REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº PI 0503201-6

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: PI 0503201-6

(22) Data do Depósito: 28/07/2005

(43) Data da Publicação Nacional: 13/03/2007

(51) Classificação Internacional: A61L 27/54; A61F 2/82.

(54) Título: STENTS REVESTIDOS COM BLENDAS POLIMÉRICAS HIDROFÍLICAS, ELUIDORAS DE ÓXIDO NÍTRICO E S-NITROSOTIÓIS

(73) Titular: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP. CGC/CPF: 46068425000133. Endereço: Cidade Universitária " Zeferino Vaz " Distrito de Barão Geraldo, Campinas, SP, BRASIL(BR); SCI-TECH PRODUTOS MÉDICOS LTDA. CGC/CPF: 01437707000122. Endereço: Rua 53, nº 220, QD. B-17, LT-22, Setor, Jd. Goiás, Goiânia, GO, BRASIL(BR)

(72) Inventor: MARCELO GANZAROLLI DE OLIVEIRA; ALEXANDER MARRA MOREIRA; AMEDEA BAROZZI SEABRA; MAÍRA MARTINS DE SOUZA GODOY SIMÕES; SPERO PENHA MORATO.

Prazo de Validade: 10 (dez) anos contados a partir de 22/12/2020, observadas as condições legais

Expedida em: 22/12/2020

Assinado digitalmente por:
Liane Elizabeth Caldeira Lage
Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

PI0503201

"Stents revestidos com blendas poliméricas hidrofílicas, eluidoras de óxido nítrico e s-nitrosotióis"

Campo da Invenção

A presente invenção se refere a um dispositivo para implante intracoronário, introduzindo novos stents eluidores de S-Nitrosotióis revestidos com multicamadas de polímeros hidrofílicos, utilizado em procedimentos médicos.

Mais especificamente, a presente invenção se refere à stents revestidos com polímeros hidrofílicos contendo S-nitrosotióis, capazes de liberar localmente tanto o óxido nítrico como os próprios S-nitrosotióis, por difusão para aplicações em angioplastia coronária, com o objetivo de inibir a reestenose aguda e crônica e se refere aos processos de revestimento de stents com polímeros hidrofílicos contendo S-nitrosotióis incorporados.

Fundamentos da Invenção

A angioplastia transluminal coronária percutânea (ACT) é uma prática cardiológica introduzida em 1977 (Gruentzig, A.P.; Senning, A.; Siengenthaler, W.E., Nonoperative dilation of coronary-artery stenosis: Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty. N. Engl. J. Med. 301, 61-8-1979), que representou uma revolução no tratamento da isquemia miocárdica decorrente da obstrução dos vasos coronários subepicárdicos. Baseada inicialmente na dilatação do vaso pela insuflação de um balão introduzido por um cateter no local da oclusão, suas principais limitações mostraram ser a reoclusão aguda (incidente em cerca de 5 a 9% dos casos) e a reestenose tardia (que ocorre em cerca de 30 a 50% dos pacientes) (Carneiro, R.C.; Oliveira, L.G.; Ribeiro, E.; Silva, L.A.; Vasques, R.; Mussa, M.; Carvalho, V.; Pereira, S.S.; Aboud, E.; Neto Auada, M.; Santos, R.G.; Angrisani Neto, S.; Frange, P.J., Angioplastia Coronária: Causas de insucesso, Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva, 4, 5-10-1996). A reoclusão aguda é eminentemente um processo de trombose por ativação de plaquetas e da cascata de coagulação. A reestenose, i.e., a reoclusão do lúmen arterial coronário, é em grande parte o resultado de um processo de resposta reparadora cicatricial à lesão arterial induzida pela distensão do balão (Bohl, K.S.; West, J.L., Nitric oxide-generating polymers reduce platelet adhesion and smooth muscle cell proliferation. Biomaterials 21, 2273-2278-2000).

PI0513201

Esse processo reparador tem várias características de uma resposta inflamatória e o principal elemento obstrutivo resulta da migração e proliferação de células com fenótipo muscular liso no local da lesão. Em paralelo ao crescimento desta, assim denominada camada neoíntima, a obstrução do lúmen vascular é devida a um fenômeno conhecido como remodelamento vascular, que consiste na readaptação global do calibre externo do vaso no sentido de diminuir a área transseccional circunscrita pela camada elástica externa.

Um grande avanço na prática da angioplastia resultou da concepção de um outro dispositivo mecânico destinado a "sustentar" internamente a artéria coronária: o "stent" ou endoprótese coronária, introduzido clinicamente há cerca de 18 anos (Sigwart, U.; Puel, J.; Irkovitch, M.; Joffre, F.; Kappenberger, L., Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. N. Engl. J. Med. 316, 70-76-1987).

Os stents são malhas metálicas expansíveis implantadas por cateteres no interior das artérias obstruídas por processos de aterosclerose, com o objetivo de ampliar a luz do vaso no local da obstrução. Embora a implantação de stents tenha conseguido resolver em grande parte a reoclusão aguda, a reestenose tardia continua sendo o maior problema clínico após a angioplastia, ocorrendo ainda em cerca de 20% dos pacientes (LeBreton, H.; Topol, E.; Plow, E.F., Evidence for a pivotal role of platelets in vascular reocclusion and restenosis. Cardiovasc. Res., 31, 235-236-1996).

No início da década de 90 os stents cursavam também com incidências altas de complicações trombóticas (10 a 25%) (Serrius, *et al.*, 1991). A primeira tentativa de se reduzir a trombose foi o uso de anticoagulantes sistêmicos, porém esta abordagem levou a um aumento dos índices de complicações vasculares. Desta forma, a meta passou a ser o desenvolvimento de um stent revestido com substância antitrombótica, para se combater a trombogenicidade inerente da superfície metálica dos stents. Os primeiros stents revestidos foram usados em 1991, e continham um revestimento de heparina. Este e outros estudos que se seguiram demonstraram uma significativa redução na formação de trombo em diferentes modelos animais (Hardhammar PA, van Beusekom HM, Emanuelsson HU et al. Reduction in thrombotic events with heparin coated Palmaz-Schatz stents in normal porcine coronary arteries. *Circulation* 1996; 93:423-430). Posteriormente, outros estudos

PI0503201

demonstraram a ausência de trombose em uma grande série de pacientes que receberam os stents revestidos. O sucesso alcançado pelo stent revestido com heparina serviu de base para o lançamento do conceito de revestir o stent com materiais poliméricos que podem servir de matrizes para a incorporação de vários agentes farmacológicos.

Após os excelentes resultados na redução da trombose, as pesquisas se concentraram em estratégias de combate à reestenose, através da inibição da proliferação celular. Nesta abordagem, foi retomado o conceito de liberação local do fármaco na parede do vaso, a partir da sua incorporação na superfície do stent. Desta forma, foram desenvolvidos os stents farmacológicos, cujo objetivo é proporcionar a liberação local de drogas com ações antiinflamatórias, antiproliferativas, antimigratórias e pró-endoteliais, a partir da deposição das drogas na superfície do stent em suas formas puras ou incorporadas em matrizes poliméricas. Portanto, existe um grande interesse atual no desenvolvimento de materiais de recobrimento de stents que possam proporcionar a eluição de drogas com estas funções, bem como no desenvolvimento de novas matrizes poliméricas que possam ser usadas para a incorporação destas drogas.

Como o óxido nítrico (NO), sintetizado endogenamente nos mamíferos, previne a ativação e a adesão de plaquetas, reduz a proliferação das células musculares lisas, estimula a proliferação das células endoteliais e a gênese de novos vasos e promove a vasodilatação dos vasos sanguíneos, a liberação local de NO a partir da superfície de stents revestidos tem grande potencial na prevenção da trombose, podendo também reduzir a reestenose após a angioplastia (Mowery, K.A.; Schoenfisch, M.H.; Saavedra, J.E.; Keefer, L.K.; Meyerhoff, M.E., Preparation and characterization of hydrophobic polymeric films that are thromboresistant via nitric oxide release. Biomaterials, 21, 9-21-2000).

Já foram descritos na literatura hidrogéis fotopolimerizáveis de poli (etileno glicol) (PEG), capazes de liberar NO em meio fisiológico por períodos prolongados de tempo que variam de horas a meses, dependendo da formulação do polímero. Outros trabalhos mostraram que a agregação plaquetária e a proliferação de células musculares lisas em superfícies revestidas com colágeno foram inibidas após a exposição do sangue a esses hidrogéis doadores de NO (Brieger, D.; Topol, E. Local

PI0503201

drug delivery systems and prevention of restenosis. Cardiovasc. Res., 35, 405-413-1997).

Em outros periódicos, são encontrados trabalhos envolvendo o recobrimento de stents com polímeros e agentes terapêuticos. Sousa *et al.* (Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Feres F, Pinto IM, Seixas AC, Staico R, Matos LA, Sousa AG, Falotico R, Jaeger J, Popma JJ, & Serruys P. Lack of neointimal proliferation after implantantion of sirulimus-coated stents in human coronary arteries. *Circulation* 2001; 103:192-195) relataram estudos em pacientes submetidos à angioplatia com stents recobertos com sirolimus que resultaram em mínima hiperplasia da neoíntima, decorridos seis meses da operação. Há estudos realizados com stents recobertos com polímeros que diminuíram a incidência de trombose em stents implantados em artérias de porcos em 38% comparados com stents não recobertos, mas não diminuíram a hiperplasia da neoíntima significativamente (Van Der Giessen, Van Beusekon HM, Van Houten CD et al.;Coronary stenting with polymer-coated and uncoated self-expanding endoprotheses in pigs. *Coron Artery Dis* 1992; 3:631-640). Stents vasculares com uma série de recobrimentos contendo doadores de NO também foram testados, com efeitos variáveis (Etteson DS, Edelman ER;Local drug delivery: an emerging approach in the treatment of restenosis. *Vasc Med.* 2000;5:97-102) e Bertrand OF, Siphenia R, Mongrain R., Rodes J, Tardifi JC, bilodeU I, Cote g, Bourassa MG; biocompatibility aspects of new stent technology. *J Am Coll Cardiol.* 1998;32:562-571). Microesferas de polietilenoimina contendo NO com meia-vida de 51h também foram aplicadas em implantes coronários para prevenir trombose e reestenose (Pullfer SK, Ott D, Smith DJ;Incorporation of Nitric Oxide-releasing crosslinked polyethyleneiminemicrospheres into vascular grafts. *J Biomed Mat Res.* 1997; 37:182-189). Similarmente, grupos N(O)NO foram incorporados em matrizes poliméricas sintetizadas para modular o tempo de liberação de NO, mostrando potencial atividade antiplaquetária em stents vasculares (Smith DJ, Chakravarthy D, Pullfer S, Simmons ML, Hrabie JA, Citro MLSaavedra JE, Davies KM, Hutsell Tc, Mooradian DL, Hanson SR, Keefer LK; Nitric oxide releasing polymers containing [N(O)NO]-group. *J Med Chem.* 1996; 39:1148-1156). Albumina bovina S-Nitrosada aplicada no local danificado na artéria reduziu a reestenose em coelhos (Marks DS, Vita JS, Folts JD, Keaney JF Jr, Welch GN, Loscalzo J., Inhibitions of neointimal proliferation in rabbits after vascular injury by a single treatment with a protein

PI0503201

adduct of nitric oxide. *J. Clin Invest.* 1995; 96: 2630-2638). A liberação de NO a partir da albumina bovina, em comparação com o polímero não nitrosado, reduz a agregação plaquetária em 50-70% e a formação da neoíntima em 40% (Maalej N, Albrecht R, Loscalzo J, Folts JD, The potent Platelet inhibitory effects of S-nitrosated albumin coating of artificial surfaces. *J. Am Coll Cardiol.* 1999; 33:1408-1414). Stents recobertos com filmes de fibrina também foram testados. A fibrina tem-se mostrado uma ótima candidata para a liberação controlada de drogas porque pode cobrir completamente o segmento coronário já que, sua degradação é lenta, com duração de um a três meses (*J Am Coll Cardiol.* 1998;31(6): 1434-1438). Foram testados também stents recobertos com fibrina impregnados com heparina (*J Am Coll Cardiol.* 1994;24:525-531). Esses stents mostraram ótima resposta antitrombogênica e menor hiperplasia da neoíntima.

Junghan Yoon *et al.* (Yoon J, Wu C, Homme J, Tuch RJ., Wolff RG., Topol EJ, Lincoff M.; Local delivery of nitric oxide from a eluting stent to inhibit neointimal thickening in a porcine coronary injury model. *Younsei Medical Journal* 2002; 43(2): 242-251), a fim de avaliar o efeito de NO eluído de um stent na redução da espessura da neoíntima, incorporaram nitroprussiato de sódio, um doador de NO, numa matriz de poliuretano e recobriram stents metálicos. Neste trabalho, observou-se um efeito biológico na parede da artéria com elevação dos níveis de monofosfato de guanosina cíclica (cGMP), que indica a ação biológica local do NO. Embora a liberação local de NO a partir desse modelo não tenha reduzido a hiperplasia da neoíntima, esse stent recoberto com polímero mostrou-se uma ferramenta promissora para a administração de outros agentes que podem modificar as respostas dos tecidos que levam à reestenose. Young S.Do *et al.* (Do YS, Kao EY, Ganaha F, Minamiguchi H, Sugimoto K, Lee J, Elkins CJ, Amabile PG, Kuo MD, Wang DS, Waugh JM, Dake MD. In stent restenosis limitation with stent-based controlled-release Nitric Oxide: Initial results in rabbits. *Radiology* 2004; 230: 377-382), com o mesmo objetivo carregaram stents com microesferas biodegradáveis de poli(ácido lático-co-glicólico)-polietilenoglicol contendo doadores de NO, mostrando que a liberação controlada de NO reduz significativamente a reestenose e está associada a um aumento nos níveis de cGMP e à limitação da proliferação de células musculares lisas.

PI0503201

Os principais polímeros utilizados como matriz para a eluição de drogas em stents são: o poli-ácido láctico, Poliuretano, Politretrafluoretileno, Poli (ácido lático-co ácido glicólico) e polietileno glicol. Entre os doadores de NO usados em estudos de eluição em stents destacam-se o nitroprussiato de sódio, os diazeniodiolatos e os a nitrosoalbumina, que é uma proteína nitrosada.

A liberação controlada de NO a partir da superfície dos stents é uma opção terapêutica atrativa para a prevenção da reestenose, uma vez que ela pode permitir a liberação de uma alta concentração de NO no local da lesão, sem os efeitos colaterais da administração sistêmica de NO. Como o processo cicatricial que se segue à implantação do stent pode ser um processo longo, uma vantagem da liberação de NO a partir de uma matriz polimérica é que esta liberação pode ser prolongada pelo efeito da matriz, ampliando sua ação na inibição da reestenose.

O NO tem a capacidade de se ligar a certos aminoácidos que contém o grupo funcional sulfidrila (-SH), também denominado tiol. Esta ligação do NO é conhecida como nitrosação, ou S-nitrosação, produzindo o grupo S-nitrosotiol (RSNO, onde R representa a molécula orgânica onde o grupo SNO está ligado), que por sua vez pode liberar o NO livre através da quebra homolítica da ligação S-NO (Singh *et al.*, 1999). Em mamíferos, a formação de nitrosotióis representa um mecanismo de transporte e armazenamento de NO. Vários S-nitrosotióis já foram encontrados endogenamente em humanos, como a S-nitrosocisteina, a S-nitrosoglutationa e a S-nitrosoalbumina, indicando que outros RSNOs sintéticos têm grandes chances atuar como fontes exógenas de NO, de baixa toxicidade. Como os S-nitrosotióis possuem praticamente todas as funções bioquímicas do NO livre, há atualmente um grande interesse de pesquisa no desenvolvimento de dispositivos que utilizem estas substâncias, ou este grupo funcional, para a liberação controlada e localizada de NO em aplicações biomédicas.

Já foi verificado que é possível a incorporação de S-nitrosotióis em várias matrizes poliméricas, como está descrito nos pedidos de patente depositados no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) Nº PI 004232-0, Nº PI 0201167-0 (2002), Nº PI 030784-7 e Nº PI0401977-6. No pedido de patente Nº PI 0201167-0, foi demonstrado que é possível a preparação de filmes poliméricos sólidos de poli(álcool vinílico) (PVA) e de misturas de poli(álcool vinílico) com poli(vinilpirrolidona) (PVA-PVP), que contenham S-nitrosotióis incorporados. Essas

PI0503201

matrizes sólidas estabilizam os S-nitrosotióis e são capazes de liberar NO espontaneamente a partir dos S-nitrosotiois quando mergulhadas em meio aquoso. Possuem, portanto, um grande potencial de aplicação para o revestimento de stents uma vez que podem promover a liberação de óxido nítrico no local de implante do stent, reduzindo assim as chances de reestenose.

O poli(álcool vinílico) (PVA) puro pode ser representado pela fórmula estrutural $[-CH_2CH(OH)-]_n$. O PVA é um polímero semicristalino encontrado comercialmente, possuindo graus de hidrólise de 80 a 99%. O PVA com grau de hidrólise de 96 a 80% pode ser representado pela seguinte fórmula estrutural: $[-CH_2CH(OH)-]_X[-CH_2CH(O_2CCH_3-]_Y$. A cristalinidade do PVA está associada ao seu grau de hidrólise e influencia a sua solubilidade e as suas propriedades térmicas. O PVA é solúvel em solventes altamente polares e hidrofílicos. Os grupos hidroxila presentes na cadeia de PVA propiciam a formação de pontes de hidrogênio intra e intermoleculares. O PVA é também um excelente adesivo, apresentando ótimas propriedades como agente emulsificante devido a sua baixa tensão superficial. O PVA é grandemente utilizado na indústria têxtil e de papel e também na indústria de cosméticos.

O PVA é um polímero biocompatível bastante conhecido por suas propriedades mecânicas e foi um dos primeiros polímeros sintéticos a serem testados em cartilagens artificiais (Seal *et al.*; Mater Sci Eng 2001; 34: 147-230). As blendas de PVA podem ser moldadas como filmes e aplicadas como materiais funcionais, incluindo materiais biomédicos tais como membranas de diálise, membranas para a substituição de tecidos feridos, pele artificial, implantes cardivasculares e como veículo para liberação controlada de substâncias ativas (Cascone *et al.*; Biomaterials, 1995; 16:569-574 e Giusti *et al.*; J Mater Sci Mater Méd; 1993; 4: 538-542). Filmes de PVA e PVA combinados com polímeros naturais como colágeno, hialuroana, gelatina, (Scotchford *et al.*; Biomaterials, 1998; 19:1-11) ou ácido desoxirribonucléico (Aoi *et al.* Polymer; 2000; 41:2847-2853) foram estudados para fins médicos. Além disso, PVA foi extensivamente utilizado para fins farmacêuticos em tabletes e hidrogéis contendo drogas bioativas, (Morita *et al.*; J Control Rel 2000; 63:297-304).

A poli(vinil pirrolidona) (PVP) pode ser representada pela fórmula estrutural $[-CH_2CH(NC_4H_6O)-]_n$. A PVP é de ampla aplicação sendo empregada em formulações de detergentes, emulsões, suspensões e pigmentos. Na indústria farmacêutica, a

PI0503201

PVP é usada como veículo para a dissolução e liberação de drogas em várias formulações. A PVP pode interagir fortemente com outras moléculas por interações através de pontes de hidrogênio, já que é uma base forte de Lewis, podendo atuar como receptora de prótons. Esta característica permite a miscibilidade desse polímero com polímeros que atuem como doadores de prótons como o poli(álcool vinílico).

A Poli(vinil pirrolidona) (PVP) é um dos polímeros mais comumente utilizados na medicina por causa de sua solubilidade em água e sua toxicidade extremamente baixa (Higa *et al.* Radiat Phys Chem 1999;55:705-707 e Lopes *et al.*; Biomaterials 2003;24:1279-1284). Outras aplicações farmacêuticas da PVP incluem seu uso como matriz ou como aditivo para a liberação controlada de drogas, para a coprecipitação de outras drogas e como uma dispersão sólida para difusão controlada de drogas (Zavos et al.; Contraveption 1997;56:123-127 e Tantishaiyakul *et al.* Int J Pharm 1999;181:143-151). Trabalhos recentes descrevem o uso de PVP para aplicação tópica na pele e para a liberação transdérmica de drogas (Wang *et al.*, J Chem Eng Jpn 2003; 36:92-97). A poli(vinil pirrolidona) misturada ao poli(álcool vinílico) já vem sendo utilizada na obtenção de membranas e fibras para finalidades biomédicas.(Razzak et al., Radiat Phys Chem 1999; 55:153-165 e Cassu *et al.*, olymer 1997; 38:3908-3911).

O Poli(etileno glicol) (PEG) ou poli(óxido de etileno) (PEO), é um polímero não-tóxico e solúvel em água e é freqüentemente usado em aplicações nas áreas biomédicas. Existe comercialmente com massas molares variando de poucas centenas a milhares de Daltons. A designação PEG é usada para compostos de baixa massa molar (abaixo 20.000g/mol) e a designação PEO poli(óxido de etileno) é restrita para compostos de altas massas molares (maiores que 20.000g/mol). Os PEGs com massas molares menores que 1.000g/mol existem na forma de soluções incolores estáveis ou pastas. Os de massas molares elevadas, acima de 1.000g/mol, são encontrados na forma de pó ou flocos brancos. O PEG possui uma variedade de propriedades pertinentes para aplicações biomédicas, como: insolubilidade em água a elevadas temperaturas e formação de complexos com cátions metálicos. Atua também como agente precipitante de proteínas e ácidos nucléicos.

As propriedades dos géis fisicamente reticulados dos polímeros PVA, PVP, PEG e suas blendas têm sido grandemente estudadas. Esses hidrogéis possuem boas

PI0503201

propriedades mecânicas, podem reter uma alta quantidade de água, são estáveis à temperatura ambiente e são capazes de manter sua forma original, além de serem biocompatíveis. (Hérnandez *et al.*, Polymer 2004; 46: 5543-5549; Yoshihiro *et al.* J Mater Sci, 1997; 32: 491-496;Ricciardi *et al.*; Chem. Mater 2005,17:1183-1189).

Alguns dos S-nitrosotióis são comercializados em sua forma sólida, como por exemplo, a S-nitrosoglutationa (GSNO) (ICN Pharmaceutical - Costa Mesa, CA - USA; Sigma -Aldrich, St. Louis, MO - USA; Alexis Biochemicals, San Diego - CA - USA) e a S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP) (ICN Pharmaceutical - Costa Mesa, CA - USA; Sigma -Aldrich, St. Louis, MO - USA; Alexis Biochemicals, San Diego - CA - USA).

Os métodos de síntese de S-nitrosotióis em meio aquoso existentes são vários.

Um deles consiste na reação do tiol com nitrito de sódio ($NaNO_2$) em meio ácido (HCl) em banho de gelo. O S-nitrosotiol formado é precipitado através da adição de um solvente com polaridade mais baixa que a da água, como por exemplo, a acetona ou éter. Para evitar a adição de um outro solvente visando a precipitação do S-nitrosotiol, pode-se ajustar o pH da solução a 7,4 através da adição de base NaOH e solução tampão salina (Hart, T.W., Some observations concerning the S-nitroso and S-phenylsulphonyl derivatives of L-cysteine and glutathione. Tetrahedron Letters. **26**, 2013-2016 (1985).

As Patentes nº US5593876, 6471347, 6124255 nas quais são descritos métodos de nitrosação de tióis, a saber: 1- Nitrosação através da exposição do polipeptídeo a um doador de óxido nítrico sobre condições onde seja permitida a liberação ou transferência do óxido nítrico do doador para o polipeptídeo; 2 - Borbulhamento de uma fonte gasosa de óxido nítrico através de uma solução do polipeptídeo, durante o tempo necessário para a formação do nitrosotiol (Pedido de Patente nº. BR 200100577-A); 3 - Exposição dos tióis a células endoteliais aórticas bovinas estimuladas a secretar EDRF por exposição a forças de cisalhamento; 4 - Exposição dos tióis a óxido nítrico sintetase, juntamente com um substrato e um cofator; 5 - Acidificação de soluções alcalinas de tióis e espécies contendo nitrito pela adição de ácido; 6 - Síntese do poliéster polinitrosado a partir da reação de poli esterificação de um diol com um diácido carboxílico seguida da nitrosação das sulfridrilas do poliéster, de acordo com o método descrito no pedido de patente protocolada no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) em 24/02/03 (Protocolo nº 300.784-7).

PI0503201

As preparações de blendas poliméricas de PVA/PVP apenas e de filmes de PVA, filmes de PVP e filmes de blendas de PVA?PVP contendo doadores de NO já foram descritas em artigos científicos, entre eles: Cassu SN, Felisberti MI. Poly(vinyl alcohol) and poly(vinyl pyrrolidone) blends: miscibility, microheterogeneity and free volume change. Polymer 1997;38:3908-3911, A. B. Seabra, Lilian L. da Rocha, Marcos N. Eberlin e Marcelo G. de Oliveira. "Solid films of blended poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl pyrrolidone) for topical S-nitrosoglutathione and nitric oxide release" Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005 e Amedea B. Seabra, Gabriela F. P. de Souza, Lilian L. da Rocha, Marcos N. Eberlin e Marcelo Ganzarolli de Oliveira "S-Nitrosoglutathione incorporated in poly(ethylene glycol) matrix: potential use for topical nitric oxide delivery " Nitric Oxide, Volume 11, No 3, 2004, P. 263-272, bem como na patente nº. BR 200201167 que descreve o método de preparação de blendas poliméricas formadas a partir de PVA/PVP contendo S-nitrosotióis como doadores de NO.

Atualmente, há o registro de pelo menos 101 patentes envolvendo revestimento de stents com polímeros e agentes terapêuticos no banco de dados Derwent Innovations index da ISI Web of Knowledge, para o período de 1996 a 2004. Ainda no banco de dados United States Patent and Trademark Office há o registro de 51 patentes relacionadas a stents e doadores de NO. Entre essas patentes, destacam-se: **WO 2004017939-A1** - Dispositivo médico, especialmente stents, carregado com um fármaco (A) para inibição da proliferação de células vasculares musculares lisas e um fármaco (B) para melhorar a função da célula endotelial vascular. Como fármaco (B) é citado um doador de NO, preferencialmente S-nitroso-N-acetil-DL-penicilmina (SNAP) ou arginina; **WO 2004002367-A1** – stent eluidor de drogas constituído por várias camadas na superfície do corpo do stent, onde pelo menos duas são fármacos compreendendo uma camada polimérica, aditivo e ingredientes ativos. Entre os polímeros são citados PVA e PVP e como droga antiestenótica são citados doadores de NO; e **US 20040171589-A1** que se refere a dispositivos e métodos para liberação diferencial e local de NO no corpo. Os dispositivos têm pelo menos dois compostos doadores de óxido nítrico com diferentes mecanismos de liberação e diferentes meias-vidas.

Os inventos que compõe o estado da técnica no campo da presente invenção não contemplam, até o momento, sistemas que podem liberar tanto o NO, como os

PI0503201

próprios S-nitrosotióis doadores de NO, íntegros, por difusão, a partir do recobrimento de stents, para tecidos circundantes. Também não contemplam especificamente o uso de S-nitrosotióis primários como aminoácidos ou peptídeos de baixa massa molar. Como estes últimos possuem grande capacidade de liberar o NO espontaneamente, bem como de se difundirem de matrizes poliméricas hidrosolúveis para tecidos ou meios aquosos, e como estes S-nitrosotióis primários possuem as mesmas ações benéficas do NO na inibição da reestenose, há uma demanda não preenchida para o uso de sistemas que combinem a liberação local de NO com a difusão local de doadores de NO íntegros, capazes de transferir o NO posteriormente, após o contato ou penetração dos mesmos nas células de tecidos. Esta demanda pode portanto ser preenchida com o uso destes de S-nitrosotióis primários, incorporados em polímeros, ou misturas de polímeros hidrossolúveis.

Além disso, a incorporação de S-nitrosotiois em multicamadas que possuem um ou mais polímeros reticulados fisicamente, permite a modulação da liberação de NO e de S-nitrosotiois, sem a dissolução completa do recobrimento, podendo levar a resultados de inibição da reestenose mais efetivos do que os já relatados na literatura.

Breve Descrição da Invenção

A presente invenção se refere a um dispositivo para implante intracoronário, introduzindo novos stents eluidores de S-Nitrosotióis revestidos com multicamadas de polímeros hidrofílicos, utilizado em procedimentos médicos.

Mais especificamente, a presente invenção se refere a stents revestidos com polímeros hidrofílicos contendo S-nitrosotióis, capazes de liberar localmente tanto o óxido nítrico como os próprios S-nitrosotióis, por difusão, para aplicações em angioplastia coronária, com o objetivo de inibir a reestenose aguda e crônica e aos processos de revestimento de stents com polímeros hidrofílicos contendo S-nitrosotióis incorporados.

Os polímeros hidrofílicos utilizados nos revestimentos são poli(álcool vinílico), poli(vinil pirrolidona) blendas de poli(álcool vinílico)/poli(vinil pirrolidona), poli(álcool vinílico)/poli(etileno glicol), poli(vinil pirrolidona)/poli(etileno glicol) e poli(álcool vinílico)/poli(vinil pirrolidona)/poli(etileno glicol).

Os S-nitrosotióis incorporados nos revestimentos poliméricos são principalmente S-nitrosotiois primários, caracterizados pelo fato de a molécula de óxido nítrico (NO)

PI0513201

estar ligada covalentemente a um átomo de enxofre (S), ligado, por sua vez, a um carbono primário da estrutura da molécula, constituindo o grupamento químico S-NO.

Os processos de revestimento incluem processos de imersão dos stents nas soluções poliméricas contendo os S-nitrosotióis e processos de nebulização das soluções poliméricas contendo os S-nitrosotióis sobre a superfície dos stents.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção se refere a um dispositivo para implante intracoronário, introduzindo novos stents eluidores de S-Nitrosotióis revestidos com multicamadas de polímeros hidrofílicos, utilizado em procedimentos médicos.

Mais especificamente, a presente invenção se refere a stents revestidos com polímeros hidrofílicos contendo S-nitrosotióis, capazes de liberar localmente tanto o óxido nítrico como os próprios S-nitrosotióis, por difusão para aplicações em angioplastia coronária, com o objetivo de inibir a reestenose aguda e crônica e se refere aos processos de revestimento de stents com polímeros hidrofílicos contendo S-nitrosotióis incorporados.

Os polímeros hidrofílicos utilizados nos revestimentos são poli(álcool vinílico), poli(vinil pirrolidona) blendas de poli(álcool vinílico)/poli(vinil pirrolidona), poli(álcool vinílico)/ poli(etileno glicol), poli(vinil pirrolidona)/poli(etileno glicol) e poli(álcool vinílico)/poli(vinil pirrolidona)/poli(etileno glicol). Estes polímeros podem, ou não, ter sido submetidos a processos de reticulação. Os S-nitrosotióis incorporados nos revestimentos poliméricos são principalmente S-nitrosotiois primários, caracterizados pelo fato da molécula de óxido nítrico (NO) estar ligada covalentemente a um átomo de enxofre (S), ligado, por sua vez, a um carbono primário da estrutura da molécula, constituindo o grupamento químico S-NO.

Os processos de revestimento incluem processos de imersão dos stents nas soluções poliméricas contendo os S-nitrosotióis e processos de nebulização das soluções poliméricas contendo os S-nitrosotióis sobre a superfície dos stents.

Embora alguns pedidos de patente de revestimento de stents incluam o poli(alcool vinílico) como polímero e doadores de óxido nítrico, como os S-nitrosotióis, como droga ativa, a presente invenção se diferencia dos demais pois são utilizadas blendas de PVA com PVP e com PEG ou PEO, combinadas em uma ou mais camadas sobre os stents, além da reticulação opcional dos polímeros utilizados, por

qualquer processo de gelificação, já conhecido ou que venha a ser publicado posteriormente. O uso de blendas de PVA com PVP, PEG ou PEO, bem como a reticulação dos polímeros utilizados, permite modular a plasticidade da matriz polimérica tornando-as adequadas para resistir às modificações mecânicas sofridas pelos stents no processo de expansão pelo balão na sua implantação. Além disso, o uso destas blendas permite modular a velocidade de liberação tanto de NO como dos S-nitrosotióis por difusão, uma vez que os processos de difusão são favorecidos pela maior plasticidade dos revestimentos poliméricos.

Outra diferença em relação aos outros pedidos de patente está no fato de que nesta invenção são utilizados principalmente os S-nitrosotióis primários como a S-nitrosocisteina, a S-nitroso-N-acetilcisteina e a S-nitrosoglutationa, enquanto que outros pedidos de patente mencionam principalmente a S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP) que é um S-nitrosotiól terciário ou a S-nitroso albumina que é uma proteína de massa molar alta. A vantagem dos S-nitrosotióis primários neste tipo de aplicação é a de que eles são encontrados endogenamente em humanos, e assim apresentam uma toxicidade muito reduzida, enquanto que a SNAP não existe endogenamente em humanos e portanto sua administração implica em um risco maior de toxicidade.

Além disso, os S-nitrosotióis primários possuem uma ação biológica muito intensa, resultante de suas maiores capacidades de doar o óxido nítrico para outros receptores tanto através da quebra homolítica da ligação S-N, como através de reações de transnitrosação, onde o NO é transferido para outros tióis endógenos, exercendo assim sua ação biológica. A maior atividade biológica dos S-nitrosotióis primários implica em uma maior instabilidade térmica em solução aquosa. Por esta razão eles são muito pouco explorados em outros inventos, que privilegiam a SNAP, devido à sua maior estabilidade.

A presente invenção tem também o caráter inovador de conseguir estabilizar os S-nitrosotióis primários através de sua incorporação nas matrizes poliméricas utilizadas, permitindo assim que eles sejam usados comercialmente neste tipo de aplicação, com a manutenção das propriedades de doação de óxido nítrico que são importantes e que passam a se manifestar com a difusão dos doadores para fora da matriz. Quando esta difusão a partir das matrizes poliméricas ocorre em contato

PI0513201

direto com tecidos, a ação biológica mais intensa dos S-nitrosotióis primários ocorre diretamente nos tecidos para os quais os S-nitrosotióis se difundem.

Mais especificamente ainda, os stents aos quais se refere esta invenção são stents metálicos contendo em sua superfície um revestimento polimérico capaz de liberar localmente o óxido nítrico, ou pelo menos um S-nitrosotiol, por difusão, sendo que os stents podem estar sobre um substrato expansível adaptado para a implantação em veias e artérias de seres humanos e outros animais. O revestimento polimérico pode possuir uma, duas, três ou mais camadas, sendo que uma ou mais camadas contêm pelo menos um S-nitrosotiol, com capacidade de liberar óxido nítrico e de se difundir para os tecidos adjacentes ao stent, após a sua implantação. A concentração de cada S-nitrosotiol ou da mistura de mais de um S-nitrosotiol na camada polimérica que os contêm, pode variar na faixa de 0,0001 a 99% em massa.

A descrição acima da presente invenção foi apresentada com o propósito de ilustração e descrição. Além disso, a descrição não tenciona limitar a invenção à forma aqui revelada. Em conseqüência, variações e modificações compatíveis com os ensinamentos acima e a habilidade ou conhecimento da técnica relevante, estão dentro do escopo da presente invenção.

As modalidades acima descritas tencionam melhor explicar os modos conhecidos para a prática da invenção e para permitir que os técnicos na área utilizem a invenção em tais, ou outras, modalidades e com várias modificações necessárias pelas aplicações específicas ou usos da presente invenção. É a intenção que a presente invenção inclua todas as modificações e variações da mesma , dentro do escopo descrito no relatório e nas reivindicações anexas.

Reivindicações

1) Dispositivo para implante intracoronário, **caracterizado por** ser constituído por stents revestidos com pelo menos uma camada de um filme que compreende uma blenda de polímeros hidrofílicos compreendendo uma blenda de poli(álcool vinílico) / poli(etileno glicol), ou poli(vinilpirrolidona) / poli(etilenoglicol); ou poli(álcool vinílico) / poli(vinil pirrolidona)poli(etilenoglicol) e S-Nitrosotiois (RSNO) primários com concentração variável de 0,0001 a 99% em massa e, com pelo menos uma camada de um filme que compreende uma blenda de polímeros hidrofílicos; em que a camada inicial é realizada por imersão e a camada superficial é realizada por nebulização, capaz de liberar localmente tanto o óxido nítrico como o próprio S-nitrosotiol, por difusão.
2) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelas** blendas de polímeros hidrofílicos serem constituídas de PVA (poli(álcool vinílico) com PVP (poli(vinil pirrolidona) e com PEG (poli(etileno glicol) ou PEO (poli(óxido de etileno).
3) Dispositivo para implante intracoronário, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelos** S-nitrosotióis serem preferencialmente S-nitrosocisteina, S-nitroso-N-acetilcisteina e S-nitrosoglutationa.
4) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado pelo** fato dos polímeros utilizados serem opcionalmente submetidos a processo de reticulação.
5) Dispositivo, de acordo com as reivindicações de 1 a 4, **caracterizado por** conter, opcionalmente RSNOs primários associados a outras drogas com ações anti-inflamatórias, antiproliferativas, antimigratórias e pró-endoteliais.