una longitud de entre 5 y 100 mm. En estado expandido, mostrado en Fig. 3B, el diámetro de la endoprótesis es al menos del doble y hasta 8-9 veces el de la endoprótesis en su estado contraído. De este modo, una endoprótesis con un diámetro en contracción de entre 0,7 y 1,5 mm puede expandirse de forma radial hasta un estado expandido seleccionado de entre 2 y 8 mm o más.

[0074] La Fig. 3C muestra la endoprótesis de las Figs. 3A-3B en una vista transversal. La vista se toma a través del miembro tubular de la endoprótesis 24, con miembros tubulares adyacentes visibles. El cuerpo de la endoprótesis, y más específicamente cada miembro tubular, está cubierto de fármaco o una composición de polímero y fármaco, para liberar el fármaco de la endoprótesis en el lugar diana. Como describiremos con mayor detalle más adelante, el fármaco o la capa de fármaco y polímero se aplican a la superficie externa de la endoprótesis y puede depositarse para alcanzar un espesor de depósito uniforme o a un espesor de depósito no uniforme. La Fig. 3C ilustra la realización donde la capa de fármaco y polímero 32 se aplica de forma no uniforme de modo que la superficie externa de la endoprótesis tenga una capa de fármaco o fármaco-polímero más gruesa que la de la superficie interna de la endoprótesis.

2. Cubierta de fármaco

[0075] La endoprótesis sirve como transportador de un derivado 42-O-alcoxialquilo, que, como se señaló antes, puede cubrir directamente la endoprótesis o incorporarse en una matriz de polímero que lleva la endoprótesis. Ya se aplique directamente el fármaco a la superficie de la endoprótesis o se incorpore en la película de polímero en su superficie, es deseable que el derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina se libere de endoprótesis a lo largo de un período de al menos varias semanas, habitualmente 4-6 semanas, y opcionalmente de 2-3 meses o más. A continuación se exponen dos métodos para cargar el fármaco en una endoprótesis.

a. Unión directa a la superficie

[0076] El fármaco se sitúa directamente sobre la endoprótesis mediante, por ejemplo, la aplicación de una solución del fármaco en su superficie por inmersión, pulverización, cepillado o inmersión/giro, y se permite al disolvente que se evapore para dejar una película del fármaco en la superficie de la endoprótesis. En estudios realizados en apoyo de la invención se aplicó un derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina, 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina, directamente a la superficie de una endoprótesis metálica a partir de una solución de acetato de etilo. La solución del fármaco se pintó sobre la superficie de la endoprótesis y el disolvente se eliminó mediante evaporación para dejar una película de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina sobre ella. La película del fármaco fue suficientemente adherente como para permitir la implantación con catéter de la endoprótesis en cerdos y retener el fármaco sobre la superficie de la endoprótesis para su liberación. Puede aplicarse opcionalmente una membrana sobre la película del fármaco para cambiar las características de liberación del fármaco. Pueden formarse membranas de polímero por cubierta por inmersión o cubiertas por pulverización, como se conoce bien en el arte. La membrana también puede aplicarse a la superficie de la endoprótesis por un proceso de depósito

de vapor o de polimerización de plasma. En una realización se forma una película de politetrafluoroetileno (Teflón^(R)) o parileno por depósito con vapor como es bien conocido en el arte con el fin de modificar la velocidad de liberación del fármaco desde la endoprótesis. Otros polímeros y no polímeros adecuados para formar membranas de control de la difusión son poliimididas (vía depósito por vapor o cubierta con disolvente), polímeros fluorados, siliconas (depósito por vapor/plasma), policetonas (PEEK, etc.), imidas poliéter, poliacrilatos depositados por vapor/plasma, polietileno óxido polimerizado con plasma (PEO) y carbono amorfo.

[0077] La superficie de la endoprótesis puede tratarse antes de la aplicación del fármaco para aumentar la adhesión del fármaco o aumentar la superficie y retener una carga mayor del fármaco. En una realización, la superficie de la endoprótesis se trata por medios físicos. El tratamiento físico de la superficie puede consistir en volverla rugosa con lija o un chorro de perlas de vidrio. También puede grabarse la superficie de la endoprótesis con un láser con el fin de modificarla. Tales métodos de tratamiento físico consiguen una mayor superficie de endoprótesis, por ejemplo, formando poros microscópicos, ondulaciones, huecos, surcos o canales en la superficie de la endoprótesis. Esta técnica también puede servir para potenciar la adhesión del fármaco a la superficie de la endoprótesis.

[0078] En otra realización, la superficie de la endoprótesis se trata por métodos químicos para crear una superficie rugosa o una superficie activada, lo que sirve en ambos casos para aumentar e incrementar la retención del fármaco. Por ejemplo, la superficie de la endoprótesis puede sufrir un proceso de neutralización, donde una solución de ácido nítrico caliente crea un óxido sobre la superficie de la endoprótesis que promueve la adhesión y prepara la superficie para su unión posterior del organosilano. La superficie de las endoprótesis puede activarse también por métodos químicos para promover la unión del fármaco.

[0079] Se apreciará que la aplicación del fármaco directamente a la superficie de la endoprótesis puede hacerse en cuerpos de endoprótesis formados de metal o de polímero. Los tratamientos de la superficie previos a la aplicación del fármaco son también adecuados para cuerpos de endoprótesis de polímero y de metal. Las condiciones de tratamiento pueden ajustarse en función del material del que esté formada la endoprótesis.

[0080] En otra realización de la invención, el derivado 42-O-alcoialquilo de la rapamicina se aplica a la endoprótesis y da lugar a una capa vidriosa. «Vidrioso» tal y como se usa aquí se refiere al estado físico del material donde la capa se muestra a la vista transparente o traslúcida y no es cristalina. Una capa vidriosa de los compuestos derivados descritos aquí se consigue, por ejemplo, aplicando a la superficie de la endoprótesis una solución concentrada de un compuesto en un disolvente orgánico. La eliminación del disolvente obtiene una capa del fármaco, donde la película tiene pocos o ningún dominio de fármaco cristalino. Tales películas con un perfil fino pueden aplicarse a la superficie de la endoprótesis antes o después de la reducción del diámetro (es decir arrugado) como se precisa para montar el dispositivo en el catéter de transporte.

[0081] En esta realización, en la que el fármaco se aplica directamente en la superficie de la endoprótesis, se contempla además aplicar sobre la capa del fármaco una membrana que sirve para controlar la liberación del fármaco, lo que controla su biodisponibilidad. Se contempla una membrana preparada a partir de cualquier compuesto natural o sintético, y el tipo preferido de membrana es un polímero. Puede seleccionarse una gran cantidad de polímeros en función de la liberación deseada del fármaco desde la endoprótesis. Los polímeros pueden preformarse en una membrana que se coloca sobre la endoprótesis cubierta de fármaco en forma de una vaina, o la membrana de polímero puede formarse directamente sobre la capa de fármaco por un proceso seleccionado para no alterar ni romper la capa de fármaco.

b. Cubierta de polímero

[0082] Un método alternativo para aplicar el fármaco a la endoprótesis es incorporar el fármaco en una película de polímero que se forma sobre la superficie de la endoprótesis o se coloca sobre ella. Habitualmente se prepara una solución de polímero y fármaco en un disolvente y después se aplica a la endoprótesis. La

solución se aplica a toda la superficie de la endoprótesis o a una parte de ella. Después de la evaporación del disolvente queda en la superficie de la endoprótesis una película de polímero que contiene el fármaco. Un método preferido de cubrimiento se describe en la solicitud EE.UU. compartida n.º de serie 10/133.814 y la solicitud PCT n.º PCT/US03/12750, incorporada por referencia aquí. En este método se aplica una solución que
5 contiene el fármaco directamente en la superficie de la endoprótesis dejando fluir el fármaco desde una columna móvil presurizada, donde un ordenador controla el movimiento de la columna. También es posible aplicar la solución que contiene el fármaco por medio de un pulverizado.

[0083] Aún otros métodos para aplicar la mezcla de polímero, fármaco y disolvente a la endoprótesis son el cepillado, la inmersión o hacer rodar la superficie de la endoprótesis sobre una mezcla desde un aplicador
10 adecuado, como un cepillo, un dispositivo de inmersión o una placa de Petri que contenga una capa fina de líquido de la mezcla.

[0084] Los polímeros que se usan en esta realización pueden ser cualquier material de polímero biocompatible del cual el compuesto atrapado pueda liberarse por difusión o erosión de la matriz de polímero. Dos polímeros no erosionables bien conocidos para cubrir el sustrato son el polimetilmetacrilato y el etileno de
15 alcohol vinílico. Los métodos para preparar estos polímeros en una forma adecuada para su aplicación en un cuerpo de endoprótesis se describen, por ejemplo, en EE.UU. 2001/002734OA1 y WO00/145763, y ambos documentos se incorporan aquí por referencia. Otros polímeros no erosionables adecuados para la invención son los poliácridatos y sus copolímeros (PMA, copolímeros PMA/PEG, poliácridamidas, etc.), siliconas (polidimetil siloxanos etc), polímeros fluorados (PTFE etc.), poli vinil acetato, el poli vinil alcohol y sus copolímeros,
20 poliolefinas y copolímeros (con, p. ej., estireno, etc.), poliuretanos no degradables (p. ej. uretanos que contienen segmentos cortos de siloxano o carbonato), poliamidas, hidroxiapatita, fosforilcolinas, polisulfonas, policetonas, polivinipirrolidona, poliestireno y ABS, polivinilos (cloruro, haluro, policarbonato). También son adecuados los polímeros bioerosionables, y algunos ejemplos con los polímeros poli-*l*-lactido, poli-*d*-lactido, los copolímeros ácido poliglicólico-poliláctico, los poliglicólidos (PGA, poli (lactido-co-glicólido), policaprolactona, polidioxanona,
25 polianhídridos, poliortoésteres, policianoacrilatos, polifosfazenos, poliglutamatos, ácido polihidroxibutírico (PHB), ácido polihidrovalérico (PHV), poli (PHB-co-PHV), polisacáridos (celulosa, dextrano, quitina, etc.), proteínas (fibrina, caseína, etc.), polímeros naturales (gelatina, hialuronanos, etc.), poli(DTH iminocarbonato), politrimetileno carbonato, polietileno imina, tirosinas (pseudoaminoácidos), politrotaxanos, polímeros o copolímeros de acrilato (incluidos hidrogeles), polifosfoésteres, poliuretanos degradables, copolímeros poli(éter-
30 éster) (p. ej. PEO y sus copolímeros con PBT, etc.), poli éster/éter amidas y oxalatos polialquilenos. Dependiendo del polímero seleccionado y de las propiedades del fármaco, el polímero puede contener hasta un 80% del peso seco del compuesto activo distribuido dentro del sustrato de polímero. La película de polímero puede contener entre alrededor del 35-80% del peso seco del compuesto activo y el 20-65% del peso seco del polímero.

[0085] El espesor de la película de polímero cargada de fármaco suele ser de entre unos 3 micrones y 30
35 micrones, dependiendo de la naturaleza del material de la matriz de polímero que forma la cubierta y de las cantidades relativas de matriz de polímero y compuesto activo. Lo ideal es que la cubierta sea tan fina como sea posible, p. ej., 15 micrones o menos, para minimizar el perfil de la endoprótesis en el vaso en el lugar de la lesión. La cubierta también debe tener un espesor relativamente uniforme a lo largo de las superficies superiores (externas), con el fin de promover una distribución uniforme del fármaco liberado en el lugar objetivo. En la Fig.
40 3C se muestra una vista transversal de una endoprótesis cubierta con una matriz de fármaco-polímero, donde el miembro tubular 24 de la endoprótesis está cubierto de una capa de fármaco-polímero 32. Aquí la superficie externa de la endoprótesis tiene una capa de fármaco-polímero ligeramente más gruesa que la de la superficie interna de la endoprótesis.

[0086] En otra realización se aplica una capa de imprimación de un polímero a la superficie de la
45 endoprótesis antes de la formación de la matriz de polímero cargada de fármaco. El objetivo de esta capa de

imprimación es ayudar a unir la cubierta de polímero cargada de fármaco al cuerpo de la endoprótesis, es decir, ayudar a estabilizar la cubierta sobre la superficie de la endoprótesis. Esto es particularmente valioso allí donde hay un elevado porcentaje del compuesto, p. ej. entre 35-80 por ciento del peso de compuesto, en la matriz de polímero. Una capa adecuada imprimación de un polímero puede estar formada de poli(ácido-*d*, *l*-láctico), poli(ácido -*l*-láctico), poli(ácido-*d*-láctico), etileno vinil alcohol (EVOH), ϵ -caprolactona, etilvinilo acetato hidroxilado (EVA), alcohol polivinilo (PVA), óxidos de polietileno (PEO), parileno paryLAST^R, (poli(dicloro-para-xilileno)), silicona, politetrafluoroetileno (TEFLON^R) y otros fluoropolímeros y copolímeros de los anteriores y mezclas de ellos. La capa de imprimación puede depositarse a partir de una solución con disolvente, por cubrimiento con plasma u otros procesos de cubrimiento o depósito (v., p. ej., EE.UU. 6.299.604). La capa de imprimación puede tener un espesor típico de entre 1 y 5 micrones.

[0087] Basándonos en lo anterior podemos apreciar las diversas configuraciones de las endoprótesis contempladas como transportador de un derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina. Se contemplan endoprótesis formadas de un metal que porta el fármaco directamente sobre la superficie metálica, en una capa de polímero aplicada directamente a la superficie metálica o en combinación con una capa de imprimación de un polímero. También se contemplan las endoprótesis formadas de un polímero, biodegradable o no biodegradable, que llevan el fármaco directamente sobre su superficie o en una película de polímero aplicada directamente en la superficie de la endoprótesis o en combinación con una capa de imprimación de un polímero. De este modo, también está dentro del ámbito de la presente invención producir una endoprótesis completamente bioerosionable formando el cuerpo de la endoprótesis de un polímero bioerosionable y la matriz de polímero cargada de fármaco de un polímero bioerosionable.

[0088] También se contempla el uso de una segunda sustancia bioactiva eficaz frente a la enfermedad o trastorno que nos preocupa o para tratar cualquier trastorno secundario anticipado que pueda surgir. Por ejemplo, si se administra el derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina para el tratamiento de la restenosis, puede incluirse un segundo compuesto que minimice complicaciones sanguíneas relacionadas, como la coagulación o la trombosis, que puedan estimular la lesión vascular original o la presencia de la endoprótesis, o mejorar la cicatrización vascular en el lugar de la lesión. Ejemplos de segundas sustancias son las antiagregantes, las fibrinolíticas o las trombolíticas en forma cristalina soluble o los donantes de óxido nítrico (NO) que estimulan la cicatrización de la célula endotelial y controlan el crecimiento de la célula muscular lisa. Ejemplos de sustancias antiagregantes, fibrinolíticas o trombolíticas son la heparina, la Aspirina, la hirudina, la tidopidina, la eptifibatida, la urocinasa, la estreptocinasa, el activador tisular del plasminógeno (TPA) o mezclas de ellos. Si el derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina se pretende utilizar como sustancia antineoplásica, puede incluirse una segunda sustancia que se use con frecuencia para la quimioterapia de las enfermedades neoplásicas. Ejemplos de segundos antineoplásicos son el paclitaxel, compuestos con platino, la citarabina, el 5-fluorouracilo, el tenipósido, el etopósido, el metotrexato, la doxorubicina y similares. La cantidad de una segunda sustancia incluida en la cubierta de la endoprótesis se determinará en función del período a lo largo del cual sea necesario que la sustancia proporcione su beneficio terapéutico. La segunda sustancia puede incluirse en la formulación de la cubierta que se aplica al cuerpo de la endoprótesis o aplicarse directamente a la superficie de la endoprótesis.

IV. Métodos de uso

[0089] Los compuestos derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina pretenden tratar cualquier trastorno que responda a la rapamicina, el everolimus, Abbott ABT 578, el tacrolimús, el paclitaxel o cualquiera de la clase de compuestos conocidos con frecuencia como trienos macrocíclicos o lactonas macrocíclicas u otras sustancias anticancerosas. Esto comprende cualquier trastorno asociado a la cicatrización de la herida,

como tras intervenciones quirúrgicas que afecten a un vaso o estén implicadas en un trasplante de órganos y enfermedades neoplásicas donde, por ejemplo, la composición del polímero se coloque directamente en el lugar del cáncer, como un tumor sólido. La inflamación y la infección son también trastornos tratables con los derivados 42-O-alcoxi-alquilo. Estos compuestos también pueden usarse para métodos de tratamiento vascular, y en concreto para la restenosis.

[0090] Con respecto al tratamiento de la lesión vascular o inflamación, el riesgo y extensión de la restenosis en un paciente que ha sufrido una lesión vascular localizada, o que está en riesgo de sufrirla, puede minimizarse usando una composición que comprenda un derivado 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina. La lesión vascular se produce habitualmente durante una intervención angiográfica para abrir un vaso parcialmente ocluido, como una arteria coronaria o periférica, pero también puede producirse en trastornos inflamatorios más crónicos, como la aterosclerosis. En la intervención angiográfica se coloca un catéter con globo en el lugar de tratamiento y se infla y desinfla el globo terminal distal una o más veces para forzar la apertura del vaso estrechado u ocluido. Esta expansión vascular, que implica en particular un traumatismo de la superficie de la pared del vaso desde donde puede desprenderse una placa, produce a menudo suficiente lesión localizada para que el vaso responda con el tiempo con una proliferación celular y una nueva oclusión. No resulta sorprendente que la aparición o intensidad de la restenosis se relacione a menudo con la extensión de la dilatación vascular realizada en la intervención angiográfica. En particular, allí donde la dilatación es del 35% o más, la restenosis se produce con una frecuencia elevada y a menudo con una intensidad sustancial, causando a menudo una oclusión vascular.

[0091] En estudios realizados para apoyar la invención, se prepararon endoprótesis cubiertas con 42-O (2-etoxietilo) rapamicina y se introdujeron con un catéter en animales de prueba. La endoprótesis usada en los estudios fue una endoprótesis «S-stent»TM comercial que es una endoprótesis anular corrugada muy flexible cortada con láser a partir de un hipotubo de acero inoxidable. Cada anillo corrugado tiene un total de seis segmentos en forma de S conectados de forma seriada. Hay dos uniones acodadas dentro de cada segmento en forma de S que permiten a la endoprótesis expandirse durante su despliegue. Estas uniones acodadas tienen cortes inferiores que incrementan su flexibilidad y reducen las fuerzas de expansión necesarias mientras se despliega la endoprótesis y que logran una buena aposición a la pared vascular.

[0092] Los anillos sucesivos de la endoprótesis están conectados por dos uniones cortas, y cada par sucesivo de estas uniones se orienta en una cuadratura de 90° alrededor de la circunferencia de anillos sucesivos (QUADRATURE LINKSTM). Se cree que las uniones aumentan la flexibilidad longitudinal de la endoprótesis, mientras mantienen una resistencia tangencial elevada. El diseño mecánico de la endoprótesis combina una simetría en «S» repetitiva y longitudes de segmentos muy cortas para proporcionar una flexibilidad notable y un alto apoyo vascular en los vasos rectos y curvos, lo que es importante. La flexibilidad de la endoprótesis S-Stent le permite ser colocada fácilmente en vasos coronarios tortuosos, y potencia la adaptabilidad del vaso sanguíneo después de la implantación.

[0093] La endoprótesis S-Stent se diseñó específicamente con un patrón uniforme y repetitivo con el fin de conseguir el objetivo de una distribución uniforme del fármaco en la pared del vaso a medida que este se libera de los puntales de la endoprótesis. Las características de expansión de la endoprótesis aseguran la aplicación de un estrés mínimo a la cubierta durante la expansión, como un intento adicional de eliminar el rasgado o agrietamiento de la cubierta durante el despliegue.

[0094] La endoprótesis tiene una radiopacidad moderada que es suficiente en la mayoría de los vasos durante el despliegue cuando se usa un sistema de angiografía de alta resolución. Los tamaños de las endoprótesis se sitúan entre los 4 mm y 60 mm de longitud y 1 mm y 12 mm de diámetro cuando se expanden completamente, y se proporcionan premontadas en un sistema de transporte con catéter que emplea un globo polimérico expansible. La longitud de trabajo del catéter de colocación es de aproximadamente 142 cm y tiene

un diámetro del 2.9 Francés. Este catéter aceptará un cable guía de 0,014 pulgadas. La longitud de trabajo del globo de colocación es la necesaria para que se corresponda con la longitud de la endoprótesis. Hay bandas marcadoras radiopacas en el catéter de colocación que están bajo los soportes del globo con el fin de ayudar a colocar la endoprótesis.

5 **[0095]** Las S-Stent se dispusieron como se describió en el Ejemplo 4 preparando una solución de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina y polímero de ácido poli-l-láctico en acetona. La solución de fármaco-polímero se aplicó a la superficie externa de la endoprótesis usando una bomba de jeringa controlada por microprocesador para dispensar con precisión la solución. Este método de aplicación de una solución a una endoprótesis se describe en la solicitud PCT compartida número PCT/US03/12750, cuya revelación se incorpora aquí por referencia.

10 **[0096]** La velocidad de liberación del fármaco desde las endoprótesis *in vitro* se midió en un baño de etanol-agua sin agitar a 37 °C y los resultados se muestran en la Fig. 4. Las seis curvas de la Fig. 4 corresponden a seis endoprótesis portadoras de un polímero de ácido poli-*dl*-láctico cargado con 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina. Cada endoprótesis tenía entre unos 224 y 235 µg del fármaco, con una carga media de 230 µg. Las endoprótesis cubiertas con el polímero-fármaco se esterilizaron a 25 KGy o a 27,5 KGy antes de
15 medir la velocidad de la liberación. Las curvas muestran la liberación controlada del fármaco desde la capa de polímero situada en la endoprótesis, y menos de la mitad del fármaco cargado se liberó en el baño a las 96 horas.

[0097] Tras preparar la endoprótesis con la cubierta de polímero-fármaco, se implantaron en cerdos como se describe en el Ejemplo 5 durante un período de 30 días. El modelo porcino se eligió como especie
20 experimental para este estudio porque el tamaño del corazón y de los grandes vasos permite hacer una evaluación técnica del dispositivo. Además, el tamaño de la arteria coronaria del cerdo es comparable a la de los seres humanos y permite usar dispositivos clínicos estándar. Además, el cerdo es un modelo excelente para las evaluaciones vasculares coronarias y modelos terapéuticos y se parece en muchas formas a las respuestas vasculares humanas. Además, el tamaño relativo de los animales permite una visualización precisa con un
25 equipo angiográfico estándar. Los cerdos son el modelo animal grande más apropiado de restenosis, ya que imitan de forma más cercana a la reactividad vascular humana (Gravanis et.al, JACC, Apr. 1993).

[0098] Como se describió en el Ejemplo 5, se implantaron nueve endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina de una capa de polímero de ácido poli-láctico en cerdos, y seis endoprótesis de metal desnudo control. Como controles comparativos se implantaron 18 endoprótesis liberadoras de everolimus y 12
30 endoprótesis liberadoras de 42-O-hidroxi heptilo rapamicina. Se realizó una angiografía coronaria cuantitativa para medir el diámetro de la luz del vaso inmediatamente antes y después de la colocación de la endoprótesis y también 30 días después justo antes de la angiografía de seguimiento realizada en el momento del sacrificio del animal. (Bell et al., *Cathet Cardiovasc. Diagn.*, 40:66-74 (1997)). El porcentaje de estenosis (% de estenosis) se determinó a partir de las medidas:

35
$$\% \text{ de estenosis} = [(DVR - DLM) / DVR] \times 100$$

donde DLM es el diámetro de la luz mínimo y DVR es el diámetro del vaso de referencia distal y proximal. También se calculó la relación endoprótesis:arteria a partir de estas medidas. El porcentaje de
40 estenosis angiográfico se calculó a partir de las medidas del diámetro de la luz mínimo en la angiografía de seguimiento.

[0099] Como se describió en el Ejemplo 5, pasado el día 30 del período de estudio, los segmentos vasculares con las endoprótesis se procesaron para el estudio histológico habitual, se seccionaron y tiñeron. Las Figs. 5 y 6 muestran ejemplos de los resultados del estudio. Las Figs. 5A-5I son microfotografías generadas por
45 ordenador de cortes histológicos de un cerdo en el que se implantaron tres endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-

etoxietilo) rapamicina en la arteria descendente anterior izquierda (Figs. 5A-6C), la arteria circunfleja izquierda (Figs. 5D-6F) y la arteria coronaria derecha (Figs. 5G-5T). Las Figs. 5A, 5D y 5G son vistas que muestran la endoprótesis colocadas en el vaso. Las Figs. 5B, 5E y 5H son vistas transversales del vaso, con los puntales de la endoprótesis en vista transversal visible. Las Figs. 5C, 5F y 5I muestran la sección transversal a un aumento mayor, con la respuesta de la neoíntima, o su falta, visible.

[0100] Las Figs. 6A-6I son microfotografías generadas por ordenador de los cortes histológicos de un segundo cerdo al que se implantaron tres endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina; las endoprótesis se colocaron en la arteria descendente anterior izquierda (Figs. 6A-6C), la arteria circunfleja izquierda (Figs. 6D-6F) y la arteria coronaria derecha (Figs. 6G-6I). Las Figs. 6A, 6D y 6G son vistas que muestran las endoprótesis colocada en el vaso. Las Figs. 6B, 6E y 6H son vistas transversales del vaso, con los puntales de la endoprótesis en vista transversal visible. Las Figs. 6C, 6F y 6I muestran la sección transversal del vaso a mayor aumento, con la respuesta de la neoíntima, o la falta de ella, visible.

[0101] Las Figs. 7-9 corresponden a microfotografías de las endoprótesis de metal desnudo control colocadas en los vasos durante 30 días. Las Figs. 7A-7C muestran la arteria coronaria derecha de un animal control 30 días después de la implantación de la endoprótesis de metal desnudo; la Fig. 7A muestra una imagen de la endoprótesis colocada en la arteria y las Figs. 7B-7C muestran vistas transversales de la endoprótesis con dos aumentos diferentes.

[0102] Las Figs. 8A-8C muestran la arteria descendente anterior izquierda de un animal control 30 días después de la implantación de una endoprótesis metálica desnuda; la Fig. 8A muestra una imagen de la endoprótesis colocada en la arteria y las Figs. 8B-8C muestran las vistas transversales de la endoprótesis con dos aumentos diferentes.

[0103] Las Figs. 9A-9C muestran la arteria circunfleja izquierda de un animal control 30 días después de la implantación de una endoprótesis de metal desnudo; la Fig. 9A muestra una imagen de la endoprótesis colocada en la arteria y las Figs. 9B-9C muestran vistas transversales de la endoprótesis con dos aumentos diferentes.

[0104] Las fotografías de las Figs. 5-9 permiten determinar a través de planimetría el área de tejido nuevo dentro de la endoprótesis pasados 30 días en vivo. Se determinó el espesor medio del tejido nuevo formado dentro de la endoprótesis en cada implante y se dibujó frente a la puntuación de la lesión, determinada también pasado el período de prueba de 30 días. Un análisis de regresión lineal de los mínimos cuadrados de los datos constituye un método sensible para comparar el beneficio terapéutico de diferentes composiciones de endoprótesis.

[0105] El grado de lesión vascular también se cuantificó asignando una «puntuación de la lesión» basada en la cantidad y longitud de la rotura de diferentes estructuras murales. El grado de lesión se calculó como sigue:

- 0 = lámina elástica interna intacta
- 1 = lámina elástica interna rota con exposición de las capas medias superficiales (lesión leve)
- 2 = lámina elástica interna rota con exposición de capas medias más profundas (diseción medial)
- 3 = lámina elástica externa rota con exposición de la adventicia

La puntuación media de la lesión de cada segmento arterial se calculó dividiendo la suma de la puntuación de las lesiones en cada lugar de puntal de la endoprótesis por el número total de puntales de endoprótesis en las secciones proximal, media y distal de la endoprótesis usando el método descrito por Schwartz et al. (*J. Am. Coll. Cardiol.*, 19:267-274 (1992)).

[0106] Después del análisis de la pérdida tardía y la puntuación de las lesiones, se dibujó la pérdida tardía media como una función de la puntuación de la lesión para estudiar la endoprótesis en cada animal. La Fig. 10 muestra un gráfico de la pérdida tardía, en mm, en función de la puntuación de la lesión para las

endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina (línea continua), las endoprótesis liberadoras de 42-O-hidroxi heptilo rapamicina (línea discontinua) y las endoprótesis control (metal desnudo) (línea punteada). Las endoprótesis se colocaron en el vaso durante 30 días. Las endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina mostraron una respuesta de la neoíntima a la lesión de 0,83 mm/incremento de puntuación de la lesión (es decir, pendiente de la línea de regresión) y un corte en la lesión cero de 0,126 mm. Las endoprótesis liberadoras de 42-O-hidroxi heptilo rapamicina tuvieron una respuesta de la neoíntima a la lesión de 0,126 mm/incremento de puntuación de la lesión: (es decir, pendiente de la línea de regresión) y un corte en la lesión cero de 0,130 mm. Las endoprótesis de metal desnudo mostraron una respuesta de la neoíntima a la lesión de 0,165 mm/incremento de puntuación de la lesión (es decir, pendiente de la línea de regresión) y un corte en la lesión cero de 0,165 mm. De este modo, las endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina tuvieron un espesor de neoíntima menor a los 30 días (es decir, pérdida tardía) que las endoprótesis liberadoras de 42-O-hidroxi heptilo rapamicina o que las endoprótesis de metal desnudo control.

[0107] La Fig. 11 es un gráfico similar que muestra la pérdida tardía media, en mm, en función de la puntuación de la lesión en las endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina (línea continua), las endoprótesis liberadoras de everolimus (línea discontinua) y las endoprótesis control (metal desnudo) (línea punteada) 30 días después de su implantación en vasos porcinos. De nuevo queda claro que las endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina ofrecen un efecto terapéutico cuando se comparan con las endoprótesis de metal desnudo.

[0108] En otro estudio se prepararon endoprótesis portadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina en forma de una cubierta de polímero (ácido poli-*dl*-láctico) para colocarlas en cerdos con una lesión por dilatación en la arteria coronaria. Las endoprótesis comparativas y control fueron endoprótesis de metal desnudo, endoprótesis con una cubierta de polímero de ácido poli-*dl*-láctico sin fármaco, endoprótesis con rapamicina en una cubierta de polímero de ácido poli-*dl*-láctico y endoprótesis con everolimus en una cubierta de polímero de ácido poli-*dl*-láctico. Las endoprótesis se introdujeron en vasos con lesiones acentuadas (media de alrededor del 36% de dilatación con lesión del vaso) usando un globo de angioplastia. La dilatación controlada mediante el uso del catéter con globo causó un desgarro y dilatación intensos en las capas íntima y media del vaso, lo que dio lugar a una restenosis exuberante a los 28 días de la implantación. De esta forma, fue posible evaluar la eficacia relativa de los varios compuestos de prueba presentados a los vasos en la misma plataforma de endoprótesis metálica/polímero. En el momento de la introducción se registró el grado de dilatación en forma de relación porcentual entre el globo y la arteria (B/A).

[0109] Veintiocho días después de la introducción de la endoprótesis se evaluaron varios parámetros, incluidos la pérdida tardía luminal media, el área de neoíntima, la puntuación de la lesión y el porcentaje del diámetro de la estenosis. En dos de los grupos de prueba, el grupo control con una endoprótesis de metal desnudo y un grupo control comparativo con una endoprótesis con una cubierta de polímero cargada con 325 µg de everolimus, se recogieron datos a los 6 meses. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Grupo de prueba	Longitud de la endoprótesis	Carga de fármaco (µg)	Cubierta de polímero (µg)	Relación B/A (%)	Pérdida luminal media (mm)	Área de neointima (mm ²)	Puntuación de la lesión media ¹	Diámetro estenosis ² %
Prótesis desnuda 28 días 6 meses	18,7	-	-	1,33	1,69	5,89	1,9	72
	18,7	-	-	1,19	0,4	2,68	1,26	32,7
Endoprótesis cubierta de polímero	18,7	-	1.300	1,36	2,1	5,82	2,11	70
Rapamicina: dosis baja	18,7	325	1.300	1,39	1,07	3,75	2,1	55
Rapamicina: dosis alta	18,7	180	1.300	1,42	0,99	2,8	1,9	43
Everolimus: dosis alta 28 días 6 meses	18,7	325	1.300	1,37	0,84	3,54	1,89	38
	18,7	325	1.300	1,31	1,15	4,18	2,67	68,5
Everolimus: dosis baja	18,7	180	1.300	1,36	1,54	3,41	2,1	53
Everolimus: dosis media	18,7	275	640-780 ³	1,36	0,85	2,97	2,13	45
42-O-(etoxietilo) rapamicina	15	225	225	1,19	0,62	1,3	1,29	14,8

¹ Las puntuaciones de la lesión cuantifican los grados de lesión vascular basados en la cantidad, longitud y profundidad de la rotura y se puntúa usando la escala de 1, 2 y 3 dada antes.

² Una puntuación inferior indica una mayor eficacia.

³ Relación del 26% de fármaco y polímero.

5

[0110] Los datos de la Tabla 2 muestran que aunque las endoprótesis portadoras de fármaco funcionaron mejor que las endoprótesis de metal desnudo o las endoprótesis con cubierta de polímero, la endoprótesis que portaban 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina obtuvieron la pérdida tardía de la luz y el porcentaje del diámetro de la estenosis más bajos. De este modo, la 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina demostró su superioridad respecto a la supresión de la proliferación celular cuando se comparó directamente con la rapamicina y otros derivados conocidos de la rapamicina en el modelo de lesión por dilatación de arteria coronaria de cerdo.

10

[0111] De lo anterior puede verse cómo se consiguen varias características y objetivos de la invención. Los derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina, como ejemplifica la 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina, tienen una potencia en el laboratorio similar o mayor que la de la rapamicina y otro derivado de la rapamicina, la 42-O-hidroxi heptilo rapamicina. La actividad en vivo de los derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina se ilustró usando endoprótesis cubiertas con el fármaco y colocadas en el vaso de un animal para inhibir la restenosis. Los derivados 42-O-alcoxialquilo de la rapamicina pueden formularse en preparados adecuados para su administración tópica, parenteral y local en el tratamiento de cualquier trastorno reactivo a los fármacos anticancerosos rapamicina y everolimus u otras lactonas macrocíclicas.

15

20

V. Ejemplos

[0112] Los siguientes ejemplos ilustran de forma adicional la invención descrita aquí y no pretenden en ningún modo limitar el ámbito de la invención.

25

Ejemplo 1

Preparación de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina (Biolimus A9)

A. Síntesis de triflato de 2-etoxietanol

[0113] A una solución agitada y refrigerada (0 °C) de 4,28 g de 2-etoxi etanol (Aldrich Chemical) y 10,14 g de 2,6-lutidina en 160 ml de CH₂Cl₂ en nitrógeno se le añadieron lentamente 19,74 g de anhídrido trifluorometanesulfónico (triflico). La mezcla se lavó con cuatro porciones de 200 ml de solución salina y la solución orgánica se seco sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía FLASH en gel de sílice, 200-400 de malla (75:25 hexanos-etilo éter (v/v)) para conseguir el triflato de 2-etoxietanol: líquido amarillo claro, TLC R_f = 0,47 usando hexanos-etilo éter 75:25 (v/v).

B. Reacción del triflato de 2-etoxietanol con la rapamicina

[0114] A una solución agitada de 1 g de rapamicina y 7,66 g de 2,6-lutidina en 14,65 ml de tolueno mantenida a 60 °C se añadieron 5,81 g de triflato de 2-etoxietanol. La agitación se continuó durante 90 minutos, después de lo cual se añadieron 50 ml de acetato de etilo a la reacción y la solución se lavó con 50 ml de HCl 1M. El material orgánico se lavó con agua desionizada hasta obtener un pH de la solución de lavado neutro y la solución orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía FLASH en gel de sílice, 200-400 de malla (40:60 hexano-acetato de etilo (v/v)) para obtener 210 mg de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina. TLC R_f = 0,41 usando 40:60 hexano-acetato de etilo (v/v). MS (ESI) m/z 1008.5 C₅₅H₅₇NNaO₁₄. En la Figura 1 se muestra un espectro de masas del compuesto titular.

[0115] La estructura química de la 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina se verificó además mediante experimentos con espectrometría de masas en tándem cuadrupolo (CAD; experimentos, disociación activada por colisión). Estos estudios se hicieron en un espectrómetro de masas cuadrupolo de atrapado iónico Thermo Finnigan, LCQ Advantage equipado con una fuente de ionización electrospray. La infusión directa de la muestra en metanol se hizo a un flujo de 2,5 µl/min con una jeringa. Los experimentos en CAD se hicieron después de obtener la intensidad de señal máxima. Se utilizó helio como gas de colisión. La energía de la colisión se ajustó durante los experimentos MS/MS para obtener el rango completo de fragmentos. Los patrones de fragmentación indicaron la presencia del par iónico 1008.5 -> 417.5. Estos resultados son compatibles con la estructura química de la 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina dada anteriormente.

[0116] La pureza del producto se determinó por HPLC. Se utilizó un sistema HPLC Zorbax SB-C18, con una columna de 4,6 mm ID x 250 mm (5µm). Se utilizó un sistema de gradiente de disolvente escalonado que consistió en 100% (10% de metanol-agua), un minuto; 50% (10% metanol-agua)/50% metanol, un minuto; 25%(10% metanol-agua)/75% metanol, un minuto; 100% metanol. Se utilizó un flujo de 1 ml. La temperatura de la columna fue de 55 °C. Se inyectaron 2 µg de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina en la columna en un volumen de 20 µl de metanol. Detección por UV a 278 nm. La pureza fue del 98,7% (media de tres ciclos; DE = 0,2).

Ejemplo 2Preparación de 42-O-(2-metoxietilo) rapamicinaA. Síntesis de triflato de 2-metoxietanol

[0117] A una solución agitada y refrigerada (0 °C) de 1,80 g de 2-metoxietanol (Aldrich Chemical) y 5,07 g de 2,6-lutidina en 80 ml de CH₂Cl₂ bajo nitrógeno se añadieron lentamente 9,87 g de anhídrido trifluorometanesulfónico (triflico). La mezcla se lavó con cinco porciones de 100 ml de solución salina y la solución orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía FLASH en gel de sílice, 200-400 de malla (75:25 hexanos-etilo éter (v/v)) para conseguir el triflato de 2-metoxietanol: líquido marrón claro, TLC = 0,61 usando el mismo sistema disolvente que antes.

B. Reacción de triflato de 2-metoxietanol con la rapamicina

[0118] Una mezcla de 8 mg de rapamicina, 52,9 µl de lutidina y 34 µl de triflato de 2-metoxietanol se mantuvo a 60 °C en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml (Laboratory Plastics) durante 1,5 horas. Se añadieron 150 µl de acetato de etilo y 150 µl 1M de HCl y las soluciones se mezclaron mediante un agitado vigoroso. La separación y TLC preparativa directa de la capa orgánica (40:60 hexanos/acetato de etilo (v/v)) resultó en 2,3 mg de 42-O-(2-metoxi etilo) rapamicina. MS (ESI) M/Z 994,6 C₅₄H₈₅NNaO₁₄. MS/MS 995 -> 403.

Ejemplo 3

Potencia *in vitro* del derivado 42-o-(2-etoxietilo) de la rapamicina

[0119] Cultivos de células musculares lisas se sometieron a dosis crecientes de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina, 42-O-(hidroxi heptilo) rapamicina y rapamicina en 8 o 9 órdenes de magnitud de concentración en el medio de cultivo. La capacidad del cultivo celular de reproducirse se evaluó después de la exposición al fármaco añadiendo un reactivo coloreado que produce un cambio de color en las células supervivientes, lo que se sigue por citometría celular. La capacidad de las células de migrar se evaluó cuando las células del cultivo se movieron a través de una membrana porosa barrera adyacente al cultivo y de nuevo mediante tinción y citometría celular. Los resultados de estas pruebas se muestran en la Fig. 2 para el caso de las células musculares lisas humanas. Los resultados muestran que la 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina (cuadrados) y la 42-O-(hidroxi heptilo) rapamicina (diamantes) tienen una potencia similar en la supresión del crecimiento de las células musculares lisas en 5 órdenes de magnitud de concentración, tanto en células porcinas como humanas.

Ejemplo 4

Preparación de endoprótesis con 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina

[0120] Se disolvieron 100 mg de poli (*d*-lactido) en 2 ml de acetona a temperatura ambiente. Se colocaron 5 mg de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina en un vial y se añadieron 100 µl de solución de lactido. Se utilizó una bomba con jeringa controlada por un microprocesador para una dispensación precisa de 4,5 µl de la solución de poli-*d*-lactido con el fármaco en la superficie externa de una endoprótesis metálica S-Stent (disponible en Biosensors Internacional Inc. Newport Beach, CA). La evaporación del disolvente resultó en una sola capa uniforme de polímero con el fármaco sobre la endoprótesis.

[0121] Se prepararon endoprótesis con everolimus o 42-O-hidroxi heptilo rapamicina de forma idéntica para la comparación.

Ejemplo 5

Pruebas en vivo de la endoprótesis con 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina

A. Modelo animal

[0122] Se obtuvieron seis cerdos jóvenes exogámicos de entre 30 y 40 kg, que se estabularon y tuvieron en cuarentena durante un mínimo de tres días antes de entrar en el estudio. A todos los animales se les examinó y estabuló en lugares autorizados bajo condiciones higiénicas. A los animales del estudio se les administró un preparado alimenticio equilibrado porcino estándar y agua a voluntad.

B. Colocación de la endoprótesis

[0123] Tres días antes de la colocación de la endoprótesis cada animal recibió 650 mg de Aspirina, 500 mg de ticlopidina diarios y 120 mg de verapamilo diarios. Se administró Aspirina (325 mg) a diario a lo largo de la duración del estudio. A los animales se les tuvo en ayuno 12 horas antes de colocarles la endoprótesis.

[0124] Para la colocación de la endoprótesis, a cada animal se le inmovilizó con una inyección intramuscular de 0,5 mg/kg de acepromazina, 20 mg/kg de ketamina y 0,05 mg/kg de atropina. Se colocó un catéter intravenoso en una vena de la oreja y se indujo la anestesia con 5-8 mg/kg de tiopental. Se intubó y

ventiló al animal; la anestesia se mantuvo con isoflurano al 1-2% inhalado. Se administró una dosis de carga de tosilato de bretilio por vía intravenosa (10 mg/kg) como tratamiento antiarrítmico.

[0125] La zona quirúrgica se afeitó, limpió y preparó. Se hizo una incisión para llevar a cabo una disección roma del tejido situado por encima de la arteria de acceso (bien las arterias carótidas derecha o la izquierda o las arterias femorales derecha o izquierda). Los segmentos distal y proximal de la arteria se aseguraron con sutura; se ligó el vaso distal. Se realizó una arteriotomía y se colocó una vaina introductoria en la arteria.

[0126] Se situó un catéter guía en la vaina y se le hizo avanzar bajo guía radioscópica hasta las arterias coronarias. Después de colocar el catéter guía se obtuvieron imágenes angiográficas del vaso para identificar una localización adecuada para desplegar las endoprótesis. En las imágenes capturadas se incluyó la punta del catéter guía para facilitar las medidas de la angiografía cuantitativa coronaria (ACC). Se utilizó un cable guía de 0,014 pulgadas para llevar la endoprótesis a lugares predeterminados seleccionados de las arterias descendente anterior izquierda (DAI), circunfleja izquierda (CXI) y coronaria derecha (ACD). Las endoprótesis se colocaron de forma típica en hasta tres arterias coronarias, y solo una endoprótesis se colocó en una arteria. Cuando fue necesario se realizaron inflados adicionales del globo para asegurar una aposición positiva de la endoprótesis contra la pared del vaso. El diámetro final de la endoprótesis se seleccionó para crear una «lesión por dilatación» del $20 \pm 10\%$ del diámetro medio del vaso (DLM). Tras el despliegue de la endoprótesis se obtuvieron más imágenes angiográficas de los segmentos vasculares tratados en la misma orientación que las primeras imágenes.

[0127] Se administró por vía intravenosa tosilato de bretilio (10 mg/kg) al final de la intervención como tratamiento antiarrítmico. Tras la intervención se retiraron los catéteres, el vaso proximal se ligó con seda y el lugar del corte arterial se reparó en tres capas. Las capas de fascia y subcutánea se cerraron con una sutura corrida usando monocril de 2-0. Se permitió al animal recuperarse.

[0128] Se implantaron nueve endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina con una capa de polímero de ácido poli-láctico en cerdos y seis endoprótesis de metal desnudo control. Como controles para la comparación se implantaron 18 endoprótesis liberadoras de everolimus y 12 endoprótesis liberadoras de 42-O-hidroxi heptilo rapamicina. Los resultados se muestran en las Figs. 5-9.

C. Monitorización de los animales estudiados

[0129] Al final del estudio, los animales se sacrificaron y se realizó una toracotomía. Las arterias coronarias se perfundieron con al menos un litro de formol. Se realizó entonces una cardiectomía y se inspeccionaron los vasos en busca de algún traumatismo externo o interno. Los vasos con las endoprótesis se extirparon del corazón, se almacenaron en frascos de laboratorio sellados con una solución reciente de formaldehído al 10% y se empaquetaron para el estudio histológico.

[0130] Se realizó una angiografía cuantitativa para medir el diámetro del vaso inmediatamente antes y después de la colocación de la endoprótesis y también en el seguimiento (es decir sacrificio del animal). Se calculó la relación entre la endoprótesis y la arteria (es decir B/A o globo/arteria) a partir de estas medidas. El porcentaje angiográfico de estenosis se calculó a partir de las medidas del diámetro de la luz mínimo obtenido en la angiografía de seguimiento. Se realizaron medidas histológicas a partir de secciones del vaso natural proximal y distal a la endoprótesis así como de las porciones proximal, media y distal de la endoprótesis. La puntuación media de la lesión de cada segmento arterial se calculó dividiendo la suma de las puntuaciones de las lesiones en cada lugar de puntal de la endoprótesis por el número total de puntales de las endoprótesis en las secciones proximal, media y distal de la endoprótesis usando el método descrito por Schwartz et. al. (*J. Am. Coll. Cardiol.*, 19:267-274 (1992)).

[0131] El espesor de la neointima se midió en los vasos naturales proximal y distal a la endoprótesis y en las porciones proximal, media y distal de la endoprótesis. Las áreas transversales de la neointima, la media y total del vaso de cada sección a través de la zona media de la endoprótesis se midieron con histomorfometría digital con el fin de determinar el área de neointima y el porcentaje de área de estenosis definido como [(área de íntima/ área de luz de vaso natural) X 100]; donde el área de luz del vaso natural es el área delimitada por la lámina elástica interna. Los datos se expresaron en forma de media ± desviación estándar y como porcentaje máximo del área de estrechamiento transversal en cada muestra. El análisis estadístico de los datos histológicos y angiográficos se realizó usando el análisis de la varianza (ANOVA). Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$.

[0132] Las medidas de la ACC se hicieron de acuerdo con las enseñanzas de Bell et. al. (*Cathet. Cardiovasc. Diagn.*, 40:66-74 (1997)). El porcentaje de estenosis (% de estenosis) se determinó mediante:

$$\% \text{ de estenosis} = [(DVR-DLM)/DVR] \times 100$$

donde DLM es el diámetro de la luz mínimo y DVR es el diámetro del vaso de referencia distal y proximal.

[0133] El análisis histomorfométrico comprendió el área transversal de la luz, el área de la lámina elástica interna (LEI) y el área de la endoprótesis, el área de la neointima, el área de la media, el área de la adventicia, el porcentaje de estenosis dentro de la endoprótesis, el espesor de la íntima en cada puntal de la endoprótesis y la puntuación de la lesión en cada puntal de la endoprótesis.

[0134] El grado de lesión vascular se cuantificó también asignando una «puntuación de la lesión» basada en la cantidad y longitud de la rotura de diferentes estructuras murales. El grado de lesión se calculó como sigue:

- 0 = lámina elástica interna intacta
- 1 = lámina elástica interna rota con exposición de las capas medias superficiales (lesión leve)
- 2 = lámina elástica interna rota con exposición de capas medias más profundas (diseción medial)
- 3 = lámina elástica externa rota con exposición de la adventicia.

La puntuación media de la lesión de cada segmento arterial se calculó dividiendo la suma de la puntuación de las lesiones en cada lugar de puntal de la endoprótesis por el número total de puntales de endoprótesis en las secciones proximal, media y distal de la endoprótesis usando el método descrito por Schwartz et al. (*J. Am. Coll. Cardiol.*, 19:267-274 (1992)).

O. Histología

[0135] Los segmentos con endoprótesis se procesaron para el estudio histológico habitual, se seccionaron y se tiñeron siguiendo los protocolos estándar de laboratorio como se describió en Isner et. al. (*Biochemical and Biophysical Research Communications.* 235:311-316 (1997)). Se realizaron tinciones con hematoxilina y eosina de la elástica y del tejido conjuntivo de forma alterna en secciones seriadas a lo largo de la longitud de la endoprótesis (vaso de referencia distal/proximal y porciones proximal/medial/distal de la endoprótesis).

[0136] Se muestran fotografías de los cortes histológicos de los animales tratados con endoprótesis liberadoras de 42-O-(2-etoxietilo) rapamicina en las Figs. 5A-5I en un animal de prueba que tenía tres endoprótesis en la arteria descendente anterior izquierda (Figs. 5A-5C), la arteria circunfleja izquierda (Figs. 5D-5F) y la arteria coronaria derecha (Figs. 5G-5I); y en las Figs. 6A-6I en un segundo animal de prueba con tres endoprótesis en la arteria descendente anterior izquierda (Figs. 6A-6C), la arteria circunfleja izquierda (Figs. 6D-6F) y la arteria coronaria derecha (Figs. 6G-6I).

[0137] En las Figs. 7-9 se muestran fotografías de cortes histológicos de vasos tomadas de seis animales control con una endoprótesis de metal desnudo implantada durante 30 días.

Ejemplo 6

5 **Ensayo humano con el uso de endoprótesis liberadora de Biolimus A9**

A Organización del ensayo clínico

[0138] Se realizó un ensayo clínico de 6 meses para determinar la seguridad y eficacia de una endoprótesis coronaria liberadora de fármaco construida de acuerdo con la presente invención y formulada para liberar 42-O-(2-etoxiletilo) rapamicina (Biolimus A9), que se desprendía de una endoprótesis cubierta de polímero APL bioabsorbible en lesiones coronarias nuevas. La relación fármaco:polímero en la cubierta de la endoprótesis fue de 1:1 por peso. La endoprótesis cubierta se plegó en un catéter ACTP con globo, se esterilizó con haz e, se llevó hasta el lugar de la lesión en la arteria coronaria del paciente y se expandió bajo radioscopia en un laboratorio de cateterismo con el fin de conseguir implantar la endoprótesis en las arterias de los pacientes.

[0139] El ensayo a doble ciego y con asignación aleatoria de los 120 pacientes se realizó en el Siegburg Heart Center y el Brüderkrankenhaus Trier, y en el Institute Dante Pazzanese of Cardiology, un hospital de investigación médica localizado en Sao Paulo, Brasil. El Harvard Cardiovascular Research Institute (Boston) y la Cardiovascular Research Foundation (Nueva York) sirvieron de laboratorios centrales para los datos angiográficos del estudio, y el Stanford Cardiovascular Research Institute (Stanford, CA) sirvió de laboratorio central para la ecografía intravascular (ECIV).

[0140] Al contrario que las endoprótesis liberadoras de fármacos aprobadas en la actualidad que usan una cubierta de polímero permanente para liberar el fármaco contra la estenosis y que permanecen dentro de la arteria coronaria del paciente durante toda la vida, la endoprótesis Biolimus A9 usada en estos ensayos tenía una cubierta bioabsorbible que se disuelve durante la liberación del fármaco en productos completamente naturales (es decir, ácido poliláctico o «APL»). El producto natural se metaboliza y excreta entonces en el cuerpo en forma de dióxido de carbono y agua.

B. Resultados de los ensayos clínicos

[0141] Los resultados de los ensayos clínicos pueden resumirse como sigue. El análisis angiográfico indicó una frecuencia baja de restenosis (3,9% frente a 7,7%, $P=0,4$) y una reducción de la pérdida tardía dentro de la endoprótesis (0,26 frente a 0,74, $P < 0,001$) en el grupo de la endoprótesis Biolimus A9 comparado con el grupo de la endoprótesis de metal desnudo control. «Pérdida tardía» se refiere al espesor del tejido cicatricial, o «neoíntima», que se forma dentro de la endoprótesis. La formación del tejido cicatricial tras la implantación de la endoprótesis de metal desnudo en una proporción significativa de los casos con endoprótesis de metal desnudo reduce el flujo sanguíneo al corazón y puede reducir la eficacia a largo plazo de la endoprótesis.

[0142] No se produjo ninguna restenosis en los bordes proximal ni distal de la endoprótesis en los grupos de endoprótesis liberadoras de fármacos ni de endoprótesis de metal desnudo (control). Mediante la ecografía intravascular (ECIV), el % de volumen de neoíntima (2,6% frente a 23,5%, $P < 0,001$) fue significativamente inferior en el grupo de la endoprótesis Biolimus A9 que en el grupo control de endoprótesis de metal desnudo. El «volumen de neoíntima» es otra forma de medir el volumen total, en lugar del espesor de la neoíntima formado dentro de una endoprótesis

[0143] Se concluyó, por tanto, que las endoprótesis liberadoras de Biolimus A9, que liberan el derivado de la rapamicina Biolimus A9 de un polímero de APL bioabsorbible, mostraban una hiperplasia significativamente reducida de la neoíntima cuando se comparaban con las endoprótesis control de metal desnudo en este ensayo clínico. Una baja frecuencia de acontecimientos adversos (5%) y la falta de muertes cardíacas demostró adicionalmente que esta nueva endoprótesis es segura en los seres humanos.

Ejemplo 7**Comparación del rendimiento de la endoprótesis liberadora de Biolimus A9 comparada con el de la endoprótesis liberadora de sirolimús**

- 5 **[0144]** El rendimiento de una endoprótesis liberadora de Biolimus A9 se comparó con el de una endoprótesis liberadora de sirolimús. Los datos usados en esta comparación fueron los del ensayo clínico Biolimus A9 presentados en el Ejemplo 6 y los datos clínicos procedentes de la literatura médica sobre las endoprótesis con sirolimús comercializadas actualmente, como la endoprótesis liberadora de sirolimús («Cypher»).
- 10 **[0145]** Los resultados del primer ensayo realizado en seres humanos RAVEL de la endoprótesis Cypher, liberadora de sirolimús (rapamicina) de una cubierta de polímero permanente, los comunicó la Clinique Pasteur, Paris, Francia, en las Euro PCR Scientific Sessions en abril de 2001. La Tabla 2 que se muestra a continuación muestra los datos del ensayo RAVEL:

15 **Tabla 2**

Análisis RAVELivus en endoprótesis a los 6 meses de seguimiento			
	Sirolimús (N = 48)	Control (N = 46)	
Volumen MEE (mm³)	280	280	NS
Volumen de endoprótesis (mm³)	131	132	NS
Volumen de neoíntima (mm³)	2	37	< 0,0001
Volumen de luz (mm³)	129	95	< 0,0001
% volumen de obstrucción	1,4	28,6	< 0,0001
% aposición incompleta	20	4	< 0,015

- 20 **[0146]** El estudio RAVEL evaluó pacientes con lesiones coronarias más cortas, de una media de 9,56 mm de longitud, y la endoprótesis liberadora de sirolimús más larga implantada en el estudio RAVEL tenía 15 mm. En comparación, la longitud media de la lesión en el estudio de la endoprótesis liberadora de Biolimus-A9 era de 15,7 mm, y se implantaron endoprótesis de longitudes 14, 18 y 26 mm. Los diámetros medios de los vasos fueron similares en los dos ensayos (3 mm). Los primeros cuatro parámetros citados en la Tabla 2 fueron similares en la endoprótesis liberadora de Biolimus-A9 tras realizar ajustes en función de las diferencias en las longitudes medias de las endoprótesis implantadas. El % de volumen de obstrucción en la endoprótesis liberadora de Biolimus-A9 fue del 2,6%, sin diferencias estadísticamente con los resultados referidos antes. No obstante, el % de aposición incompleta en el ensayo de la endoprótesis liberadora de Biolimus-A9 fue significativamente inferior (13%) comparado con el de la endoprótesis liberadora de sirolimús. El estudio Incomplete Apposition in the Biolimus A9-eluting (BIOMATRIX) stent se estratificó en función de la ECIV realizada en el laboratorio central como se muestra en la Tabla 3:

30

Tabla 3

Aposición incompleta de la endoprótesis		
Endoprótesis BioMATRIX		
	Total	Cuerpo de endoprótesis: borde de endoprótesis
Basal (n = 75)	10 (13%)	2:8
Seguimiento a los 6 meses (n = 69)	12* (17%)	4:9**
Persistente	10 (14%)	2:8
Resuelto	0 (0%)	0:0
Ap. incomp. tardía	2 (3%)	2:0

*Sin ECCIV basal en un caso

**Un caso tenía aposición incompleta de la endoprótesis en borde (persistente) y en el cuerpo (adquirida tardía)

5

[0147] La frecuencia mucho menor de aposición incompleta como se ve en el ensayo de la endoprótesis liberadora de Biolimus A9 fue el resultado de una frecuencia mucho menor de aposición incompleta tardía de la endoprótesis (AITE) en la endoprótesis liberadora de Biolimus comparada con la endoprótesis liberadora de sirolimús (3% frente a ~10%).

10

[0148] De hecho, la incidencia de aposición incompleta tardía de la endoprótesis en la endoprótesis liberadora de Biolimus A9 fue comparable a la de la media histórica observada en el laboratorio central de Stanford con las endoprótesis de metal desnudo, y como se observó en la endoprótesis control de metal desnudo usado en el ensayo de la endoprótesis liberadora de Biolimus A9 (frecuencia histórica del 3%). Estos datos establecen que la endoprótesis liberadora de Biolimus A9 es más biocompatible que la liberadora de sirolimús, lo que provoca una menor incidencia de formación de aneurismas en las paredes vasculares que rodean a la endoprótesis. Aunque no se asocia en la actualidad ninguna secuela clínica a las «aposiciones incompletas tardías de la endoprótesis», los cardiólogos prefieren observar una baja incidencia de este fenómeno cuando comparan las endoprótesis porque esto indica la posibilidad de una reacción tisular localizada a la endoprótesis y de formación de aneurismas en la pared vascular en algunos pacientes que puede o no llevar a alguna complicación, aún desconocida, a largo plazo como el fallo de la pared vascular.

15

20

[0149] A partir de estos datos se concluyó que el fármaco Biolimus A9 era superior al fármaco sirolimús en la prevención de la formación de aneurismas en la pared vascular y las aposiciones incompletas tardías.

[0150] Se comunicó otro estudio (Sirius Trial) de la endoprótesis liberadora de sirolimús (Cypher) en septiembre de 2002 en las Trans Catheter Therapeutics Scientific Sessions en Washington DC. La Figura 12 muestra los datos del Sirius Trial presentados en esa reunión.

25

[0151] La Figura 12 establece la relación en la endoprótesis liberadora de sirolimús entre la frecuencia de restenosis en el segmento vascular implantado y la longitud de la endoprótesis. Estos datos se compararon con los datos de la endoprótesis liberadora de Biolimus A9 con el resultado de que con cada longitud de la endoprótesis la frecuencia de restenosis con la endoprótesis liberadora de Biolimus estaba entre los límites del 2 y el 6% inferior, lo que indica una mayor eficacia de la endoprótesis liberadora de Biolimus. Respecto a todas las longitudes de endoprótesis implantadas entre los 8 y 28 mm, la media de restenosis dentro de la lesión de la endoprótesis liberadora de Biolimus A9 fue del 3,9%, con una longitud media de endoprótesis implantada en el ensayo de la endoprótesis liberadora de Biolimus A9 de 19,7 mm. Se implantaron las siguientes longitudes de endoprótesis:

30

35

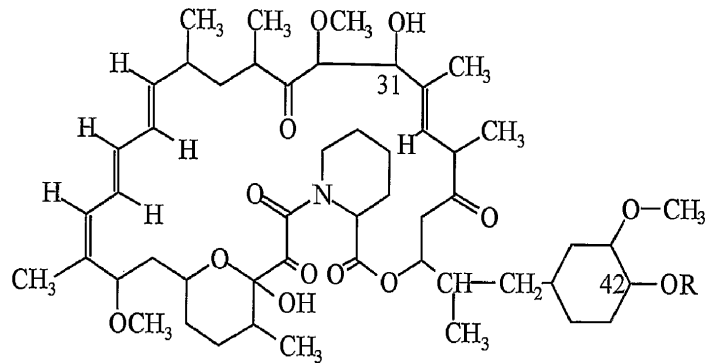
ES 2 516 692 T3

	Longitud de la endoprótesis	% de vasos totales
	8 mm	1,3%
	14 mm	44,1%
	18 mm	32,5%
5	28mm	22,1%

10 **[0152]** Aunque se ha descrito la invención con respecto a versiones concretas, a aquellos familiarizados con el arte les debe quedar claro que pueden realizarse varios cambios y modificaciones sin alejarse de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto en la forma:



5

donde R es - (CH₂)_n-O-(CH₂)_mH donde n es de 2 a 4 y m es de 2 a 4, y donde el número de átomos de carbono en R es de 5 o 6.

10 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde el número de átomos de carbono en R es 5.

3. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 junto a un transportador.

15 4. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, donde el transportador mencionado es un preparado farmacéutico que tiene la forma de una pomada o gel.

5. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, donde el transportador mencionado está compuesto de micropartículas de polímero.

20

6. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, donde el transportador mencionado es un preparado farmacéutico que tiene la forma de un líquido, comprimido o supositorio.

7. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, donde el transportador mencionado es una endoprótesis.

25

8. La composición de acuerdo con la reivindicación 7, donde la endoprótesis mencionada está formada de metal o polímero.

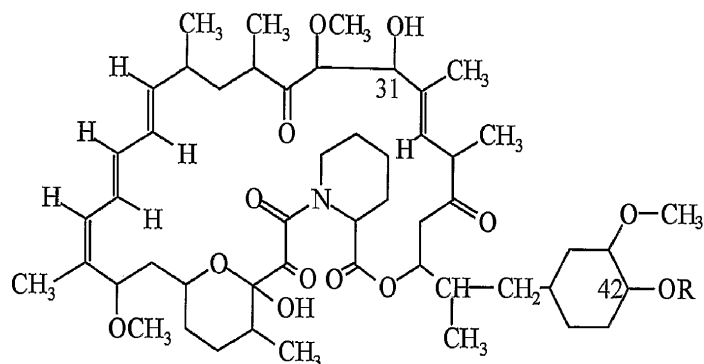
30 9. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, donde endoprótesis mencionada está formada de un polímero biodegradable.

10. La composición de acuerdo con la reivindicación 7, donde la endoprótesis mencionada es de metal y el compuesto mencionado se encuentra directamente en la superficie de la endoprótesis.

35

11. La composición de acuerdo con las reivindicaciones 7 o 9, donde el compuesto mencionado se encuentra en una capa de polímero en contacto con la endoprótesis mencionada.

5 12. Una endoprótesis para el tratamiento de la restenosis, que comprende un cuerpo de la endoprótesis expansible y, en el cuerpo mencionado de la endoprótesis y para su liberación a una velocidad controlada, un compuesto de la forma



10 donde R es - (CH₂)_n-O-(CH₂)_mH, donde n es de 2 a 4 y m es de 2 a 4, y donde el número de átomos de carbono en R es de 5 o 6.

13. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 12, donde el número de átomos de carbono en R es 5.

15 14. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 12, donde el cuerpo mencionado de la endoprótesis está compuesto de metal o polímero.

15. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 14, donde el cuerpo mencionado de la endoprótesis está compuesto de un polímero biodegradable.

20 16. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 12, donde la endoprótesis mencionada comprende además una capa de polímero en contacto con el cuerpo de la endoprótesis mencionada y el compuesto mencionado incorporado en la capa de polímero mencionada.

25 17. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 16, donde la capa de polímero mencionada está compuesta de un polímero biodegradable.

18. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 16, que además comprende una capa de imprimación de polímero dispuesta entre el cuerpo de la endoprótesis y la capa de polímero.

30 19. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 12, donde el cuerpo mencionado de la endoprótesis tiene una superficie y donde la superficie mencionada está tratada para aumentar la adhesión del compuesto mencionado respecto a una superficie de la endoprótesis sin tratar.

ES 2 516 692 T3

20. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 19, donde la superficie mencionada de la endoprótesis está tratada con una solución de ácido nítrico.
- 5 21. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 19, donde la superficie mencionada de la endoprótesis está tratada mediante un proceso seleccionado entre chorro de arena, grabado con láser y grabado químico.
- 10 22. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 12, donde el compuesto mencionado se aplicó a la endoprótesis a partir de una solución del compuesto en un disolvente orgánico.
23. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 22, donde se aplica una membrana sobre el compuesto para controlar su biodisponibilidad.
- 15 24. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 22, donde una capa de imprimación de polímero está en contacto con la endoprótesis, y la película de compuesto/polímero está en contacto con la capa de imprimación de polímero.
- 20 25. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 24, donde la capa de imprimación de polímero es politetrafluoroetileno (Teflon(R)) o poli(dicloro-para-xilileno) (parileno).
26. La endoprótesis de la reivindicación 23, donde la membrana es una membrana de polímero.
- 25 27. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 22, donde la solución mencionada se aplica a la endoprótesis mediante una técnica seleccionada entre el grupo que consiste en cepillado, pulverizado, inmersión y flujo.
- 30 28. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 22, donde el compuesto mencionado forma una capa vidriosa sobre la endoprótesis.
29. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 22, donde la solución mencionada comprende entre alrededor del 2 y el 60 % del peso del compuesto, y el resto es disolvente.
- 35 30. La endoprótesis de acuerdo con la reivindicación 29, donde el disolvente mencionado es acetato de etilo.

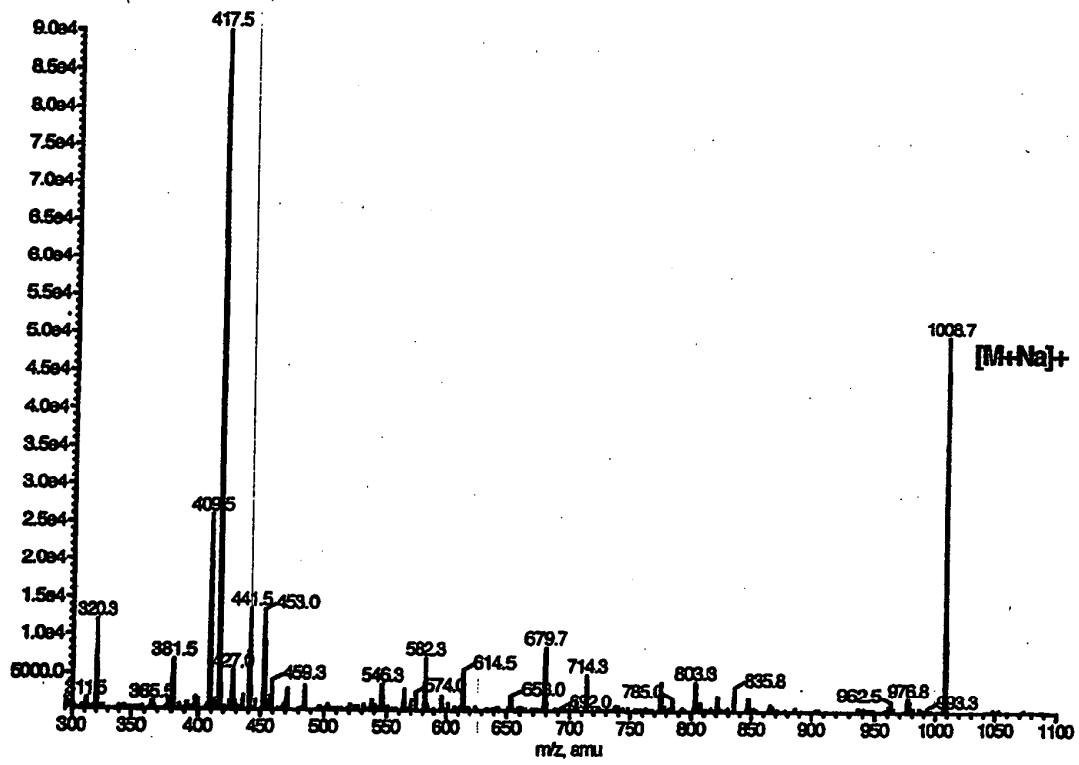


Fig. 1

2/10

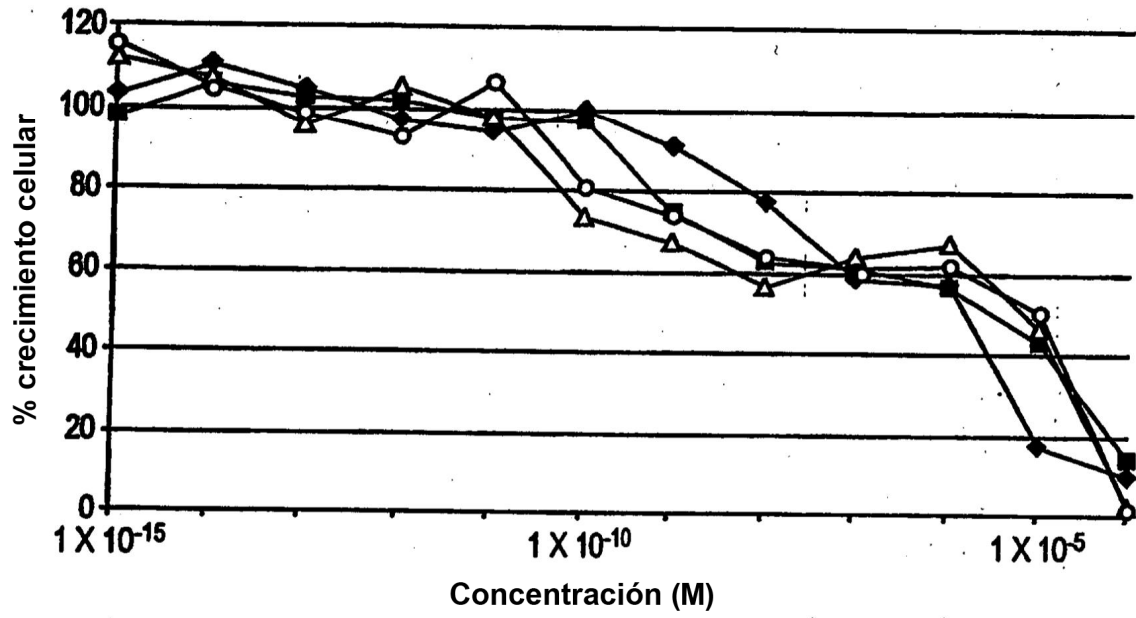


Fig. 2

3/10

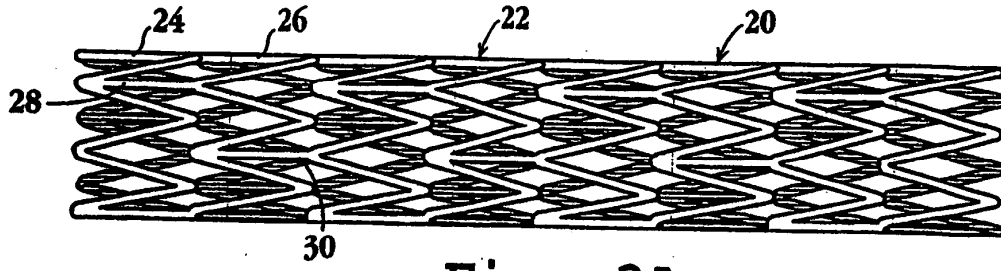


Fig. 3A

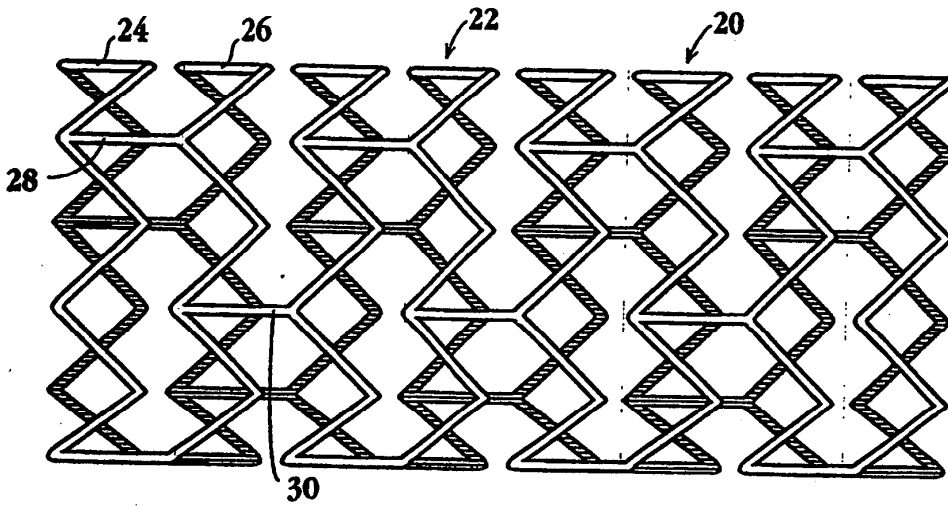


Fig. 3B

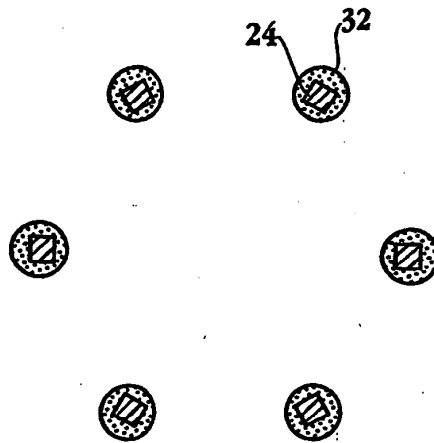


Fig. 3C

4/10

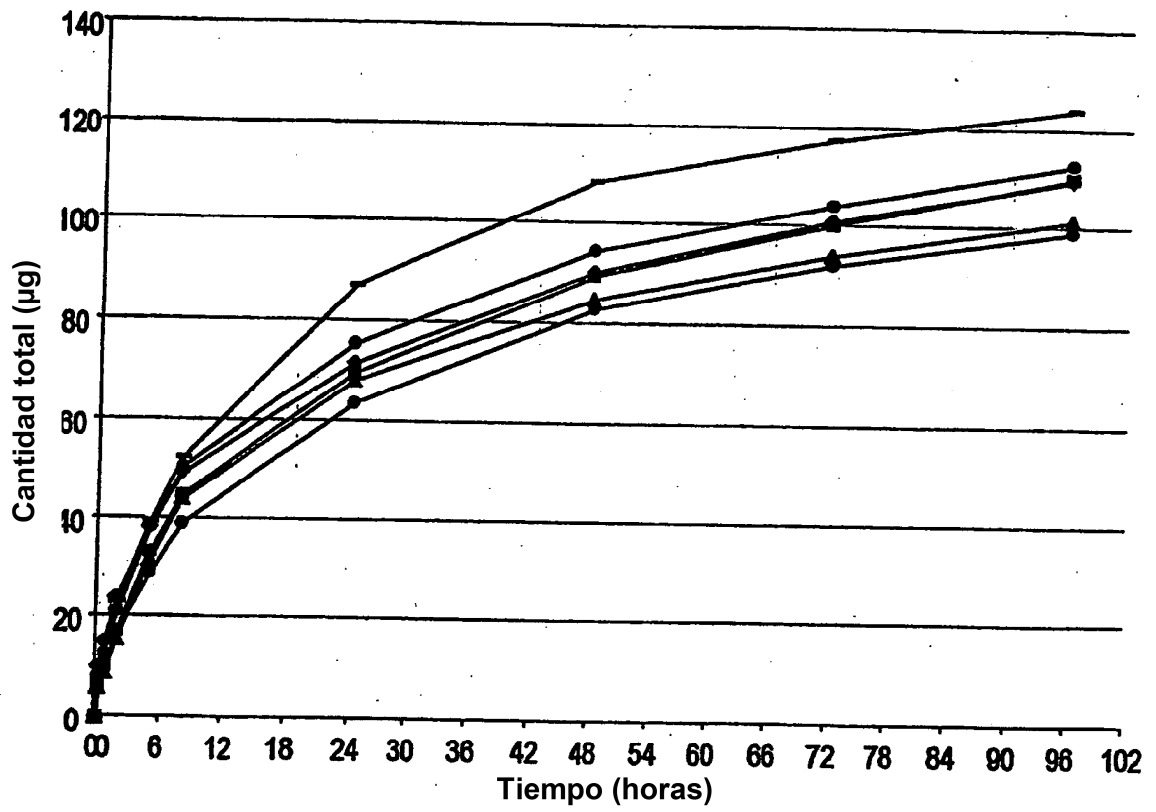


Fig. 4

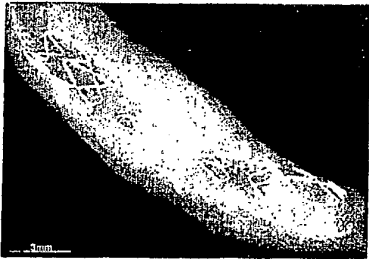


Fig. 5A

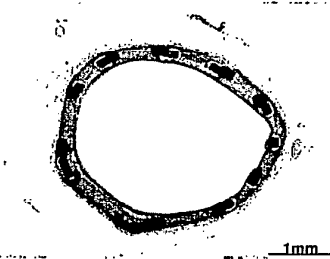


Fig. 5B



Fig. 5C

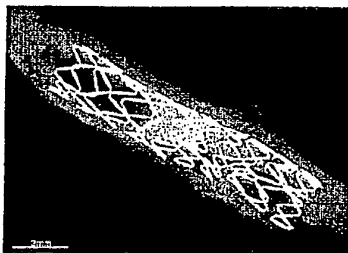


Fig. 5D

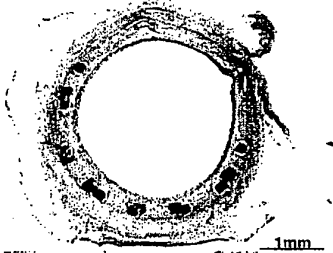


Fig. 5E

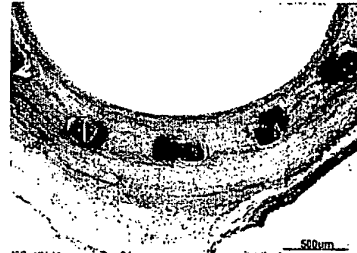


Fig. 5F

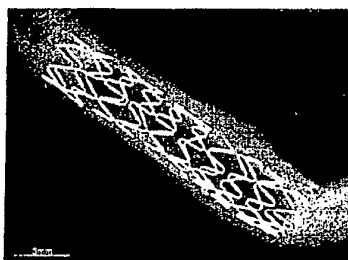


Fig. 5G

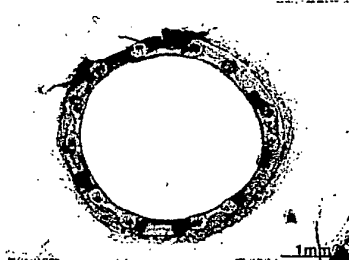


Fig. 5H

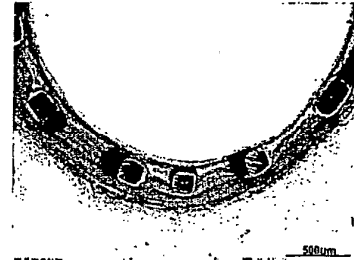


Fig. 5I

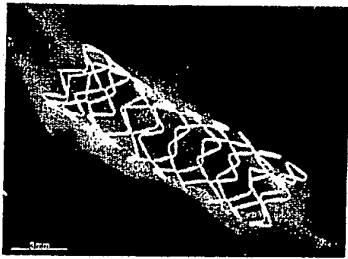


Fig. 6A

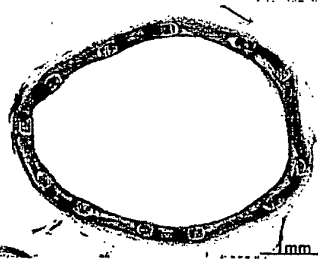


Fig. 6B

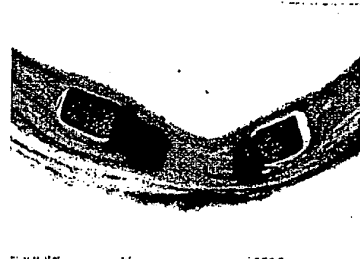


Fig. 6C

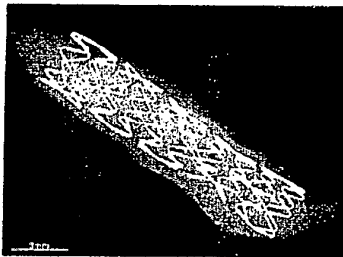


Fig. 6D

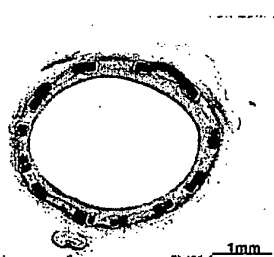


Fig. 6E

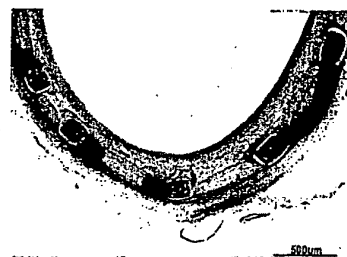


Fig. 6F

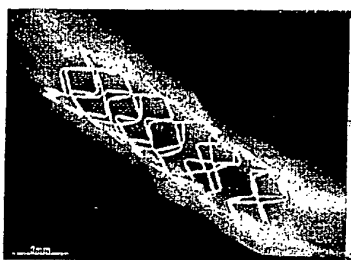


Fig. 6G

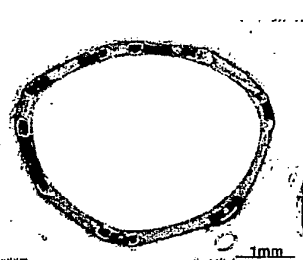


Fig. 6H

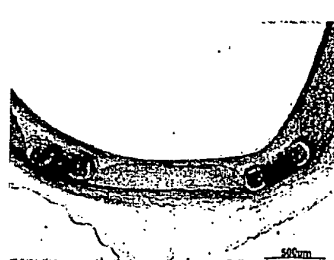


Fig. 6I

7/10

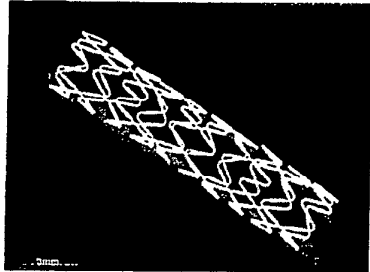


Fig. 7A



Fig. 7B

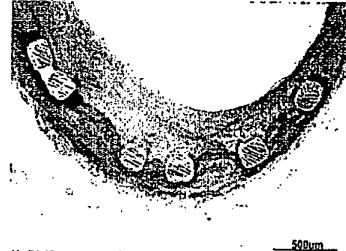


Fig. 7C

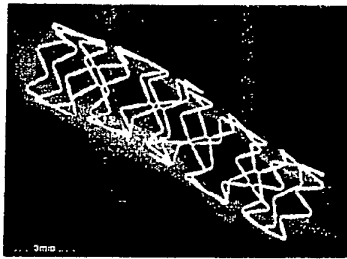


Fig. 8A

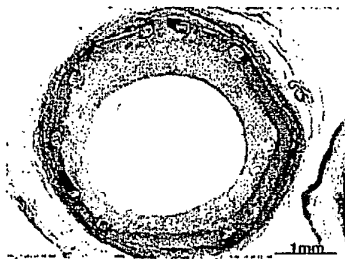


Fig. 8B

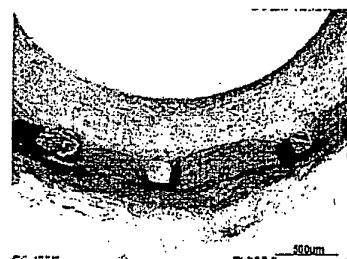


Fig. 8C

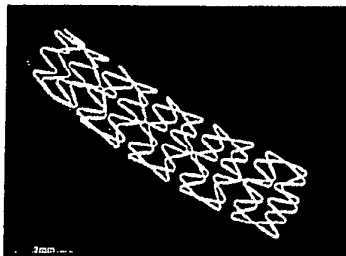


Fig. 9A



Fig. 9B

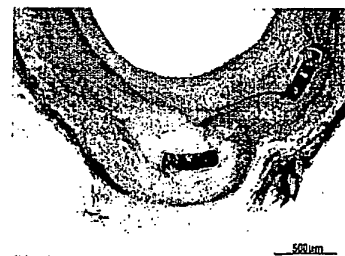


Fig. 9C

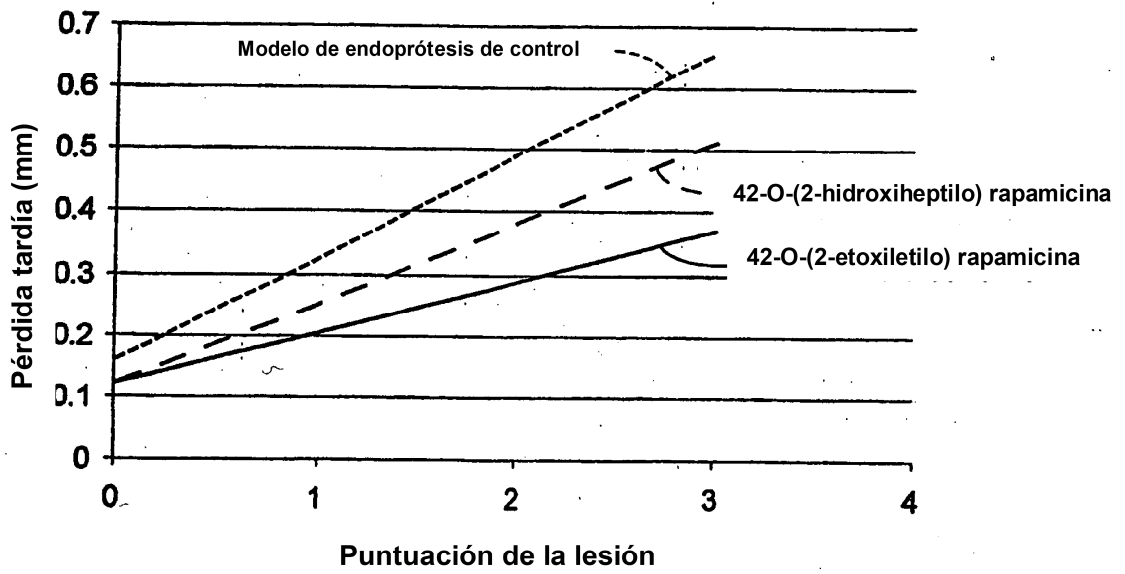


Fig. 10

9/10

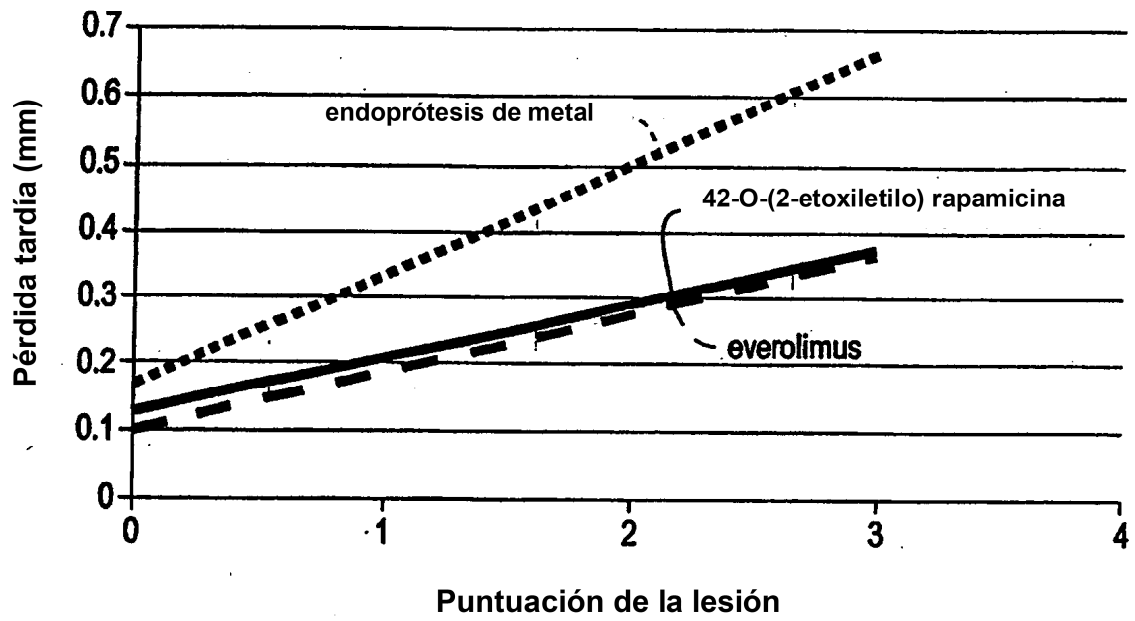


Fig. 11

10/10

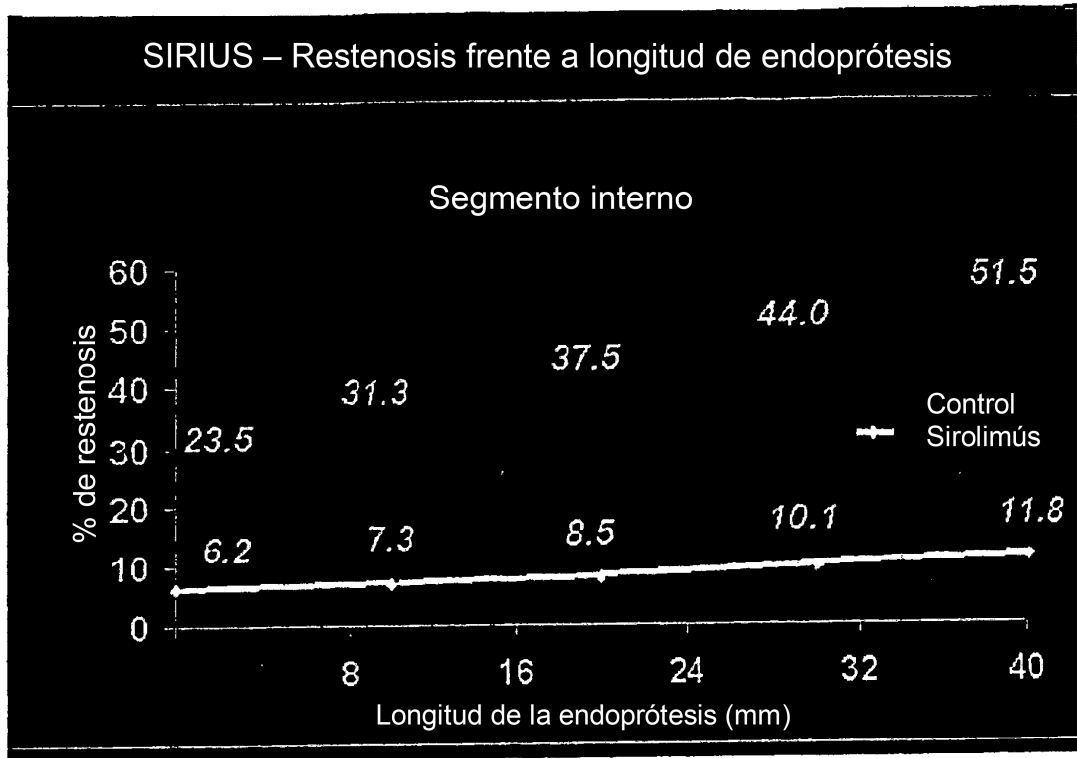


Fig. 12