

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 964 574**

51 Int. Cl.:

A61K 41/00 (2010.01)

A61K 31/357 (2006.01)

C01B 13/02 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.07.2010** **PCT/EP2010/060594**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.01.2011** **WO11009903**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.07.2010** **E 10737857 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2023** **EP 2456465**

54 Título: **Sistema de materiales que contiene endoperóxido con adaptación de la desintegración y aplicaciones**

30 Prioridad:

21.07.2009 DE 102009034279

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.04.2024

73 Titular/es:

BOGNER, UDO (33.3%)
Otlohstr. 9
93053 Regensburg, DE;
BERNHARDT, GÜNTHER (33.3%) y
KNÖR, GÜNTHER (33.3%)

72 Inventor/es:

BOGNER, UDO;
BERNHARDT, GÜNTHER y
KNÖR, GÜNTHER

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 964 574 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

Sistema de materiales que contiene endoperóxido con adaptación de la desintegración y aplicaciones

La presente invención se refiere a un procedimiento para la producción de oxígeno singlete mediante la desintegración de moléculas de endoperóxido en sistemas materiales y su uso.

5 En el estado actual de la técnica, el oxígeno singlete ya se utiliza en el sector farmacéutico, por ejemplo, en la terapia fotodinámica (TFD). Antes de la terapia, se administra una sustancia fotosensibilizante, un llamado sensibilizador, que se acumula en concentraciones más elevadas en el tejido tumoral que en el tejido normal. El sensibilizador es estimulado por la irradiación de luz y puede generar oxígeno singlete en presencia de oxígeno, lo que provoca un daño oxidativo letal, por el que se dañan, por ejemplo, los lípidos de membrana.

10 En el marco de una tesis de doctorado en ciencias naturales de la Universidad de Ratisbona (Franz-Peter Kalz: "Untersuchungen für die Anwendung von aromatischen Endoperoxiden in Liposomen und Polymeren zur Tumorthherapie", 25 de septiembre de 2006), se generaron diversos sistemas con endoperóxidos en liposomas y polímeros mediante el método de TFD. De este modo, la formación de moléculas de endoperóxidos en polímeros se determinó preferiblemente mediante mediciones detalladas en las investigaciones con polímeros que, de todos modos, solo se llevaron a cabo como complemento, mientras que, para la desintegración de las moléculas de endoperóxidos en polímeros, solo se realizaron mediciones iniciales, que también solo se referían al inicio de la curva de desintegración.

15 Debido a la interacción entre el sensibilizador y la irradiación con luz (láser), la TFD tiene un campo de aplicación restringido debido a la limitada profundidad de penetración de la luz terapéutica. Por lo tanto, la TFD se utiliza preferiblemente para el tratamiento local de carcinomas superficiales en la piel o en órganos huecos accesibles por vía endoscópica.

20 Por lo tanto, la presente invención tiene por objeto matar determinados objetos biológicos, en particular células en terapia tumoral, como células cancerosas, o gérmenes resistentes (por ejemplo, mediante tratamiento antimicrobiano) liberando oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$). Debido a la corta vida útil del oxígeno singlete, el problema técnico más importante es que la distancia entre el lugar de generación y el lugar de acción (es decir, la zona diana dentro o en la superficie de la célula) debe mantenerse muy pequeña. Esta distancia depende del medio particular en donde el oxígeno singlete debe difundirse en la zona diana y generalmente será inferior a 1 μ . De acuerdo con la invención, esto se consigue mediante un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1. Las realizaciones ventajosas y los desarrollos ulteriores son objeto de las subreivindicaciones.

25 La idea básica de la presente invención es que, en la producción de oxígeno singlete por desintegración de moléculas de endoperóxido con ayuda de un sistema de materiales compuesto por al menos dos moléculas, que contiene al menos una molécula que forma un grupo endoperóxido, es posible ajustar el curso temporal de la desintegración de las moléculas de endoperóxido.

30 En el contexto de la invención, el oxígeno singlete se genera preferiblemente mediante la desintegración activada térmicamente de moléculas de endoperóxido aromático que se incorporan a los sistemas de materiales utilizados como portadores farmacéuticos, tales como liposomas, nanopartículas poliméricas o películas poliméricas finas, y que tienen un tiempo de desintegración t_z suficientemente bien adaptado en un número suficientemente grande de capas de incorporación. "Suficientemente adaptado" significa en particular que las moléculas de endoperóxido solo se desintegran en su mayor parte cuando estos sistemas materiales se encuentran a una distancia suficientemente pequeña de la zona diana, por ejemplo, dentro de la célula o en su superficie, o las células están situadas sobre la película polimérica. Es crucial que el curso temporal global de la liberación de oxígeno singlete, en particular la distribución de los tiempos de desintegración t_z que se producen en el sistema endoperóxido/material, se adapte a los detalles de la aplicación respectiva, de modo que el daño causado por las moléculas de oxígeno singlete sea suficiente para matar la célula. Un número suficiente de moléculas de endoperóxido en el sistema de materiales debe tener tiempos de desintegración superiores al tiempo t_a de absorción del polímero en la célula (por ejemplo, por endocitosis) o al tiempo de fijación de una bacteria a un implante (por ejemplo, un implante dental o una articulación artificial) después de una operación en el sistema de materiales aplicado como película protectora.

35 Utilizando un microscopio confocal, se midieron los tiempos correspondientes t_a con un intervalo de valores medios de unas pocas horas para liposomas con un diámetro de 110 nm y nanopartículas poliméricas con un diámetro de 140 nm en determinadas células cancerosas a 37 °C, por ejemplo. Por otro lado, los tiempos de desintegración no deben ser demasiado largos, ya que las células suelen eliminar de nuevo las nanopartículas al cabo de un tiempo. Además, el daño causado por las moléculas de oxígeno singlete en la zona diana de la célula debe producirse en un intervalo de tiempo inferior al que pueden eliminar los mecanismos de reparación.

40 El primer paso para ajustar la vida media de la desintegración o la distribución correspondiente cuando se producen varias vidas medias es determinar una combinación adecuada de los componentes del sistema de materiales.

45 De acuerdo con la invención, el curso temporal de la desintegración de las moléculas de endoperóxido se adapta cambiando físicamente las estructuras funcionales presentes en el sistema de materiales. Todos los ejemplos de

aplicación que ya se han realizado muestran que es posible efectuar cambios en la(s) altura(s) de la barrera para la desintegración y, por lo tanto, cambios en el(los) tiempo(s) de desintegración que, en algunos casos, ascienden a más de un orden de magnitud, cambiando físicamente estas estructuras funcionales que, según la invención, consisten cada una en la molécula formadora de endoperóxido y su entorno inmediato en el material portador, de modo que

5 puedan utilizarse para efectuar preferiblemente una adaptación del curso completo de la desintegración para el fin deseado, por ejemplo, en la terapia de tumores.

Puede lograrse un cambio químico, por ejemplo, añadiendo grupos funcionales, como grupos metilo o grupos hidroxilo, en la periferia de la molécula que forma el endoperóxido o en el material portador circundante. Por ejemplo, un grupo hidroxilo polar permite la formación de enlaces químicos, como los enlaces de hidrógeno.

10 De acuerdo con la invención, los cambios físicos en las estructuras funcionales implican un cambio en la posición de instalación de la molécula formadora de endoperóxido en la jaula del material portador circundante y/o un cambio en la jaula o en la pared de la jaula.

El principio según la invención de cambiar físicamente una estructura funcional especial consistente en una molécula que forma un endoperóxido y la jaula de la matriz polimérica circundante implica el siguiente procedimiento durante la preparación. Después de un procedimiento de formación de endoperóxido, se lleva a cabo un proceso de desintegración (de preferencia, activado térmicamente), en donde se cambia la estructura funcional mediante procesos de reordenación. Si la formación de endoperóxido se lleva a cabo de nuevo después de estos pasos de preparación, se produce un cambio en el tiempo de desintegración que puede atribuirse al cambio en la altura de la barrera para la desintegración asociada con el cambio geométrico en la estructura funcional. Los detalles pueden verse en la explicación de las Figuras 2 y 4.

20

De acuerdo con la invención, una primera molécula o al menos una molécula adicional del sistema de materiales constituye un material portador, en donde el material portador es orgánico y/o inorgánico. El material portador tiene numerosas moléculas en su volumen y posee una estructura microscópica y macroscópica adecuada, en donde las moléculas de endoperóxido se depositan en la superficie del material portador o se incorporan en su interior. El material portador también permite el transporte de las moléculas formadoras de endoperóxido a la zona diana o puede considerarse él mismo una zona diana si, por ejemplo, se aplica como película protectora a un implante en donde, por ejemplo, se colonizan bacterias. Como materiales portadores orgánicos se pueden utilizar liposomas, lipoproteínas (en las que los dobles enlaces se han convertido en enlaces simples antes de su uso en el sistema de materiales) o polímeros.

25

Los liposomas se producen, por ejemplo, mediante tratamiento ultrasónico o tecnología de extrusión. Los polímeros pueden estar presentes, por ejemplo, como una película polimérica, que forma la matriz portadora, o como nanopartículas. Los compuestos de sílice, por ejemplo, o el óxido de γ -aluminio y materiales similares utilizados para la adsorción son concebibles como materiales portadores inorgánicos.

30

En otra realización ventajosa, la molécula formadora de endoperóxido del sistema de materiales es un compuesto aromático. Preferiblemente, se utiliza un derivado naftalénico, como el 1,4-dimetilnaftaleno (DMN) o sus derivados, como molécula formadora de endoperóxido. La reacción de estos derivados del naftaleno con el ácido singlete produce endoperóxidos. Esta reacción es reversible debido a un procedimiento preferiblemente activado de modo térmico. Esto significa que una gran proporción de los endoperóxidos se descomponen de nuevo en la molécula aromática subyacente y el oxígeno singlete cuando se calientan, por lo que los tiempos de desintegración de los endoperóxidos a una temperatura determinada son generalmente diferentes. Durante la formación del endoperóxido, el puente de endoperóxido se forma en los átomos de carbono de los sitios opuestos del anillo bencénico, en los que se disponen sustituyentes adicionales, como un grupo metilo. Durante este proceso, el oxígeno singlete es capturado y "almacenado" hasta cierto punto. El 1,4-dimetilnaftaleno puede clasificarse como inofensivo en términos de toxicidad, puesto que ya está presente en alimentos como las patatas para evitar su germinación y se ha utilizado para conservar las patatas durante su almacenamiento.

35

También sería concebible utilizar determinados compuestos aromáticos, como los colorantes alimentarios, como moléculas formadoras de endoperóxidos. Dichos compuestos aromáticos deberían clasificarse preferiblemente como inocuos desde el punto de vista de su toxicidad.

En otra realización ventajosa, el compuesto aromático forma endoperóxidos por autoperoxidación, es decir, el propio compuesto actúa como sensibilizador (peroxidación autosensibilizada). La autoperoxidación se refiere a la generación y captura de oxígeno singlete con una misma molécula aromática. En este procedimiento, la molécula aromática pasa del estado electrónico de reposo al estado de excitación electrónica singlete utilizando luz de una longitud de onda adecuada. La transición al estado triplete de la molécula aromática tiene lugar mediante el cruce intersistémico. La energía de excitación del estado triplete se transfiere al oxígeno molecular por transferencia de energía. Esto produce oxígeno singlete electrónicamente excitado, mientras que la molécula aromática vuelve a su estado básico. Esto es interesante si se tiene la ventaja de que no es necesario añadir ninguna sustancia fotosensibilizante adicional al sistema de materiales. Los compuestos aromáticos como los meso-difenileno-heliantrenos son concebibles para este tipo de autoperoxidación.

50

55

En otra realización preferida, se utiliza alternativa o adicionalmente un material magnético en el sistema de materiales. Se trata preferiblemente de un material antiferromagnético.

El aumento de la barrera en el ejemplo de las películas de polímero PVB es preferiblemente de interés para una aplicación específica. Dado que estas películas pueden producirse preferiblemente a partir de material polimérico completamente amorfo con un espesor inferior a 100 nm, podrían utilizarse para recubrir nanopartículas magnéticas, que están presentes preferiblemente en forma de soluciones coloidales como los denominados ferrofluidos.

En los procedimientos terapéuticos que se están desarrollando actualmente con estas nanopartículas magnéticas, estas se guían hasta el lugar deseado del cuerpo, por ejemplo, hasta una zona tumoral, utilizando un campo magnético. Estas nanopartículas magnéticas también pueden utilizarse en un recubrimiento para transportar una sustancia activa específicamente al tumor ("magnetic drug targeting"), y también puede llevarse a cabo una hipertermia local de hasta un máximo de 46 °C utilizando campos magnéticos alternos. Si las nanopartículas magnéticas se recubren, por ejemplo, con películas poliméricas amorfas dopadas con endoperóxido, podría liberarse oxígeno singlete en la zona tumoral. La altura de la barrera debe ajustarse de modo que el oxígeno singlete solo se libere a 46 °C y no a 37 °C, es decir, cuando se transportan las nanopartículas.

Esta liberación localizada del recubrimiento de una nanopartícula magnética, que puede considerarse un implante, también puede trasladarse a otros implantes, por ejemplo, articulaciones artificiales, o a implantes médicos en general. La aplicación de recubrimientos a implantes médicos reviste especial interés (véase B.: Hans Gollwitzer, Eine resorbierbare Poly-D,L-Laktid-Beschichtung zur Ausrüstung medizinischer Implantate, tesis doctoral, Universidad Técnica de Múnich, 2002).

En este caso, la atención se centra generalmente en la liberación (elución) de antibióticos del revestimiento para conseguir protección contra las bacterias, ya que la colonización bacteriana puede provocar el rechazo de los implantes por infección. El uso de materiales que contienen endoperóxido podría eliminar bacterias, virus y hongos no solo en los implantes, sino en general debido al efecto antiinfeccioso del oxígeno singlete liberado durante la desintegración.

Por lo que respecta al efecto letal sobre las bacterias, es concebible incluir bacterias con resistencia (por ejemplo, bacterias *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina, SARM) o, en general, bacterias multirresistentes, ya que el efecto letal del oxígeno singlete ya se ha demostrado con ayuda de la terapia fotodinámica (para una visión general, véase, por ejemplo, el artículo de Mariusz Grinholc et al., por ejemplo, el artículo de Mariusz Grinholc et al, Bactericidal effect of photodynamic therapy against methicillin-resistant staphylococcus aureus strain with the use of various porphyrin photo sensitizers, Acta Biochemica Polonica 54 (2007) 665-670, en línea en: www.actabp.pl, y las referencias citadas en este artículo).

La mejor forma de utilizar la invención para el tratamiento de determinados tumores parece ser en combinación con el método descrito con anterioridad, incluida la hipertermia local asociada. Los detalles más importantes de este procedimiento pueden encontrarse en el artículo de revisión de Andreas S. Ziegler, "Nanopartikel - pharmazeutische Zwerge mit Know-how", Medizinische Monatsschrift für Pharmazeuten 31 (2008), 455-468. La combinación con este procedimiento podría conseguir un efecto selectivo de la desintegración del endoperóxido en el tumor, en donde se puede lograr una mayor liberación de oxígeno singlete en el tumor por el aumento de la temperatura local, ya que las nanopartículas magnéticas están enriquecidas en él. Sobre la superficie de las nanopartículas magnéticas (que, a su vez, deben tener el menor diámetro posible), debe aplicarse una capa de polímero con un espesor inferior a la longitud de difusión en este material polimérico; en cualquier caso, el diámetro total debe ser inferior a 200 nm para que las partículas sean fácilmente absorbidas en la célula cancerosa. El polímero debe ser biodegradable, reabsorbible y biocompatible. Aquí tiene sentido utilizar, por ejemplo, un polímero que se emplee normalmente para implantes médicos, como el poli-D,L-láctido (PDLLA), que se favorece como material amorfo en contraste con el poli-L-láctido semicristalino (véase: Hans Gollwitzer, "Eine resorbierbare Poly-D,L-Laktid-Beschichtung zur Ausrüstung medizinischer Implantate", tesis, Universidad Técnica de Múnich, 2002; página 19).

El di-metilnftaleno (o un derivado) podría utilizarse como molécula dopante que forme el endoperóxido. Se espera que el polímero dopado alcance todas las propiedades obtenidas con el butiral de polivinilo amorfo (PVB) descrito con anterioridad, es decir, en particular una adaptación del tiempo de desintegración (a 37 °C y después a la temperatura de aproximadamente 42 °C a 46 °C fijada durante la fase de hipertermia), pudiendo tener lugar esta adaptación con cambios químicos y/o físicos (véase la Figura 4) en las estructuras funcionales del polímero. Al ajustar el curso temporal global de la desintegración de las moléculas de endoperóxido, es importante en esta aplicación que se desintegre el menor número posible de moléculas de endoperóxido, en particular durante el transporte a la célula cancerosa, que tiene lugar a 37 °C, y durante el procedimiento de penetración en la célula cancerosa, mientras que debe liberarse la mayor cantidad posible de oxígeno singlete en la célula cancerosa durante la fase de hipertermia en el aplicador de campo magnético (debido al calentamiento por el campo magnético alterno) durante un tiempo de tratamiento de aproximadamente más de una hora. Debe tenerse en cuenta que determinados mecanismos de reparación de las células cancerosas se desactivan a temperaturas más elevadas, lo que aumenta el efecto dañino del oxígeno singlete en las células.

En otra realización ventajosa, un sensibilizador se incorpora en forma removible al sistema de materiales. Cuando se

incorporan los sensibilizadores al material portador (por ejemplo, liposomas o películas poliméricas), se utilizan generalmente derivados de protoporfirina, como el éster dimetilico de protoporfirina IX, que se excitan con un LED de alta potencia o un láser. Para todas las nanopartículas poliméricas, se utiliza preferiblemente azul de metileno como sensibilizador, que se añade a la suspensión acuosa; en estos casos, la excitación se realiza preferiblemente con un láser de diodo (660 nm) o un LED correspondiente. Esto es ventajoso porque el oxígeno singlete para la formación de endoperóxido se suministra preferiblemente fuera del cuerpo, de modo que solo las moléculas de endoperóxido se suministran al organismo. Esto significa que la formación de endoperóxido está preferiblemente separada en el espacio y/o en el tiempo. Por lo tanto, los sistemas materiales pueden producirse, por ejemplo, el día anterior al tratamiento del paciente, o “activarse” inmediatamente antes del tratamiento mediante la exposición a la luz, preferiblemente con la ayuda del sensibilizador, y suministrarse como aditivo para pomadas o emulsión. Por lo tanto, es preferible que el paciente no esté expuesto a la radiación durante el tratamiento.

En otra realización ventajosa, el compuesto formador de endoperóxido forma un enlace químico, por ejemplo, con el material polimérico del soporte, con al menos una molécula que está dispuesta adyacente y no forma parte del compuesto formador de endoperóxido. Por enlace químico se entienden, en particular, los enlaces por puente de hidrógeno y los enlaces covalentes, aunque también se incluye cualquier tipo de interacción inter- e intramolecular.

En otra realización ventajosa, el procedimiento según la invención se utiliza en el campo farmacéutico y/o médico, como ya se ha mencionado varias veces. En general, una liberación dirigida de productos farmacéuticos es el objetivo principal de una terapia en la industria farmacéutica. En particular, se espera que las formas de dosificación administren una sustancia farmacológicamente activa en condiciones controladas a su lugar diana en el cuerpo (“drug targeting”) y la liberen allí en condiciones definidas (“drug release”). Las nanopartículas, en particular, representan una forma farmacológica innovadora con la que se puede alcanzar este objetivo. El uso de liposomas es tan concebible como el de dispersiones acuosas de polímeros para controlar la liberación del fármaco. También son concebibles las nanopartículas recubiertas de polímeros rápidamente degradables. Todas las nanopartículas pueden recubrirse especialmente, por ejemplo, con tensioactivos, para que superen la barrera hematoencefálica. Además, las nanopartículas de etilcelulosa y PVB (butiral de polivinilo) también son concebibles, especialmente en el tracto digestivo, ya que la etilcelulosa se utiliza de todos modos como excipiente en la fabricación de comprimidos y el PVB está autorizado para el envasado de productos alimenticios y, por lo tanto, puede entrar en el tracto digestivo.

El uso de sistemas de materiales con endoperóxido que contengan liposomas o nanopartículas en una pomada o emulsión es concebible como otra aplicación farmacéutica/médica para el tratamiento de la piel (por ejemplo, para determinados tumores o la psoriasis). También en este caso es importante adaptar el curso temporal de la desintegración inducida térmicamente a los detalles de la aplicación. A diferencia de la utilización de (nano)partículas poliméricas y (nano)partículas inorgánicas -en las que la modificación física de las estructuras funcionales realizada según la Fig. 4 también puede utilizarse para adaptar el tiempo de desintegración en un amplio intervalo-, la adaptación de los liposomas debe hacerse posible mediante la selección de las modificaciones químicas. Para el material liposómico DMPC (1,2-dimiristol-L- α -fosfatidilcolina), que se seleccionó porque no contiene dobles enlaces, se obtiene, por ejemplo, con los endoperóxidos de DMN o DMNOH como dopantes, una vida media (con una desintegración monoexponencial típica de los liposomas dopados con endoperóxidos) de aproximadamente una hora u once horas a 37 °C.

Además, es concebible que el procedimiento según la invención pueda utilizarse también en la tecnología de producción, especialmente cuando se utilizan materiales orgánicos, ya que el oxígeno singlete es muy reactivo y reacciona con muchos compuestos orgánicos (por ejemplo, en procedimientos de oxidación, pasos de síntesis, cambios en dobles enlaces, etc.). También en este caso es de esperar que la adaptación del transcurso temporal de la desintegración del endoperóxido (en el intervalo de tiempo de segundos a minutos a temperaturas localizadas de hasta más de 100 °C) y, por lo tanto, la correspondiente generación de oxígeno singlete a los requisitos de la aplicación en determinados pasos de producción tenga una importancia decisiva. Esto se aplica, por ejemplo, a los componentes de la electrónica orgánica, la electrónica molecular y la optoelectrónica orgánica (incluida la producción de diodos orgánicos emisores de luz, los llamados OLED).

Además, la presente invención incluye el uso de un sistema de materiales para generar oxígeno singlete a partir de al menos dos moléculas, en donde al menos una molécula es un compuesto formador de endoperóxido.

También sería concebible unir las nanopartículas del sistema de materiales mencionadas con anterioridad, incluidos los liposomas dopados con endoperóxido, a anticuerpos mediante procedimientos conocidos y utilizarlos con fines terapéuticos.

Además de la desintegración de endoperóxidos activada térmicamente, también es concebible inducir el proceso en todas las aplicaciones (por ejemplo, técnicas o médicas) utilizando, por ejemplo, luz infrarroja.

En general, el sistema de materiales puede consistir, por ejemplo, en materiales de soporte farmacéuticos que contengan moléculas sensibilizadoras y moléculas formadoras de endoperóxido separadas entre sí o, por ejemplo, consistir en materiales de soporte en los que solo estén incorporadas las moléculas formadoras de endoperóxido, mientras que el sensibilizador esté, por ejemplo, separado, es decir, fuera del material de soporte, en solución. Además, el sistema de materiales puede consistir en un material de soporte que contenga moléculas multicromóforas

compuestas por una molécula sensibilizadora y al menos 1 molécula formadora de endoperóxido, que preferiblemente presenten un tipo particular de autoperoxidación.

En los dibujos adjuntos, se muestran otras realizaciones ventajosas.

En ellos:

- 5 Fig. 1 muestra una representación esquemática de la termólisis de una molécula formadora de endoperóxido (1,4-dimetilnaftaleno (DMN));
- Fig. 2 muestra un modelo esquemático de calota de la molécula de endoperóxido de DMN;
- Fig. 3 muestra otras moléculas formadoras de endoperóxidos funcionalizadas;
- Fig. 4a muestra, en un diagrama, una curva de desintegración representada esquemáticamente; y
- 10 Fig. 4b muestra, en un diagrama, una curva de desintegración modificada representada esquemáticamente.

La Fig. 1 muestra una representación esquemática de la termólisis de una molécula formadora de endoperóxido. La molécula 2 de endoperóxido, en este caso 1,4-dimetilnaftalenendoperóxido, presenta un puente endoperóxido ascendente en las posiciones 1 y 4 del compuesto aromático. Además de la pequeña toxicidad insignificante del DMN, otra razón importante para utilizar el endoperóxido 2 de DMN es que la estructura espacial es muy bien conocida, además del conocimiento preciso de la generación de oxígeno singlete durante la desintegración (véase Wasserman et al. J. Parr. J. Org. Chem. 70 (2005) 105-109). Durante el proceso de liberación de oxígeno singlete, la molécula de endoperóxido de DMN no plana 2, en donde un anillo está doblado alrededor del ángulo Φ , se descompone de nuevo en la molécula aromática original y, por lo tanto, DMN 4 plana mediante la escisión del oxígeno singlete 6, por lo que el ángulo de curvatura Φ debe volver a doblarse.

La barrera energética para este proceso de desintegración está influenciada por la interacción de la molécula 2 de endoperóxido con la matriz 8 del material portador (Fig. 2a). Esto significa que la molécula 2 de endoperóxido de DMN y la vecindad inmediata de la matriz 8 portadora que la rodea forman una estructura funcional (supramolecular), por así decirlo, como una posición de instalación especial. Si se utilizan liposomas (que pueden considerarse sólidos líquido-cristalinos) como material portador, la desintegración de las moléculas 2 de endoperóxido incorporadas en la membrana del liposoma puede cambiarse modificando químicamente la estructura funcional. Por ejemplo, mediante la introducción de grupos funcionales (como en la Figura 3), se puede dificultar (o retrasar) el plegamiento hacia atrás por el ángulo de curvatura Φ .

En los polímeros, por otra parte, los cambios físicos en las estructuras funcionales también desempeñan un papel importante, como se ha descrito con anterioridad.

La Fig. 2a muestra la molécula 2 de endoperóxido en una matriz 8 de material polimérico. El polímero de butiral de polivinilo (PVB) se utilizó en algunas de las mediciones para demostrar el aumento de la estabilización, es decir, el aumento de los tiempos de desintegración de los endoperóxidos mediante cambios físicos en las estructuras funcionales. El PVB es un copolímero con diferentes proporciones de grupos acetal, éster e hidroxilo. Estos se distribuyen estadísticamente en la cadena polimérica y se obstaculizan entre sí debido a su diferente estructura espacial, de modo que las capas de PVB son preferiblemente siempre amorfas. La mayoría de los grupos laterales son polares y tienen momentos dipolares permanentes.

El polímero PVB se utiliza aquí preferiblemente en forma de películas y nanopartículas, mientras que la etilcelulosa se utiliza preferiblemente en forma de nanopartículas. Puede encontrarse una descripción de la producción de nanopartículas poliméricas, por ejemplo, en Sergey M. Borisov, et al, "Precipitation as a sample and versatile method for preparation of optical nanochemosensors", Talanta (2009)1322-1330.

Las áreas espaciales con volumen 12 libre en la matriz 8 portadora se crean durante la producción de las películas poliméricas o las nanopartículas poliméricas (por ejemplo, por precipitación) debido a la difusión del disolvente. Dependiendo de las condiciones geométricas locales, se crean diferentes volúmenes libres en cada estructura funcional. Si la molécula de peróxido final 2 no tiene libertad de movimiento en la jaula de la matriz circundante 8 del material portador en el extremo derecho del anillo 10, el anillo 11 izquierdo también puede plegarse hacia arriba, por ejemplo, como se muestra en la Fig. 2b, con el fin de restaurar la estructura 4 plana de DMN original plegándola hacia atrás.

A través de cambios químicos, por ejemplo, mediante la introducción de grupos funcionales, se pueden formar enlaces químicos entre las moléculas del material 8 portador y la molécula 2 de endoperóxido, que retrasan el repliegue por el ángulo de curvatura Φ . Como ya se ha mencionado, las modificaciones físicas también son importantes además de las modificaciones químicas. El principio básico de la modificación física de una estructura funcional especial formada por una molécula formadora de endoperóxido y la jaula de la matriz polimérica circundante implica el siguiente procedimiento durante la preparación. Tras un procedimiento de formación de endoperóxido, se lleva a cabo un

proceso de desintegración (de preferencia, activado térmicamente), en donde la estructura funcional se modifica mediante procesos de reordenación. Si la formación de endoperóxido se lleva a cabo de nuevo después de estos pasos de preparación, se produce un cambio en el tiempo de desintegración, que puede atribuirse al cambio en la altura de la barrera para la desintegración asociada al cambio geométrico en la estructura funcional.

- 5 En un procedimiento de preparación especial, con ayuda de un primer ciclo térmico, es decir, llevando a cabo el proceso de desintegración de una gran parte de las moléculas de endoperóxido de DMN 2, que están presentes en este material 8 en dos capas de instalación con diferentes alturas de barrera, se genera en cada caso un aumento de barrera antes del posterior procedimiento renovado de formación de endoperóxido. En este primer proceso de desintegración activado térmicamente que se lleva a cabo para la preparación, el proceso de desintegración genera fuertes excitaciones vibracionales de las moléculas (o grupos de moléculas) en la pared 8 de la jaula y, por lo tanto, pueden tener lugar procesos de reordenación que provocan cambios en la estructura funcional. En las películas de polímero PVB, estos procesos de reordenación en la pared de la jaula conducen a una reducción del volumen 12 libre en las inmediaciones de las moléculas formadoras de endoperóxido y, por lo tanto, a un aumento de las barreras para una nueva desintegración (debido a la obstrucción cuando el ángulo Φ se pliega hacia atrás).
- 10
- 15 Debe mencionarse que aquí solo se ha mostrado el caso más sencillo de una molécula 2 de endoperóxido situada en un volumen 12 libre de la matriz 8. En lugar de esta molécula de endoperóxido, también es concebible que, por ejemplo, estén presentes cadenas moleculares funcionalizadas, que estén conectadas entre sí mediante enlaces éster o éter e interactúen con las moléculas de la matriz 8 del material portador.

- La Fig. 3 muestra otras moléculas 20 y 22 formadoras de endoperóxido, donde 20 muestra el 1,4,5-trimetilnaftaleno (TMN), en donde, en contraste con el 1,4-dimetilnaftaleno, hay otro grupo 21a metilo funcional unido al segundo anillo. Este grupo metilo adicional representa un obstáculo adicional para el mencionado repliegue si los grupos metilo pueden girar libremente, como ocurre en la fase cristalina líquida, en donde la molécula de endoperóxido de TMN queda atrapada entre las cadenas parafínicas de las moléculas de membrana. Este impedimento estérico adicional crea un aumento de la barrera para la desintegración del endoperóxido 20 de TMN (en comparación con el endoperóxido de DMN en liposomas) y, por lo tanto, un aumento de la vida media (a aproximadamente 17 h a 37 °C). La vida media de la TMN se adapta así a la terapia del cáncer, ya que t_z es significativamente mayor que t_a , y se observó una destrucción de las células cancerosas con el endoperóxido de TMN, pero no con el endoperóxido de DMN en liposomas. Este efecto citostático se confirmó mediante el ensayo con cristal violeta.
- 20
- 25

- Otra molécula 22 formadora de endoperóxido tiene un grupo hidroxilo adicional, que puede formar enlaces de hidrógeno con la pared de la jaula (preferiblemente en nanopartículas de PVB, películas de PVB o nanopartículas de etilcelulosa), lo que también provoca un aumento de los tiempos de desintegración. También se obtuvo la eliminación de células cancerosas con endoperóxido de DMNOH en nanopartículas de etilcelulosa.
- 30

- Con DMNOH en nanopartículas de etilcelulosa, también se demostró que el cambio físico de la estructura funcional también puede llevarse a cabo en forma que la desintegración no se realice aumentando la temperatura, sino que basta con dejar que el procedimiento de formación del endoperóxido tenga lugar en forma extra lenta (15 horas), de forma que, durante este largo tiempo, tengan lugar suficientes procesos de desintegración a una temperatura más baja para cambiar las estructuras funcionales en consecuencia.
- 35

En la Fig. 4a, se muestra la primera desintegración temporal de una molécula formadora de endoperóxido dispuesta en una matriz polimérica.

- 40 La abscisa muestra el tiempo, mientras que el número de moléculas de endoperóxido se representa logarítmicamente en la ordenada.

- Al observar las curvas de desintegración de los endoperóxidos de DMN en matriz de PVB, se nota que -en contraste con la desintegración monoexponencial en todos los sistemas materiales en los que se incorpora un endoperóxido en liposomas- se encuentra una desintegración biexponencial en buena aproximación. Aunque existe una distribución estadística de las estructuras funcionales, se puede suponer aproximadamente que existen 2 estructuras funcionales en todos los sistemas poliméricos. La curva de desintegración completa suele determinarse midiendo la fluorescencia de las moléculas de DMN que reaparecen cuando decaen los endoperóxidos.
- 45

- Cuando se trazan semilogarítmicamente, las dos líneas 24 y 25 rectas (a 37 °C) se obtienen como curvas de desintegración. La evaluación muestra que el tiempo de desintegración, o más exactamente la vida media de la desintegración de la curva 24, de aprox. 2 horas, es solo aprox. un 30 % mayor que el de DMN en disolventes orgánicos (a 37 °C), mientras que el tiempo de desintegración de la curva 25 es ya aprox. 6 veces mayor. Es obvio asignar a la curva 24 una estructura funcional con un volumen libre muy grande, es decir, gran libertad de movimiento para el plegamiento hacia atrás por el ángulo Φ , mientras que a las estructuras funcionales asignadas a la curva 25 se les puede asignar un volumen libre más pequeño, por lo que la desintegración ya es más lenta. Cuando la desintegración de los endoperóxidos se ha completado en gran medida, ya se ha llevado a cabo el procedimiento descrito con anterioridad para modificar físicamente las estructuras funcionales. Tras una nueva formación de endoperóxidos, se obtienen las curvas de desintegración 26 y 27 a 37 °C, cada una de las cuales es significativamente más plana que las curvas 24 y 25; el tiempo de desintegración de la curva 27 es más de un factor 30 más largo que el del DMN en
- 50
- 55

líquidos, y el porcentaje de endoperóxidos de desintegración lenta se ha hecho ligeramente mayor que en las curvas 24 y 25.

5 El cambio físico en las estructuras funcionales significa que las áreas con (gran) volumen libre, que están presentes directamente junto a la molécula de DMN como estado de no equilibrio tras la preparación original de la muestra, se reducen de tamaño con la ayuda de la desintegración del endoperóxido. Durante la desintegración, se producen excitaciones vibracionales que conducen a procesos de reordenación en los que las moléculas de la pared de la jaula pueden moverse principalmente en la dirección del volumen libre. Esto conduce a un aumento de la barrera y, por lo tanto, a una prolongación del tiempo de desintegración de las estructuras funcionales modificadas.

10 Con DMN en nanopartículas poliméricas de PVB y etilcelulosa, se obtienen resultados comparables a los obtenidos con películas poliméricas. El uso de DMNOH (véase la Fig. 3), que se basa en el procedimiento descrito por I. Saito et al (J. Am. Chem. Soc. 107 (1985) 6329-6334), se obtuvo una velocidad de desintegración 3 veces más lenta que la mostrada en la curva 24 debido al cambio en la estructura funcional química causado por los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de DMNOH y los grupos OH de la etilcelulosa. Tras realizar los mismos cambios físicos en la estructura funcional (es decir, la desintegración del endoperóxido), se obtuvo casi el mismo valor que para el DMN. Al
15 final de la nueva curva de desintegración, esta puede medirse de nuevo tras un tercer paso de formación de endoperóxido y se obtiene un nuevo aumento del tiempo de desintegración de aproximadamente el 50 %.

Los solicitantes se reservan el derecho de reivindicar todas las características divulgadas en los documentos de solicitud como esenciales para la invención, siempre que sean nuevas, individualmente o en combinación, en comparación con el estado de la técnica.

20 Lista de signos de referencia

- | | | |
|----|-----|---|
| | 2 | Molécula de endoperóxido |
| | 4 | Molécula formadora de endoperóxido |
| | 6 | Oxígeno singlete |
| | 8 | Matriz |
| 25 | 10 | Anillo derecho de la molécula de endoperóxido |
| | 11 | Anillo izquierdo de la molécula de endoperóxido |
| | 12 | Volumen libre |
| | 20 | TMN |
| | 21 | Grupo metilo |
| 30 | 21a | Otro grupo metilo |
| | 22 | DMNOH |
| | 23 | Grupo hidroxilo |
| | 24 | Desintegración rápida del endoperóxido |
| | 25 | Desintegración lenta del endoperóxido |
| 35 | 26 | Desintegración rápida modificada del endoperóxido |
| | 27 | Desintegración lenta modificada del endoperóxido |

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la producción de oxígeno singlete por desintegración de moléculas de endoperóxido,

en donde, con ayuda de un sistema de materiales compuesto por al menos dos moléculas, que contiene al menos una molécula que forma un grupo endoperóxido, es posible adaptar un curso temporal de una desintegración de las moléculas de endoperóxido,

en donde una molécula del sistema de materiales es un material portador, en donde el material portador es orgánico y presenta numerosas moléculas en su volumen y dispone de una estructura microscópica y macroscópica adecuada,

en donde las moléculas de endoperóxido se depositan en la superficie del material portador o se incorporan en su interior,

caracterizado porque

la adaptación del curso temporal de la desintegración de las moléculas de endoperóxido tiene lugar mediante una modificación física de las estructuras funcionales presentes en el sistema de materiales, en donde estas estructuras funcionales consisten en cada caso en la molécula formadora de endoperóxido y su entorno inmediato en el material portador, a saber, una jaula de la matriz polimérica circundante,

en donde la modificación física de una estructura funcional durante la preparación comprende permitir que tenga lugar un proceso de desintegración tras un procedimiento de formación de endoperóxido, en donde se produce una modificación de la estructura funcional como resultado de procesos de reordenación, en donde la modificación física de la estructura funcional comprende una modificación de la posición de instalación de la molécula formadora de endoperóxido en la jaula del material portador circundante y/o una modificación de la jaula o de la pared de la jaula; y

después de este paso de preparación, se lleva a cabo de nuevo la formación de endoperóxido, en donde resulta un tiempo de desintegración modificado, que debe atribuirse al cambio de la altura de barrera para la desintegración asociado al cambio geométrico de la estructura funcional.

2. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,

caracterizado porque

se utiliza un derivado naftalénico, preferiblemente 1,4-dimetilnaftaleno (DMN) o uno de sus derivados, como molécula formadora de endoperóxido.

3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2,

caracterizado porque,

durante la modificación física de las estructuras funcionales, las zonas con volúmenes libres, que están presentes directamente junto a la molécula de DMN como estado de no equilibrio después de la preparación original de la muestra, se reducen con ayuda de la desintegración del endoperóxido, ya que durante la desintegración se producen excitaciones vibracionales que conducen a procesos de reordenación en los que las moléculas de la pared de la jaula se mueven en la dirección del volumen libre y provocan un aumento de la barrera y una prolongación del tiempo de desintegración de las estructuras funcionales modificadas.

4. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,

caracterizado porque,

durante la producción de las películas poliméricas o de las nanopartículas poliméricas, se producen zonas espaciales con volumen libre en la matriz portadora por difusión del disolvente.

5. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,

caracterizado porque

como polímero se usa butiral de polivinilo (PVB) preferiblemente en forma de películas y nanopartículas y/o se utiliza etilcelulosa en forma de nanopartículas.

6. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,

caracterizado porque

el compuesto aromático forma endoperóxidos por autoperoxidación.

7. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado porque,
en el sistema de materiales, se utiliza un material magnético.
8. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado porque,
en el sistema de materiales, se utiliza un sensibilizador en forma removible.
9. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8,
caracterizado porque
el sensibilizador está en contacto con al menos una molécula formadora de endoperóxido a través de un enlace químico.
10. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 2 - 9,
caracterizado porque,
durante la liberación de oxígeno singlete, la molécula de endoperóxido de DMN no plana, en donde un anillo está doblado por el ángulo Φ , se pliega de nuevo por el ángulo de curvatura Φ en la molécula de DMN aromática y plana con eliminación de oxígeno singlete.
11. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado porque
se utiliza en el ámbito farmacéutico y/o médico.
12. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 2-11,
caracterizado porque,
en un procedimiento de preparación con ayuda de un primer ciclo térmico, es decir, con la realización del proceso de desintegración de una gran parte de las moléculas de endoperóxido de DMN, que están presentes en este material en dos capas de instalación con diferentes alturas de barrera, se genera en cada caso un aumento de barrera antes del posterior proceso renovado de formación de endoperóxido.
13. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado porque
el compuesto formador de endoperóxido forma un enlace químico, preferiblemente con el material polimérico del soporte, con al menos una molécula que está dispuesta adyacente y no forma parte del compuesto formador de endoperóxido.

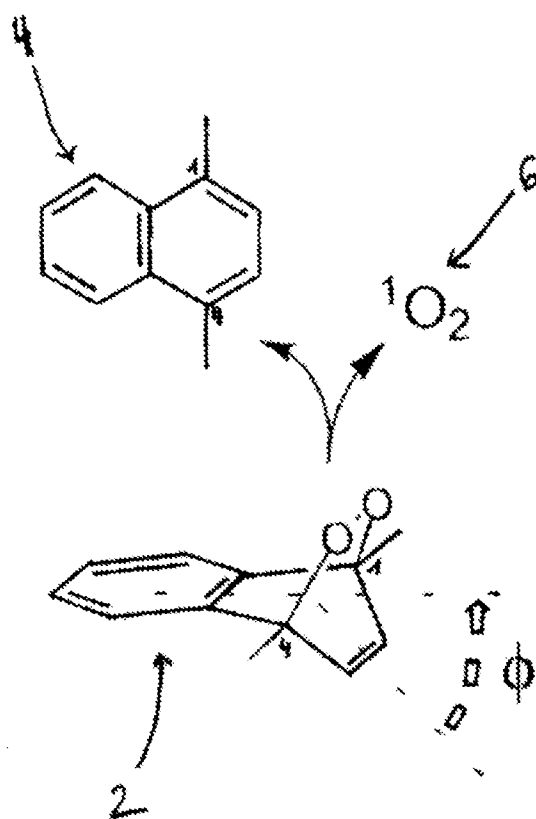
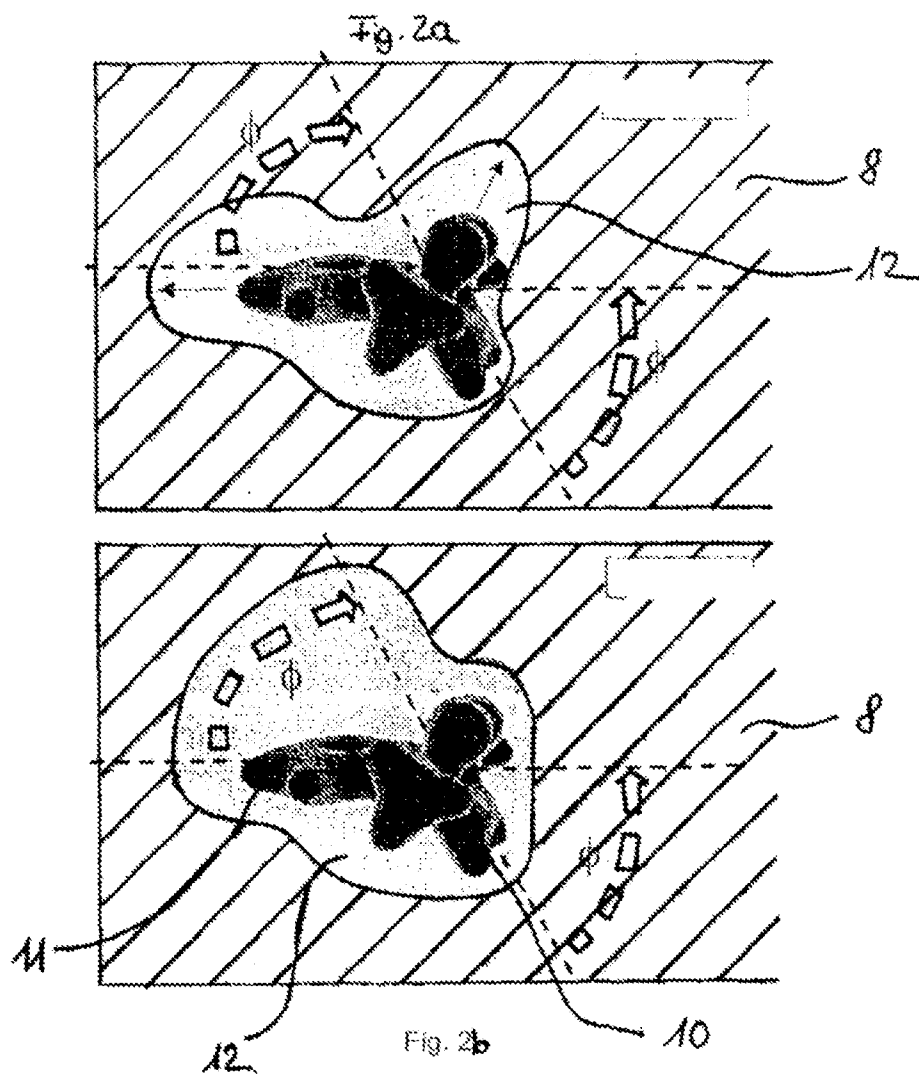


Fig. 1



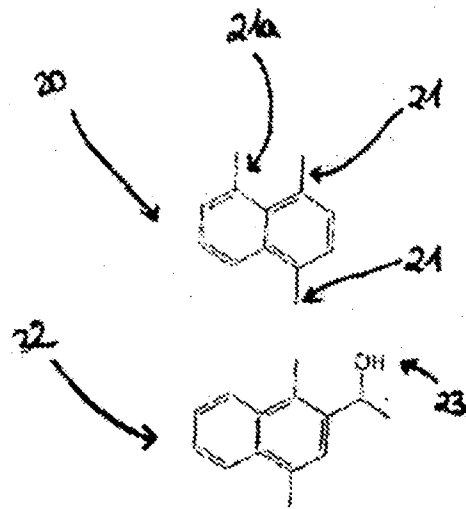


Fig. 3

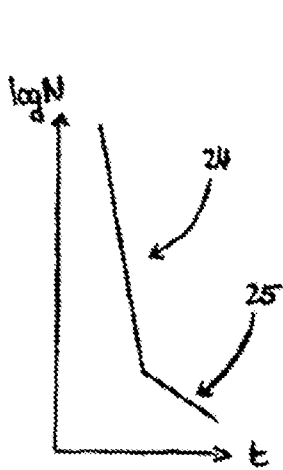


Fig. 4a

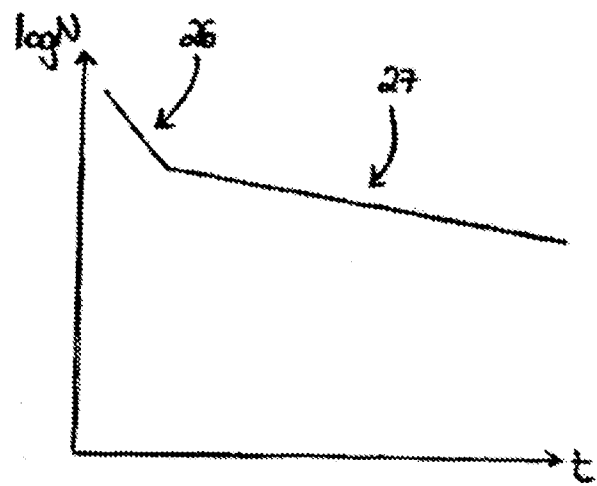


Fig. 4b