

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 762 989**

51 Int. Cl.:

C07F 7/18 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 47/69 (2007.01)

A61K 31/695 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.04.2016 PCT/IT2016/000111**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.11.2016 WO16174693**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.04.2016 E 16733715 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2019 EP 3288955**

54 Título: **Sistema de administración basado en bortezomib**

30 Prioridad:

29.04.2015 IT RM20150184

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

26.05.2020

73 Titular/es:

NANOSILICAL DEVICES SRL (100.0%)

Via P. Bucci 44A

87036 Rende, IT

72 Inventor/es:

PASQUA, LUIGI;

LEGGIO, ANTONELLA;

LIGUORI, ANGELO;

MORELLI, CATIA y

ANDÒ, SEBASTINO

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 762 989 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 administración basado en bortezomib

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a un sistema de liberación basado en Bortezomib en forma de micropartículas o nanopartículas (o vehículo) proporcionado con sistemas de administración de fármaco. El Bortezomib en el vehículo puede estar en dicha forma o en forma de un derivado, como se explica a continuación.

Más particularmente, la invención se refiere a una clase de derivados obtenidos haciendo reaccionar una unidad molecular (o engarce) con Bortezomib a través de un eslabón de tipo diéster borónico.

10 Estos derivados son estables en un entorno neutro, pero son susceptibles de degradación en un entorno ligeramente ácido (pH = 4,5 – 5,0) liberando el fármaco Bortezomib, y se pueden conjugar con el vehículo a través del engarce.

15 Los derivados de acuerdo con la invención representan una clase de profármacos de Bortezomib referidos a la hidrólisis del éster borónico y se pueden usar para el transporte de Bortezomib y su liberación en entornos ligeramente ácidos, tales como el entorno intracelular, una vez han pasado a través de un medio que tiene pH neutro (tales como el torrente sanguíneo) en que el fármaco permanece conjugado de forma estable en forma de éster borónico que no es biológicamente activo.

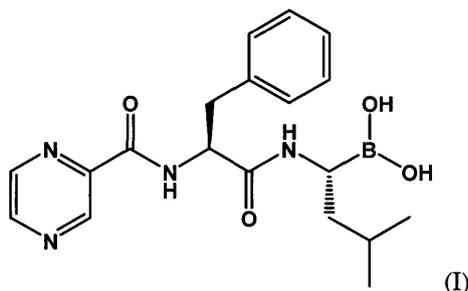
20 En la práctica, los derivados de acuerdo con la invención se pueden usar para la liberación intracelular de Bortezomib ya que permiten que el fármaco sea transportado a través del torrente sanguíneo, que se caracteriza por un pH que es aproximadamente neutro (7,4), en forma biológicamente inactiva, al tiempo que el introducido en el entorno intracelular, que se caracteriza por un pH ácido (aproximadamente 4,5 – 5,0), experimenta degradación química inducida por pH, dando lugar a la difusión de la forma terapéuticamente eficaz de Bortezomib.

25 En el caso en el que dichos derivados se usen como constituyentes de un sistema de liberación de fármaco se anclan al mismo por medio de una unidad de engarce, y esta (Sistema de Administración de Fármaco), que tiene función de administración, será capaz de alcanzar el entorno intracelular a un pH de 4,5 – 5,0, donde tiene lugar la degradación del profármaco al cual se refiere la invención, dando lugar a la difusión de Bortezomib. Por ejemplo, los derivados de acuerdo con la invención se pueden usar con el fin de lograr la liberación intracelular (a pH 4,5 – 5,0) de Bortezomib tras la administración endovenosa (en un entorno de pH neutro).

Los derivados de acuerdo con la invención se usan en la preparación de sistemas terapéuticos capaces de liberar Bortezomib en el entorno intracelular.

Técnica anterior

30 Bortezomib [ácido 3-metil-1-(3-fenil-2-(pirazin-2-carboxiamido)-propanamido)butil borónico] está representado por medio de la fórmula (I), y tiene la estructura del grupo funcional de ácido borónico, y como tal tiene una reactividad similar a los ácidos borónicos.



35 Bortezomib es un compuesto sintético que pertenece a la clase de agentes antineoplásicos de nueva generación que actúan por medio de la inhibición de la actividad de tipo quimi tripsina de proteasoma 26S y, por consiguiente, degradan las proteínas celulares [Adams J, Palombella VJ, Sausville EA, Johnson J, Destree A, Lazarus DD, Maas J, Pien CS, Prakash S, Elliot PJ. Cancer Res (1999), 59:2615-2622; Pickart CM, Eddins MJ. Biochim Biophys Acta. 2004 29 Nov; 1695 (1-3): 55-72.]

40 Esto se usa clínicamente para el tratamiento de mieloma múltiple resistente a tratamiento o diagnosticado por primera vez (MM) y otras formas tumorales tales como linfoma de células de la corteza cerebral [Jagannath S., Barlogie B, Berenson J, Siegel D, Irwin D, Richardson PG et al. Brit J Haematol (2004) 127: 165-172; Orlowski RZ. Exp Rev Anticancer Ther (2004) 4:171-179]. También se ha sometido a ensayo para el tratamiento de muchos tumores sólidos, tales como tumores de próstata, mama, pulmón, riñón y ovario [Cusack JC. Cancer Treat Rev (2003) 29:21-31]. Bortezomib inhibe el mecanismo de ubiquitina-proteasoma. Esta inhibición da lugar a numerosos

efectos sobre células tumorales, incluyendo cambios en la proliferación celular [King RW, Deshaies RJ, Peters JM, Kirschner MW. *Science* (1996) 274: 1652-1659], adhesión celular [Read MA, Neish AS, Luscinskas FW, Palombella VJ, Maniatis T, Collins T. *Immunity* (1995) 2: 493-506] y angiogénesis [Dullic V, Kaufmann WK, Wilson SJ, Tisty TD, Lees E, Harper JW, et al, *Cell* (1994) 76:1013-1023] que aportan una interrupción del ciclo celular y la apoptosis. Estos efectos principalmente resultan aplicables a células tumorales, pero también afectan a células normales [Adams J. *Semin Oncol* (2001), 28:613-619].

El principal efecto colateral provocado por el tratamiento con Bortezomib es neuropatía periférica que, con frecuencia, representa el factor limitante de la dosis para su uso clínico y también puede tener como resultado un tratamiento no continuado. En particular, la neuropatía periférica inducida por Bortezomib adopta la forma de parestesia distal y dolor neuropático con una distribución de “guante y calcetín” [Cata JP, Weng HR, Burton AW, Villareal H, Giralt S, Dougherty PM. *J Pain* (2007) 8:296-306; Cavaletti G, Pezzoni G, Pisano C, Oggioni N, Sala F, Zoia C, Ferrarese C, Marmiroli P, Tredici G. *Neurosci. Lett* (2002) 322:103-106; Richardson PG, Briemberg H, Jagannath S, Wen PY, Barlogie B, Berenson J, et al. *J Clin Oncol* (2006) 24:3113-3120; Meregalli C, Canta A, Carozzi VA, Chiorazzi A, Oggioni N, Gilardini A, Ceresa C, Avezz f, Crippa L, Marmiroli P, Cavaletti G. *Eur J Pain* (2010) 14:343-350]. Estos síntomas surgen durante el tratamiento con Bortezomib, pero, con frecuencia, también se prolongan una vez interrumpido el tratamiento, provocando discapacidades apreciables en pacientes con repercusiones graves en la calidad de vida [Jagannath S, Barlogie B, Berenson J, Siegl D, Irwin D, Richardson PG, et al. *Brit J Haematol* (2004) 127:165-172]. Sin embargo, hasta la fecha, no está claro qué cambios morfológicos específicos en el nervio periférico están asociados a los diversos componentes nocivos de la neuropatía inducida por Bortezomib.

Los sistemas construidos que usan partículas de sílice mesoporosa que son potencialmente útiles en la liberación/administración de fármacos o genes se describen en los documentos listados a continuación: WO 2007108016, WO 201209448, US 20090311332.

El documento WO 2007108016 describe microsistemas y nanosistemas de administración de fármaco construidos usando partículas de sílice mesoporosa y caracterizado por la presencia de un ligando específico de receptor sobre la superficie externa de la partícula y un fármaco introducido en o predominantemente ligado dentro de los poros. El ligando específico de receptor, cuyos receptores están sobre-expresados en células tumorales, se reconoce e internaliza por parte de las células tumorales y extrae con él todo el nanosistema que libera el fármaco en el entorno intracelular en respuesta a estímulos específicos. El ligando específico de receptor y el fármaco pueden ser de tipo diferentes. Los sistemas anteriormente mencionados posibilitan tratamientos dirigidos eficaces con bajas dosis de fármaco y baja toxicidad y efectos colaterales.

El documento WO 201209448 describe estructuras submicrónicas basadas en sílice porosa con superficies revestidas con un polímero catiónico. Estos pueden incluir un oligonucleótido y un agente terapéutico. El uso de Bortezomib se cita entre los agentes terapéuticos reivindicados, además los sistemas propuestos no proporcionan mecanismos para la liberación de fármacos sensibles a pH.

El documento US 200903110332 describe un procedimiento de síntesis de nanopartículas de sílice mesoporosa y sus correspondientes aplicaciones. El procedimiento incluye la separación de las partículas en base a su tamaño.

Un material objeto de administración se introduce en las partículas producidas y se logra la liberación controlada reduciendo el pH en la superficie de la partícula de sílice mesoporosa. Bortezomib o los profármacos de Bortezomib no se mencionan.

El documento WO 2014/170628 describe un procedimiento de producción de un éster de manitol-bortezomib, que comprende las siguientes etapas:

- (a) disolver bortezomib en un primer disolvente para formar una primera disolución;
- (b) añadir manitol a la primera disolución;
- (c) retirar el primer disolvente de la primera disolución para formar un residuo que comprende éster de manitol-bortezomib;
- (d) añadir un segundo disolvente al residuo para formar una suspensión de éster de manitol-bortezomib en el segundo disolvente;
- y
- (e) aislar el éster de manitol-bortezomib del segundo disolvente.

El procedimiento reivindicado en el documento WO 2014/170628 evita los inconvenientes que generalmente se asocian a los procedimientos de la técnica anterior y, en particular, el éster de manitol-bortezomib obtenido muestra un elevado nivel de pureza, estando sustancialmente libre de impureza X de degradación.

El objetivo de la presente invención es desarrollar derivados de Bortezomib que permitan una administración más eficaz con una reducción de efectos colaterales en comparación con Bortezomib como tal, cuando se administra de acuerdo con la técnica conocida. En particular, el objeto de la invención consiste en inhibir las neuropatías periféricas que se originan como efecto colateral adverso asociado a la administración de Bortezomib.

Sumario de la invención

El objeto de la presente invención reside, de este modo, en un sistema de liberación que comprende la asociación de vehículo/engarce/Bortezomib como se define con brevedad.

5 Otro objeto de la invención es una clase de derivados de Bortezomib capaces de liberar Bortezomib como consecuencia de su degradación que tiene lugar a un pH de 4,0 – 5,5, preferentemente de 4,5 – 5,0.

Estos derivados tienen la fórmula general (III), que se describe con brevedad. Se pueden usar como tales para los mismos usos terapéuticos que Bortezomib y se pueden introducir en el interior de sistemas de micropartículas y mesopartículas (tales como por ejemplo los descritos en el documento WO 2007108016) que incorporan un ligando para administración de los fármacos.

10 Los derivados de acuerdo con la invención hacen posible la reducción de los efectos colaterales que normalmente se asocian a dosis elevadas de fármacos antitumorales que son necesarios en los tratamientos convencionales como resultado de la administración directa a células tumorales solas directamente en un entorno intracelular.

15 Otro objeto de la invención es un conjugado que comprende los derivados de Bortezomib definidos anteriormente con partículas microporosas y nanoporosas. Se prefieren las partículas submicrónicas basadas en sílice que tienen una morfología provista de cavidades capaces de albergar el agente o agentes terapéuticos o el profármaco objeto de administración. De forma particular, se prefieren las micropartículas y nanopartículas descritas en

Otro objeto son composiciones farmacéuticas que comprenden el profármaco o el sistema de administración para el tratamiento de formas tumorales en general o para aliviar los efectos colaterales asociados a la administración de Bortezomib.

20 Objetos adicionales de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Diagrama del conjugado que comprende sílice mesoporosa acoplada con ácido fólico sobre la superficie externa y alojamiento del derivado de Bortezomib (mostrado en el diagrama como un óvalo) químicamente anclado en los poros.

25 Figura 2. Microfotografía de sílice mesoporosa de tipo MSU obtenida mediante el uso de microscopio electrónico de barrido.

Figura 3. Espectro de RMN-13C del éster borónico.

Figura 4. Cromatograma de Bortezomib en una concentración de 70 ppm en fluido corporal simulado a pH de 5.

30 Figura 5. Curva de calibración referida al segundo pico del cromatograma de la disolución a pH 5.

Figura 6. Curva de calibración referida al tercer pico del cromatograma de la disolución a pH 5.

Figura 7. Cromatograma de la muestra SBA-BORT durante los ensayos de liberación en fluido corporal simulado a pH 5.

Figura 8. Cromatograma de Bortezomib en una concentración de 50 ppm en fluido corporal simulado a pH 7.

35 Figura 9. Curva de calibración referida al pico 1 del cromatograma de la disolución a pH 7.

Figura 10. Cromatograma obtenido a partir de la disolución tamponada a pH 7 en la que se suspensión la muestra *Conjugado de Sílice(SBA-15)/engarce/Bortezomib* durante 0,5 horas.

Figura 11. Cromatograma obtenido a partir de la disolución tamponada a pH 7 en la que se suspensión la muestra *Conjugado de Sílice(SBA-15)/engarce/Bortezomib* durante 9,0 horas.

Figura 12. Liberación de Bortezomib a partir de fluidos corporales simulados a pH 5 y pH 7 en función del tiempo.

40 Figura 13. Imágenes TEM que ilustran la captación de MSN-FOL por parte de las células HeLa que expresan FR tras 1 hora de incubación (véase sección de Materiales y Procedimientos). La Imagen (A) se obtuvo con 8.000 aumentos, mientras que el área rodeada por el cuadrado se adquirió con 25.000 aumentos (B).

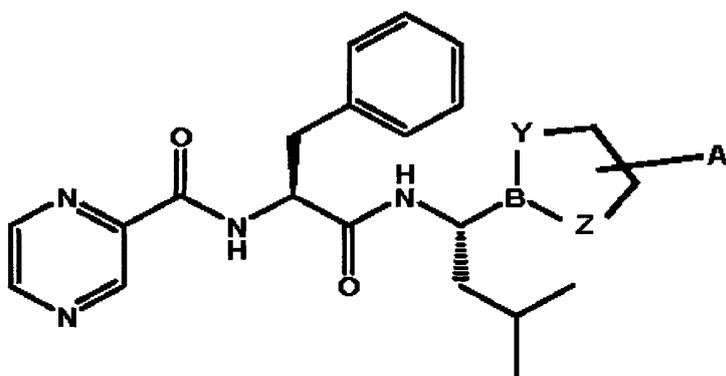
45 Figura 14. El MSN-FOL/GPS-BTZ inhibe la proliferación de células tumorales de cuello uterino HeLa FR-positivo (Figura 14A) pero no en células de carcinoma de mama MCF-7 (Figura 14B) ni en células normales HEK293 (C), siendo ambas FR-negativo. Se trataron las células con MSN-FOL/GPS-BTZ o se dejaron sin tratar (control C). MSN-FOL y MSN-FOL/GPS se usaron como controles negativos (véase Materiales y Procedimientos). Se evaluó la vitalidad celular tras 1, 2 o 3 días de tratamiento. Los valores presentados representan la media ± desviación típica de cuatro experimentos independientes llevados a cabo por triplicado para cada condición.

Descripción detallada de la invención

50 Las siguientes definiciones resultan aplicables en el contexto de la presente invención:

- Por sistema de administración de fármaco se entiende el conjugado Vehículo/Engarce/Bortezomib;
- Por profármaco del derivado de Bortezomib se entiende el compuesto de fórmula general (II) obtenido por medio de reacción entre el engarce y Bortezomib en el grupo funcional de ácido borónico;
- Por engarce o unidad molecular o ligando bidentado se entiende la molécula de fórmula general (III), uno de cuyos extremos es capaz de reaccionar con el grupo funcional de ácido borónico de Bortezomib y el otro extremo es capaz de unirse al vehículo;

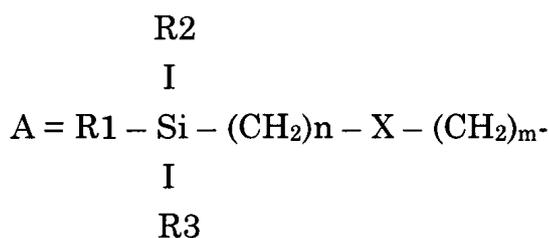
- Por ligando o agente que tiene la función de administración se entiende un compuesto responsable de la administración y reconocimiento de las moléculas expresadas de forma abundante sobre la superficie de las células tumorales, aportando de este modo la administración selectiva al tejido diana;
 - Por vehículo se entiende una partícula, por ejemplo una partícula de sílice porosa, que tiene dimensiones de micrométricas a nanométricas que se puede unir al derivado de boro de Bortezomib (el profármaco como se ha definido anteriormente) sobre su superficie, por ejemplo puede ser una partícula de sílice porosa o una matriz basada en óxidos inorgánicos que tiene porosidad controlada, que se obtienen por ejemplo por medio de procedimientos de "impresión molecular" o a través del uso de tensioactivos (Katz, A.; Davis, M.E. Molecular Imprinting of Bulk, Microporous Silica, Nature, 2000, 403, 286-289.);
 - Por microsistema o nanosistema de administración de fármaco se entiende un vehículo como se ha definido anteriormente que porta sobre su superficie un compuesto diseñado para reconocer moléculas expresadas abundantemente sobre la superficie de células tumorales, aportando la administración selectiva al tejido diana, seleccionadas por ejemplo entre: ácido fólico, biotina, péptidos, anticuerpos, glicósidos, carbohidratos o proteínas, compuestos todos ellos conocidos por sí mismos.
- Los derivados de Bortezomib de acuerdo con la invención vienen representados por la fórmula general (II) y se pueden obtener por medio de reacción química de Bortezomib de fórmula general (I) con un ligando bidentado que puede venir representado por la fórmula general (III) que reacciona para formar un derivado cíclico de boro en el extremo R4 que porta el ligando.



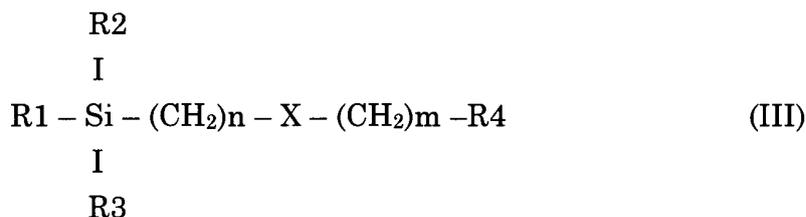
(II)

- En el compuesto de fórmula (II) Y y Z representa, independientemente uno de otro, -NH-, -O-, -S- y A es el sustituyente obtenido tras la reacción entre el compuesto de fórmula (I) (Bortezomib) y el compuesto de fórmula (III).

En particular A tiene el siguiente significado



Los ligandos bidentados (o engarces) de acuerdo con la invención vienen representados por la fórmula general (III):



en la que:

R1, R2, R3, independientemente uno de otro, están seleccionados entre CH₃, C₂H₅, OCH₃, OC₂H₅, OC₃H₇, OC₄H₉, OC₅H₁₁;
 X es un enlace sencillo o S, O, NH;

R4 está seleccionado entre NH₂, SH, epóxido, halógeno, CN, tiocianato, -CH=CH₂;
n y m son números enteros positivos de forma que n = 0-5 y m = 0-3 con n+m ≥ 1

5 Los derivados de Bortezomib permiten la liberación a pH de 4,5 – 5,0 mediante la apertura del anillo de boro, mientras que el otro extremo puede quedar libre o, más ventajosamente, engarzado al sistema conocido de micropartículas o nanopartículas.

Los derivados de Bortezomib de acuerdo con la invención se pueden obtener por medio de un procedimiento que proporciona las siguientes etapas básicas.

10 Los derivados de Bortezomib de acuerdo con la invención se pueden preparar en primer lugar haciendo reaccionar Bortezomib con el engarce de fórmula (III), obteniéndose de este modo el compuesto de fórmula (II), que posteriormente se une al vehículo. Como alternativa, el engarce de fórmula (III) se hace reaccionar con el vehículo a través de los sustituyentes R1, R2 y R3, y el resultado se hace reaccionar con Bortezomib, obteniéndose el sistema Vehículo/Engarce/Bortezomib de acuerdo con la invención. Todas las reacciones son reacciones orgánicas que se encuentran dentro del conocimiento de los expertos en la técnica. Las condiciones de reacción típicas se ilustran por ejemplo en la sección de ejemplos.

15 Los derivados de Bortezomib se pueden usar para la liberación intracelular de Bortezomib ya que permiten que el fármaco sea transportado en forma biológicamente inactiva a través del torrente sanguíneo, pero una vez que alcanzan el entorno intracelular experimentan degradación química inducida por las características del entorno (pH), liberando Bortezomib libre.

20 Cuando el derivado se usa como constituyente de un sistema de administración de fármaco queda anclado al mismo, y como el sistema completo tiene una función de administración será capaz de alcanzar el entorno intracelular a pH 4,5 – 5,0, cuando tiene lugar la degradación del profármaco con la liberación de Bortezomib libre.

El derivado se degrada, liberando Bortezomib a pH 4,5 – 5,0 (el pH típico del entorno intracelular). Para una descripción general de los micro-nanosistemas presentados en la presente memoria, cuando se usan para el transporte de profármacos de Bortezomib que son el objeto de la invención, véase el documento WO 2007108016.

25 El diagrama mostrado a continuación describe el uso potencial de la invención descrita. En particular, se ilustra un uso potencial como componente de un microsistema o nanosistema para liberación intracelular de Bortezomib. El sistema comprende una matriz basada en óxidos inorgánicos con porosidad regular y controlada (en el caso particular se ilustra una partícula de sílice mesoporosa), caracterizado porque una sustancia responsable de la administración y reconocimiento molecular (ilustrada en el diagrama por un asterisco; a modo de ejemplo se ha seleccionado ácido fólico en la Figura 1) se acopla selectivamente, preferentemente sobre la superficie externa, y, preferentemente en los poros, perteneciendo la molécula a la clase de moléculas que son el objeto de la invención (profármaco de Bortezomib, representado en el diagrama por un óvalo), químicamente ancladas al sistema.

35 En una realización adicional de la invención, la matriz inorgánica comprende, además de o como sustitutivo de las sustancias responsable de la administración y reconocimiento molecular, otras moléculas que tienen una función de marcador, en particular marcadores fluorescentes. Estas moléculas se pueden combinar sobre la superficie externa de la matriz inorgánica en combinación con las sustancias de administración. Se prefieren rodamina y fluoresceína. Se describe un procedimiento de preparación en Morelli, C. et al. L. PEG-templated mesoporous silica nanoparticles exclusively target cancer cells. *Nanoscale*. 2011 Ago;3(8):3198-207, donde se describe la preparación de sílices mesoporosas ligadas a fluoresceína y ácido fólico.

40 Los derivados de Bortezomib de acuerdo con la invención representan una clase de profármacos de Bortezomib que se refieren a la hidrólisis del éster borónico y también pueden estar conjugadas sobre la superficie de un micro-nanosistema para administración de fármaco de tal modo que se conviertan en un constituyente del mismo.

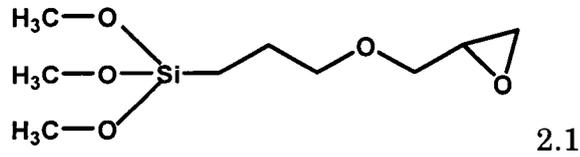
45 Son químicamente estables a pH neutro, al tiempo que descomponen con la liberación de Bortezomib a pH ligeramente ácido (4,5 – 5,0). Se pueden usar en el transporte y liberación de Bortezomib cuando resulta necesario inducir su difusión en entornos que tengan un pH ligeramente ácido una vez que han pasado a través del medio que tiene pH neutro en el que el fármaco permanece conjugado de forma estable en la forma de un derivado de boro biológicamente no activo.

50 Estos derivados también se pueden unir a los sistemas de micropartículas y nanopartículas usados para el transporte de Bortezomib cuando sea necesario inducir su difusión en entornos que tengan un pH ligeramente ácido, después de haber pasado a través de un medio que tiene un pH neutro en el que el fármaco permanece conjugado de forma estable en la forma de un éster borónico biológicamente no activo, condiciones que suceden si los microsistemas y nanosistemas anteriormente mencionados para administración de fármaco se usan para inyección endovenosa.

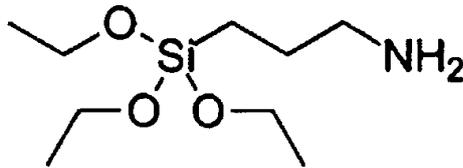
55 El derivado de Bortezomib de acuerdo con la invención tiene en su estructura el grupo funcional de éster borónico y, como tal, tiene una reactividad similar a la de los ésteres borónicos.

Las moléculas (ligandos bidentados) cuya reacción con Bortezomib se ha provocado para dar lugar a los profármacos que tienen las propiedades descritas anteriormente se ilustran por medio de la fórmula general (III).

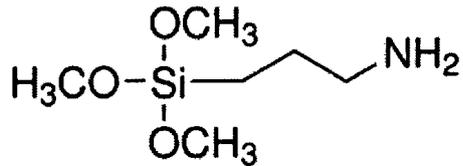
Una molécula particularmente preferida es 3-glicidoxipropil-trimetoxi-silano de fórmula 2.1:



Otras moléculas particularmente preferidas son:



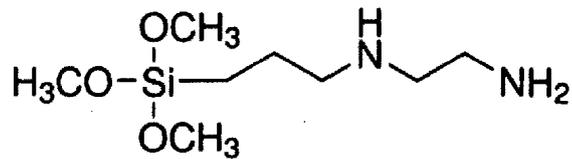
3-aminopropiltriethoxisilano



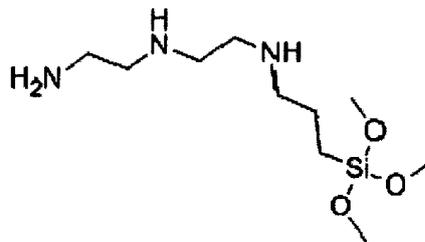
3-aminopropiltrimetoxisilano



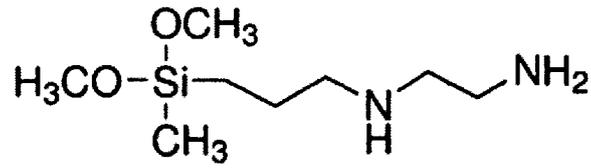
4-aminobutil-dimetil-metoxisilano



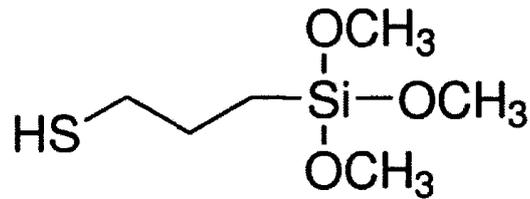
3-(2-aminoetilamino)propil-trimetoxisilano (N-[3-(trimetoxisilil)propil]etilendiamina)



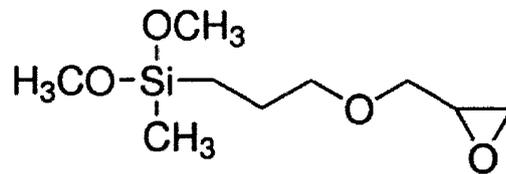
3-[2-(aminoetilamino)etilamino]-propiltrimetoxisilano; $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$



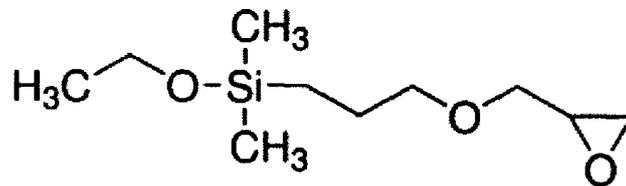
3-(2-aminoetilamino)propil-metildimetoxisilano



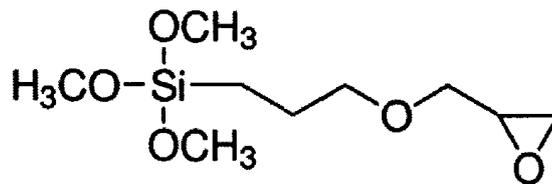
3-mercaptopropiltrimetoxisilano



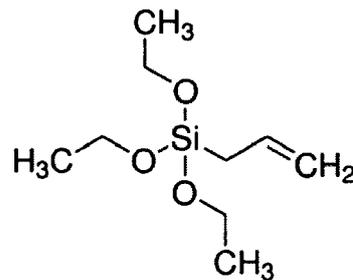
3-glicidoxipropildimetoximetilsilano



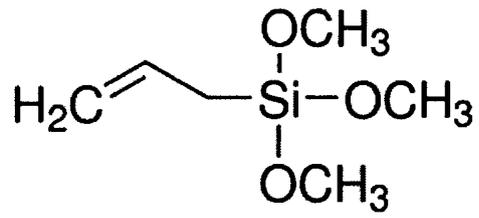
3-glicidoxipropildimetiletossilano



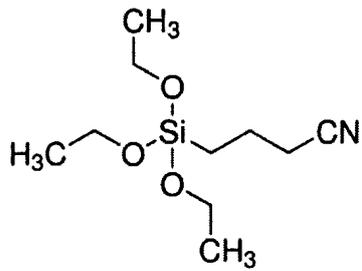
3-glicidoxipropiltrimetoxisilano



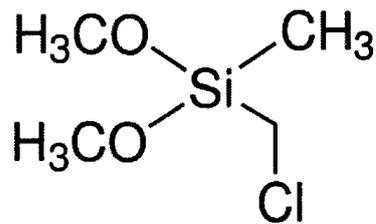
Aliltrietsilano



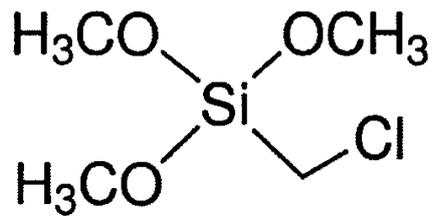
Aliltrimetoxisilano



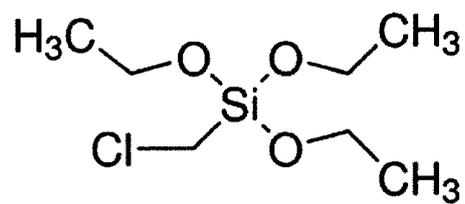
3-cianopropiltriethoxisilano



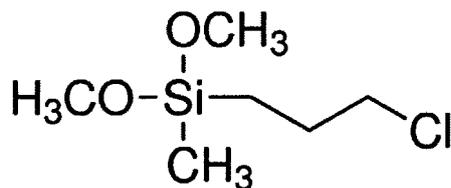
Clorometil(metil)dimetoxisilano



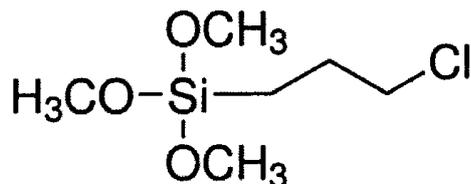
Clorometiltrimetoxisilano



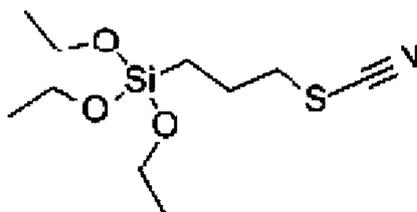
Clorometiltrietoxisilano



(3-cloropropil)dimetoximetilsilano

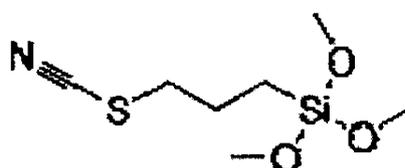


(3-cloropropil)trimetoxisilano



5

3-tiocianatopropiltriethoxisilano



3-tiocianatopropiltrimetoxisilano.

Administración de las composiciones farmacéuticas

10 La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas que comprenden derivados de Bortezomib de fórmula (II) y conjugados basados en Bortezomib, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 De acuerdo con la presente invención, los derivados y conjugados de acuerdo con la invención se pueden formular para administración individual o contemporánea, secuencial o retardada con otros principios activos o profármacos tales como por ejemplo fármacos antitumorales, material genético, radionucleidos o marcadores fluorescentes y, por tanto, se pueden insertar en una formulación individual o en formulaciones separadas.

Para uso en el campo terapéutico las composiciones farmacéuticas se preparan en formulaciones apropiadas para el tipo de administración prevista y los vehículos para los individuos que precisan el tratamiento, como se sabe por parte de los expertos en la técnica.

20 La formulación, por ejemplo, se puede lograr a través del uso de sales y sustancias tampón u otros excipientes que resulten conocidos para los expertos en la técnica y sean farmacéuticamente aceptables.

La administración de los derivados y conjugados de acuerdo con la invención, por ejemplo, puede tener lugar por vía nasal, bucal, oral, intradérmica, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, endovenosa, intratecal, intracraneal, parenteral o intraperitoneal.

25 Las formas farmacéuticas que se pueden usar para los inyectables, por ejemplo, pueden incluir soluciones acuosas estériles o dispersiones, tales como polvos estériles para la preparación de dispersiones extemporáneas y todos los excipientes, vehículos y tampones conocidos por los expertos en la técnica para su uso en la preparación de

inyectables. Los polvos estériles se preparan preferentemente a través de técnicas de secado conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, a través de secado a vacío y secado por congelación.

Las dosis terapéuticamente eficaces se establecen por parte de los expertos en la técnica responsables del tratamiento, sobre la base de la gravedad de las afecciones de los individuos que precisan el tratamiento y la ruta de administración seleccionada.

Cualquier composición de acuerdo con la invención se puede incluir en un estuche de administración. A modo de ejemplo no limitante, un estuche de acuerdo con la invención puede comprender el derivado de Bortezomib o el sistema de administración Vehículo/Engarce/Bortezomib formulado de manera apropiada para administración específica, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua para preparaciones inyectables o un vehículo farmacéuticamente aceptable para administración oral, cuando resulte aplicable.

Los componentes del estuche de acuerdo con la invención pueden estar en forma líquida o liofilizada y preferentemente están envasados en recipientes estériles apropiados, tales como por ejemplo botellas, tubos de ensayo o jeringas, ya sea de forma individual o bien ya mezclados.

Los estuches de acuerdo con la invención también pueden incluir herramientas o dispositivos para la administración de nanovehículos de acuerdo con la invención, por medio de diversas rutas de administración posibles, por ejemplo, administración parenteral, intramuscular o endovenosa.

Los estuches de acuerdo con la invención también comprenden instrucciones para uso de los componentes y cualesquiera otros reactivos no incluidos en los propios estuches.

Los sistemas de administración y profármacos basados en Bortezomib de acuerdo con la invención se usan ventajosamente en el tratamiento de tumores, en particular son útiles para aliviar los efectos colaterales y mejorar las condiciones clínicas de personas afectadas por formas de tumores, en particular carcinomas, mieloma múltiple, linfomas tales como linfoma de células de corteza cerebral, tumores de próstata, mama, pulmón, riñón y ovario, más particularmente carcinomas de ovario, riñón, cerebro, pulmón y mama.

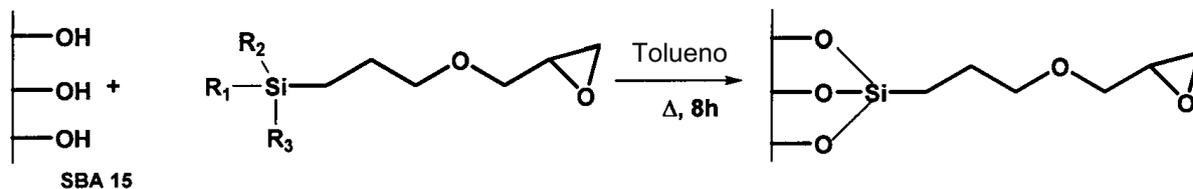
Los sistemas de administración en los profármacos de acuerdo con la invención se pueden usar ventajosamente para todas las enfermedades para las cuales se usa Bortezomib, con el fin de reducir su dosis y aliviar los efectos colaterales, tales como por ejemplo los cambios morfológicos en las fibras nerviosas periféricas, neuropatías periféricas, parestesias distales y dolor neuropático con distribución de "guante y calcetín".

Los siguientes ejemplos, junto con las figuras, se proporcionan exclusivamente a modo de ilustración de la invención y no se pretende que tengan un alcance limitante.

Ejemplos

Unión del engarce de fórmula (iii) al nano vehículo y posterior reacción con Bortezomib

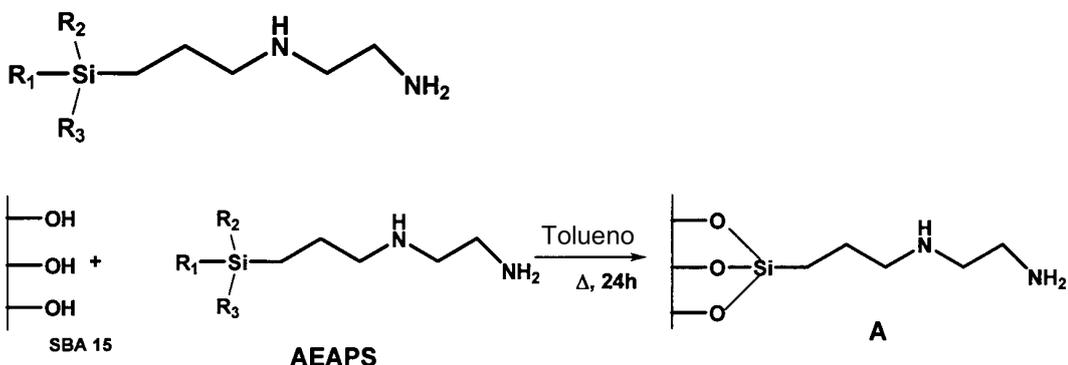
Síntesis de sílice funcionalizada con 3-glicidoxipropilo



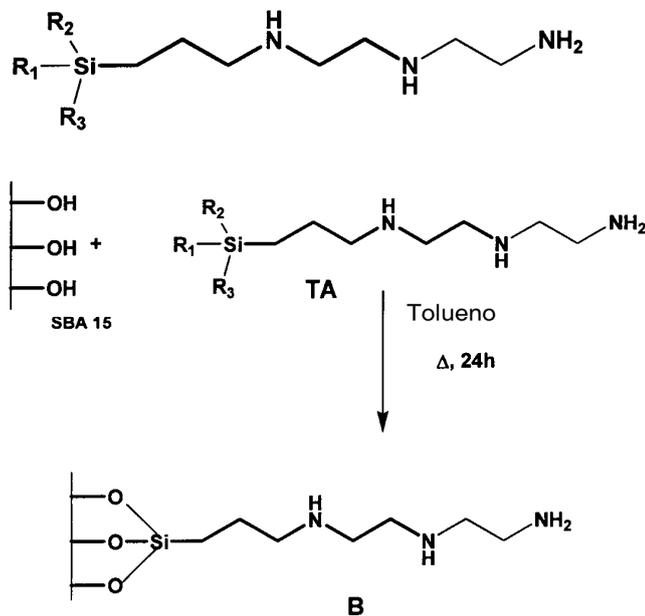
Procedimiento

Se hace reaccionar la sílice seca (SBA-15 0,55 g) en una atmósfera de nitrógeno inerte con 3-glicidoxipropilsilano (0,74 ml) en tolueno anhidro. Se permitió continuar la reacción bajo relujo con agitación magnética durante ocho horas. Se filtró la sílice funcionalizada y se lavó con tetrahidrofurano sobre filtros de poliamida y posteriormente se secó. De esta forma, se recuperó la sílice funcionalizada con engarce de glicidoxipropilo (1,1 g).

[N-2-(aminoetil)-3-aminopropilsilano] (AEAPS)



(3-trimetoxisililpropil)dielentriamina (SiDETA)



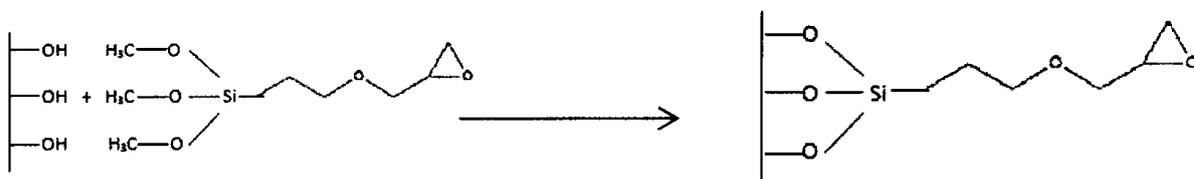
- 5 Se preactivó sílice mesoporsa (SBA-15 u otro tipo) a aproximadamente 120 °C en una estufa durante la noche, y posteriormente se enfrió y se trató con aminosilano (AEAPS o SiDETA).

Se calentó la mezcla a reflujo con tolueno anhidro (30 ml/g de soporte) durante 24 horas en una atmósfera de N₂. Se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente, se retiraron el tolueno y la diamina en exceso por medio de filtración a vacío.

- 10 Se lavó varias veces el producto recuperado con diclorometano y se secó a vacío a 40 °C.

Alternativa A

Como alternativa, se puede llevar a cabo la reacción de funcionalización con 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano en dioxano seco.



Reacción de injertado en dioxano seco durante 18 horas a temperatura ambiente

El procedimiento de síntesis proporciona la suspensión de 400 mg de material mesoporoso y la disolución de 0,80 ml de 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano en 12 ml de dioxano seco a temperatura ambiente. Se dejó la mezcla con agitación magnética a temperatura ambiente durante 18 horas. Se filtró posteriormente la mezcla y se lavó en dioxano y THF seco y se secó a 45 °C.

Alternativa B

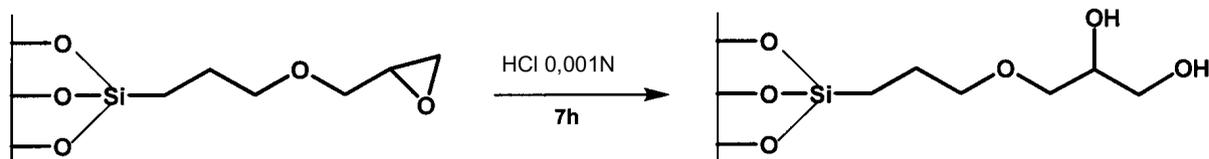
Como alternativa, se puede llevar a cabo este tipo de reacción en etanol a temperatura ambiente usando tiempos de reacción más prolongados.

En una preparación típica, se introdujo una solución obtenida por medio de disolución de 8,11 g de 3-aminopropiltriethoxisilano (APTES, C₉H₂₃NO₃Si) en 17,13 ml de etanol en una suspensión obtenida por medio de suspensión de 4 g de sílice mesoporosa del tipo MSU*, secada de forma apropiada, en 14,3 ml de etanol. Se agitó la suspensión obtenida a temperatura ambiente durante 18 horas, posteriormente se lavó, filtró y secó.

Se recuperaron 3,50 g de producto (se debería tener en mente que el siguiente procedimiento puede estar relacionado por un lado con un material cuya porosidad se impregnó por medio del tensioactivo de síntesis y por otro, un material sin tensioactivo. En el caso anterior, se usó el material cuya porosidad se impregnó con el tensioactivo de síntesis, y si este se suspende en etanol libera el tensioactivo o una parte del mismo, dando lugar a que los datos relativos a la cantidad de producto recuperado al final del cálculo de rendimiento no sean muy significativos).

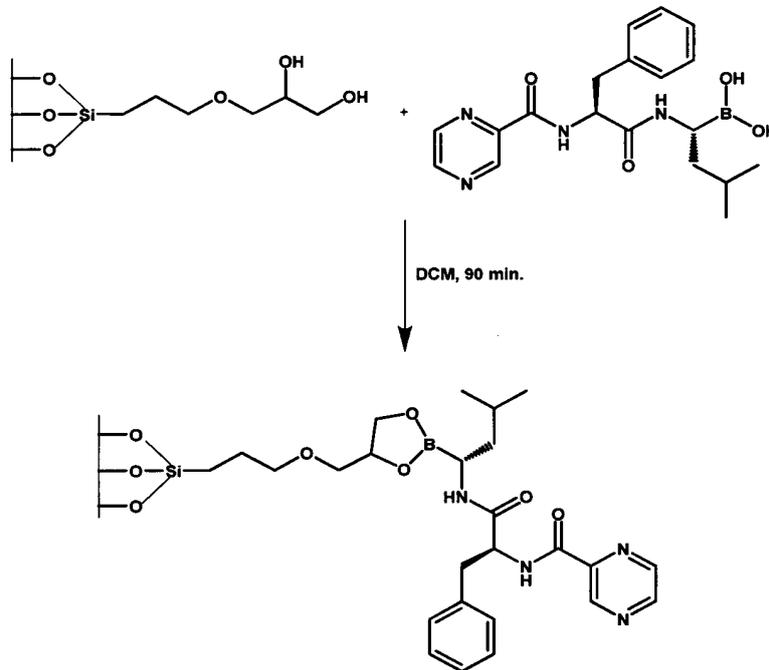
Cualquier procedimiento de funcionalización resulta válido para todos los tipos de sílice mesoporosa, no obstante, las alternativas propuestas (sobre todo la alternativa A que usa dioxano, que es un disolvente no prótico) son apropiadas para la funcionalización de los micro-nanosistemas sobre los cuales se han unido previamente ligandos específicos de receptor tales como ácido fólico u otros, con la condición de que se lleve a cabo a temperatura ambiente y en condiciones de reactividad que conserven su actividad biológica.

Las reacciones de funcionalización anteriores se pueden usar para todos los engarces de fórmula general (III), variando el tiempo de reacción con respecto al grado de funcionalización deseado.

Síntesis de sílice funcionalizada con 3-propoxipropil-1,2-diolProcedimiento

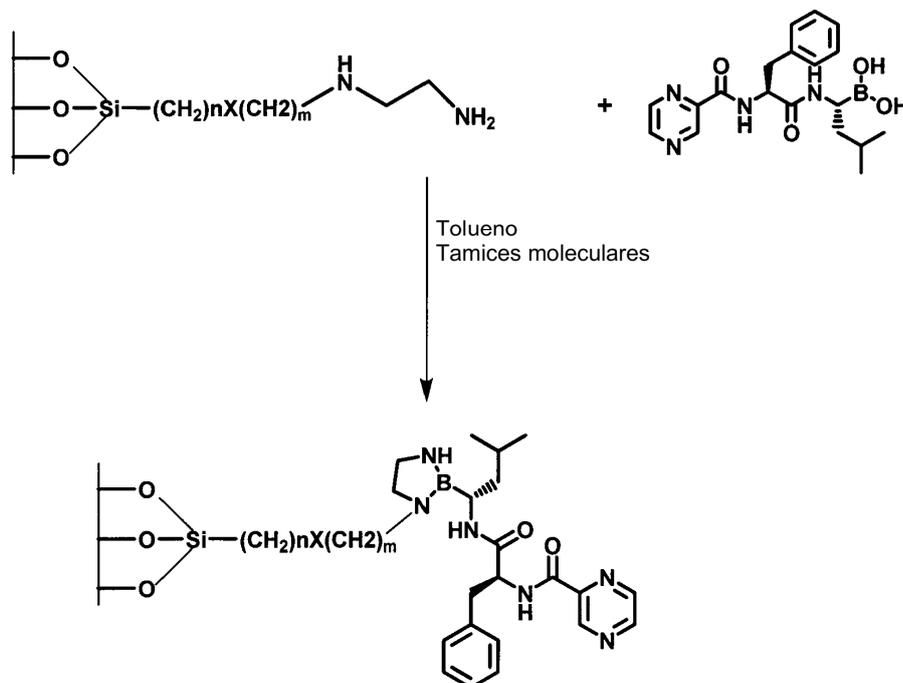
- Se hizo reaccionar la sílice funcionalizada con glicidoxipropilo con una solución 0,001 N de HCl. Se permitió el avance de la reacción con agitación magnética durante siete horas a temperatura ambiente.
- Se llevó a cabo la filtración y el lavado con agua destilada y acetona de calidad analítica sobre filtros de poliamida. Se recuperó sílice funcionalizada con el grupo funcional diol.

Anclaje de Bortezomib a sílice funcionalizada



- 5
- En una atmósfera de nitrógeno inerte se hizo reaccionar Bortezomib con sílice funcionalizada con el grupo funcional de diol en diclorometano anhidro. Se permitió el avance de la reacción con agitación magnética durante noventa minutos.
 - Se llevaron a cabo la filtración y varios lavados sobre filtros de poliamida usando diclorometano anhidro. Se recuperó la sílice con el Bortezomib ligado como éster borónico cíclico.

Como alternativa la preparación siguiente



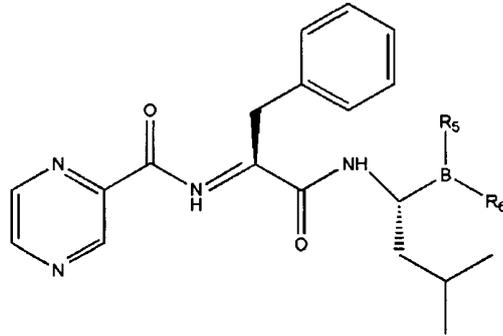
10

Se calentaron cantidades equimolares de Bortezomib y grupo funcional sobre sílice mesoporosa (SBA-15 u otro tipo) funcionalizada con ligandos AEAPS y SiEDTA a 40 °C en tolueno anhidro en presencia de tamices moleculares

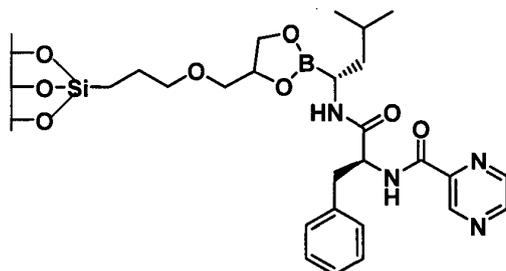
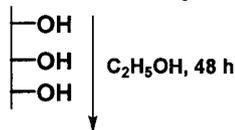
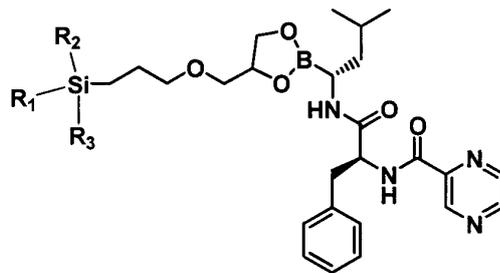
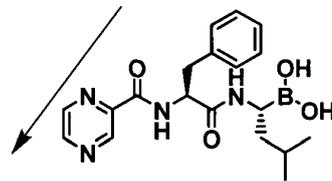
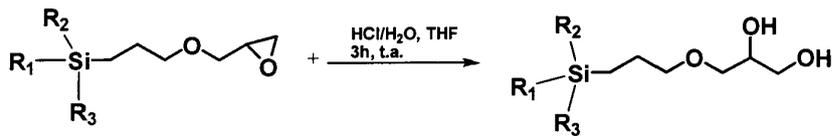
durante 7 horas. Se lavó el producto recuperado (diazaborolidina) varias veces con diclorometano y se secó a vacío.

Las diazaborolidinas se hidrolizan de forma rápida en soluciones ácidas diluidas, pero en soluciones neutras se hidrolizan de forma muy lenta (J. Am. Chem. Soc., 1958, 80(20), pp 5411-5413).

Preparación de derivado de Bortezomib de fórmula (II) y posterior unión con el nanovehículo

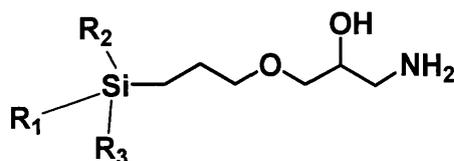


- 5 • Compuesto II

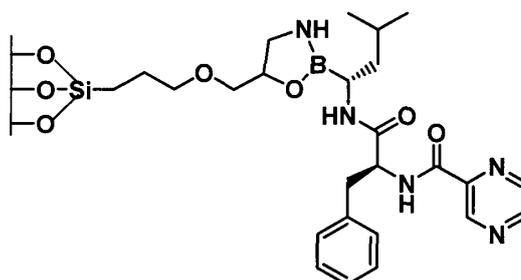
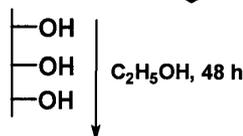
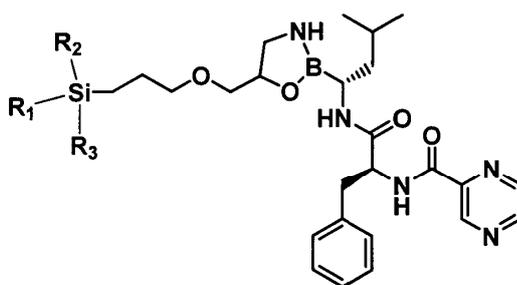
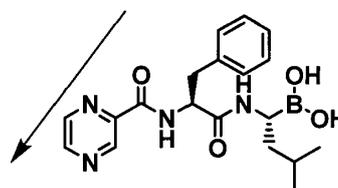
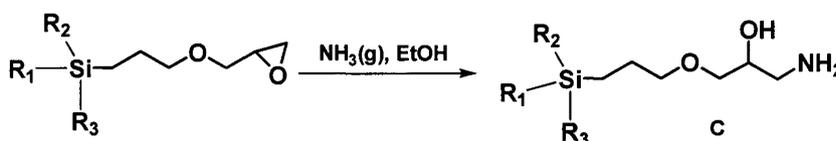


- Se provocó la reacción de 3-glicidoxipropilsilano con una solución 0,001 N de HCl en THF (tetrahidrofurano).
- Se dejó la mezcla de reacción durante 3 horas con agitación magnética.
- Se recuperó el producto impuro retirando el disolvente en condiciones de presión reducida y posteriormente se trató con agua y a continuación se extrajo con diclorometano. Se recuperó 3-(sililpropoxi)propan-1,2-diol de esta forma y posteriormente se hizo reaccionar con Bortezomib en diclorometano durante aproximadamente 2 horas. El éster borónico se trató con sílice (SBA-15 u otro tipo) en etanol durante 48 horas a temperatura ambiente.
- Se filtró y se lavó varias veces sobres filtros de poliamida usando etanol y diclorometano anhidro. Se recuperó sílice con el Bortezomib ligado como éster borónico cíclico.

5
10 **Usando los ligandos AEAPS y SiEDTA la unión** a Bortezomib se puede llevar a cabo usando las mismas condiciones que se usan para la unión de Bortezomib a sílice funcionalizada con AEAPS y SiEDTA. El derivado de fórmula (II) obtenido se puede engarzar posteriormente a la sílice como derivado de fórmula (II) obtenido con el glicidoxi.



1-amino-3-(3-silil)propan-2-ol



Se provocó el borbotado de amoníaco gaseoso a temperatura ambiente a través de una solución de 3-glicidoxipropilsilano en etanol durante 10 horas. Se retiró el disolvente en condiciones de presión reducida y se recuperó el 1-amino-3-[(3-silil)propoxi]propan-2-ol (C) y posteriormente se trató con Bortezomib en cantidades equimolares en tolueno a 40 °C en presencia de tamices moleculares.

- 5 Se trató la oxazaborolidina obtenida con sílice (SBA-15 u otro tipo) en etanol durante 48 horas a temperatura ambiente.

Esto se filtró y se lavó varias veces sobre filtros de poliamida usando etanol y diclorometano anhidro. En el producto recuperado Bortezomib se unió a la sílice por medio de una estructura cíclica de oxazaborolidina.

- 10 Con respecto a los ligandos de fórmula general (III) en la que R4 es un doble enlace (aliltrietoxisilano, aliltrimetoxisilano, etc.), se puede convertir el doble enlace en un epóxido a través de una reacción de epoxidación con perácidos o a través de la formación de halohidrina y posterior sustitución nucleófila intramolecular. El epóxido obtenido se procesó posteriormente de la misma forma que el glicidioxipropilo.

- 15 En caso de que R4 sea halógeno ((3-cloropropil)trimetoxisilano), es posible convertir el ligando en el correspondiente alqueno a través de reacción de deshidrohalogenación (eliminación-β) y se puede procesar a continuación de la misma forma que los derivados en los cuales R4 es un doble enlace.

Síntesis de éster borónico

Bortezomib puede reaccionar con los dioles obtenidos por medio de apertura del grupo epoxi presente en la molécula, formando un éster cíclico borónico.

- 20 Se llevaron a cabo experimentos preliminares usando modelos de ácido borónico con idea de estudiar y desarrollar las condiciones de reacción óptimas para la formación de ésteres borónicos partiendo de 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano, se usaron ácido 3-metilbutilborónico y ácido fenilborónico como sustratos modelo a tal fin.

- 25 La presencia de grupos trimetoxisilano hace posible la unión con la superficie de la sílice mesoporosa. El enlace de éster formado se puede hidrolizar en un entorno ligeramente ácido (pH 4,5 – 5,0) y permite que el fármaco se libere en los endosomas y, por tanto, en el sitio diana limitando la liberación fuera del entorno celular.

Nanopartículas funcionalizadas con el derivado de boro en el ejemplo anterior

Funcionalización

Se pueden usar profármacos de Bortezomib como constituyentes de microsistemas y nanosistemas para la administración de fármaco.

- 30 El enfoque experimental siguiente proporcionó la funcionalización de las nanopartículas de sílice microporosa y la posterior conjugación con la funcionalidad introducida por el ácido borónico. Se funcionalizó el material mesoporoso usando 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano; el grupo funcional epóxido se hidrolizó posteriormente para permitir el anclaje de Bortezomib.

- 35 La molécula de 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano es capaz de unirse a Bortezomib y al mismo tiempo quedar anclada a la superficie de la sílice mesoporosa.

- 40 Se sintetizó el material mesoporoso de tipo SBA-15 modificando una preparación presentada en la bibliografía (Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng Aspects 229 (2003) 1-8). Las preparaciones usadas dieron como resultado el escalado del procedimiento original y la modificación del mismo con respecto a la relación molar de EtOH/H₂O. Preparación de la muestra de SBA-15: se disolvieron 4,2 g de Pluronic P-123 (Sigma Aldrich) y posteriormente 0,7 g de CTAB (Alfa Aesar) en una solución que comprendía 56,6 ml de H₂O ultrapura, 35 ml de EtOH al 99 +% (Sigma Aldrich) y 84 ml de HCl 2 M. Cuando la solución fue completa, se añadieron 14 ml de TEOS (Sigma Aldrich), se dejó la mezcla obtenida con agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos y posteriormente se transfirió a un autoclave de Teflon donde se permitió el curado durante 5 horas a 80 °C y posteriormente a una temperatura de 120 °C durante 12 horas. El precipitado blanco obtenido se recuperó por medio de filtración usando filtros de poliamida con una porosidad de 0,2 μm.

- 45 Alternativamente se pueden usar sílice mesoporosas de tipo MSU obtenidas por medio del siguiente protocolo de síntesis o similar (procedente de los procedimientos reivindicados en el documento WO 2007108016): se preparó una solución que comprendía 150 g de H₂O destilada y 13,80 g de Triton X-100 (Sigma-Aldrich) en un vaso de precipitados de plástico de 500 ml. Una vez que el tensioactivo se había disuelto por completo, se preparó una solución que comprendía 10 g de n-decano (99+ % de C₁₀H₂₂, Carlo Erba) y 14,50 g de TEOS (Si(OC₂H₅)₄, Sigma Aldrich). Se vertió lentamente la solución por las paredes del vaso de precipitados en el cual se había disuelto el tensioactivo-matriz con agitación muy suave. Se permitió que la emulsión de dos fases obtenida experimentara curado con agitación suave a temperatura ambiente durante 8 días. Una vez se hubo retirado la fase orgánica suprayacente, se filtró la emulsión usando filtros de poliamida que tenían una porosidad de 0,2 μm.

50

Se pueden usar otros tipos de sílice mesoporosa como alternativa.

Se trató el material SBA-15 mesoporoso con 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano (5) en tolueno anhidro a reflujo durante 8 horas (Diagrama 1.1).ⁱ

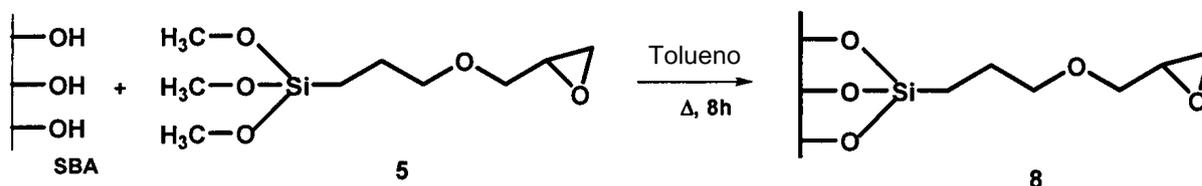


Diagrama 1.1

- 5 Tras filtrar y lavar con tetrahidrofurano se recuperó la sílice mesoporosa funcionalizada y se caracterizó por medio de espectroscopia de infrarrojos (IR), análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial (DSC).

En el espectro IR se obtuvieron una fuerte reducción de la absorción a 3450 cm^{-1} asociada a la tensión del enlace O-H en los grupos silanol de la sílice y la presencia de bandas de tensión de los enlaces C-H a 2951 y 2853 cm^{-1} que correspondían a la cadena de átomos de carbono del grupo glicidoxipropilo que, por el contrario, estuvieron ausentes en el espectro IR del material no funcionalizado.

- 10 Las características del ligando orgánico también son las bandas a 910 y 816 cm^{-1} que hacen referencia a la tensión asimétrica del anillo epoxi.

Se llevaron a cabo los análisis DSC y TGA sobre el material mesoporoso SBA-15 tras calcinación y sobre material (8) funcionalizado con 3-glicidoxipropilo.

- 15 Se encontró una diferencia considerable a partir de las gráficas (no mostradas) relativas a los análisis DSC y TGA de las dos muestras. En el caso del material funcionalizado, la curva de TGA mostró una pérdida de peso de aproximadamente un 11,3 % (expresado en términos de relación de masa orgánica/(SiO_2 + orgánico) de 0,113). En la curva DSC el pico exotérmico a una temperatura de 248 °C fue evidencia de la reacción de combustión del grupo glicidoxipropilo.

- 20 Con el fin de sintetizar los ésteres borónicos a partir de la sílice mesoporosa funcionalizada (8), se convirtió el anillo epoxi en el correspondiente diol por medio de hidrólisis en un entorno ácido.

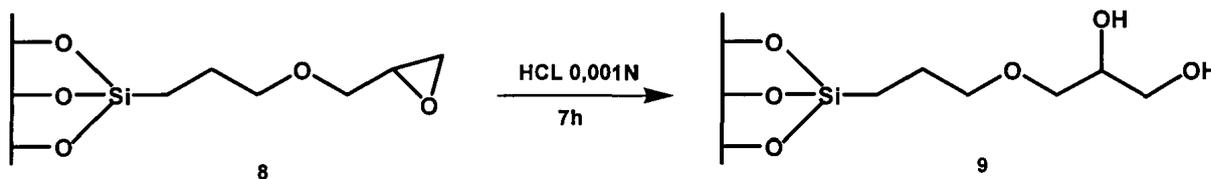


Diagrama 2.1

Se llevó a cabo la reacción de hidrólisis por medio de tratamiento de la sílice mesoporosa 8 con una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,001 N durante 7 horas a temperatura ambiente (Diagrama 2.1).

- 25 Se secó el producto hidrolizado 9 recuperado por medio de filtración y se caracterizó por medio de espectroscopia IR y análisis DSC y TGA. Se apreciaron un aumento de intensidad en la banda relativa a la tensión del enlace O-H a aproximadamente 3443 cm^{-1} atribuible a la presencia del grupo funcional de diol y la desaparición de la banda a 910 cm^{-1} correspondiente a la tensión asimétrica del anillo epoxi en el espectro IR del producto 9.

- 30 Se llevaron a cabo experimentos sobre la formación de ésteres borónicos partiendo de sílice mesoporosa funcionalizada 9 usando ácido 3-metilbutilborónico (6) como sustrato modelo. Se trató el compuesto 9 con ácido borónico 6 (análogo de Bortezomib). Se usaron moléculas similares a Bortezomib para ligar la reactividad de la molécula más directamente con la estructura del otro grupo funcional en favor del estudio para hacerlo más riguroso, condiciones similares a las de la reacción de Bortezomib en tolueno anhidro a reflujo durante 24 horas (Diagrama 3.1).

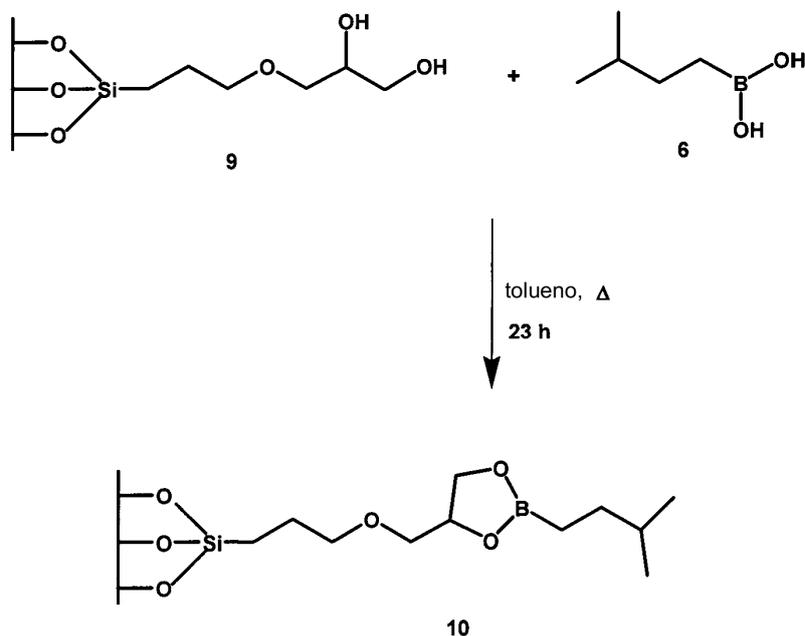


Diagrama 3.1

Se lavó el producto recuperado (10) por medio de filtración de la mezcla de reacción con THF, en cuyo disolvente, ácido metilbutilborónico es soluble, se secó y se caracterizó por medio de espectroscopía IR y análisis DSC y TGA.

Formación del diéster borónico

- 5 Se formó el diéster borónico usando otro sistema de modelo; ácido fenilborónico (un análogo de Bortezomib). Se llevó a cabo la reacción de 9 con ácido fenilborónico en condiciones diferentes: se llevó a cabo la reacción a temperatura ambiente durante tiempos cortos usando diclorometano como disolvente. Se trató el material mesoporoso 9 con ácido fenilborónico (11) en diclorometano anhidro a temperatura ambiente durante 90 minutos (Diagrama 4.1).

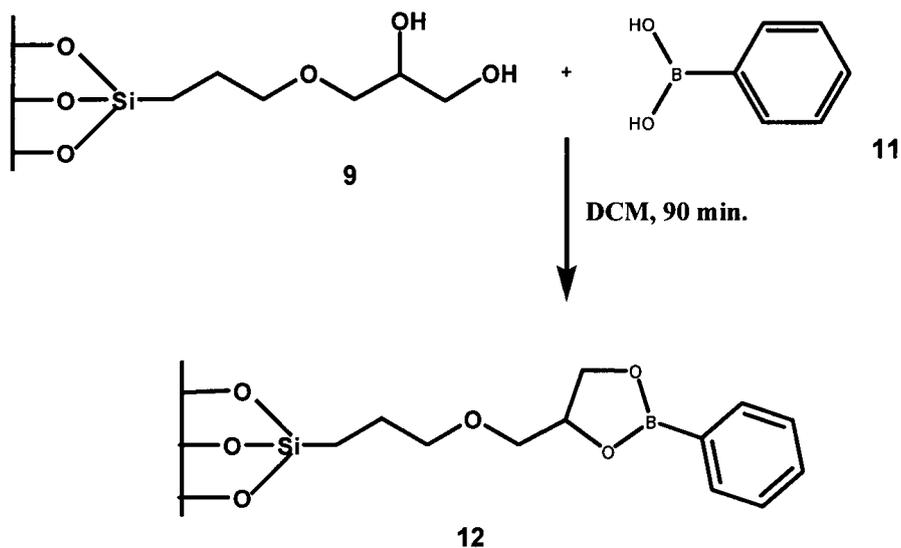


Diagrama 4.1

10

La caracterización del producto 12, recuperado tras la filtración y lavado con diclorometano, usando espectroscopía IR y análisis DSC y TGA, confirmó la formación del boronato. El espectro IR mostró, como característicos de la estructura 12, una banda que correspondía a la tensión de los enlaces aromáticos C-H a 3015 cm^{-1} , correspondientes a boronato de fenilo, una banda de absorción a 1368 cm^{-1} atribuida a la vibración asimétrica del

enlace B-O del boronato y dos bandas a 804 y 707 cm^{-1} relativas al plegamiento perpendicular al plano de los enlaces Ar-H.

Posteriormente se ancló la sílice mesoporosa SBA-15 usando condiciones similares a las de los experimentos con ácido fenil borónico (Diagrama 5.1).

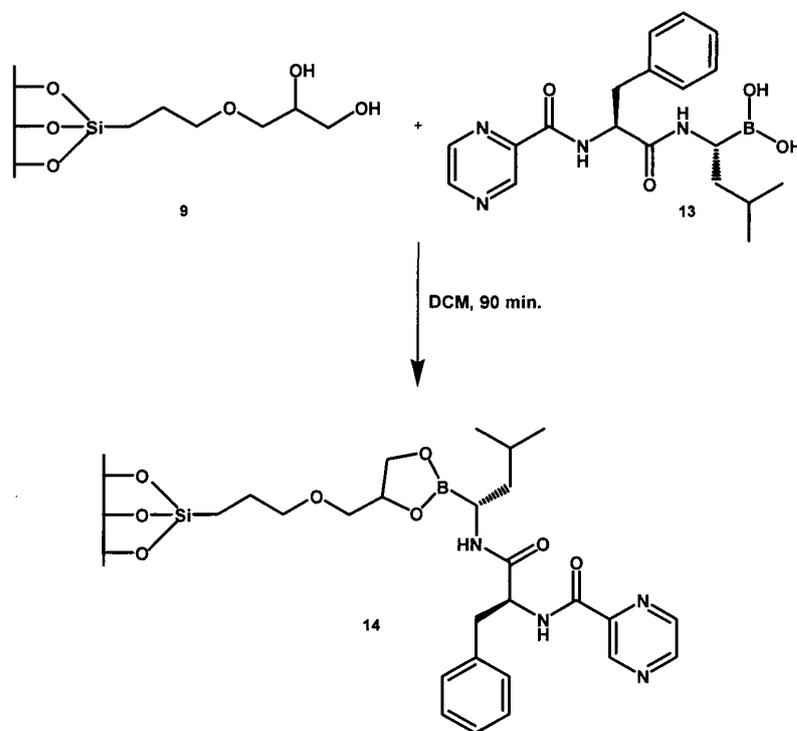


Diagrama 5.1

5

El análisis del producto recuperado (**14**) por espectroscopía IR reveló la presencia de una banda correspondiente a la tensión del enlace de amida presente en la molécula de Bortezomib a 1680 cm^{-1} y una banda a 1533 cm^{-1} que podría atribuirse al plegamiento del grupo NH. También son típicas de Bortezomib las bandas a 1446 cm^{-1} relativas a la tensión del enlace C-N y a 744 y 701 cm^{-1} correspondientes al plegamiento fuera del plano del anillo aromático. Estas bandas estuvieron ausentes en el espectro IR del diol de partida (**9**).

10

El anclaje de Bortezomib al material **9** mesoporoso funcionalizado también se confirmó por medio de análisis RMN del compuesto **14** en estado sólido.

Todas las señales atribuibles tanto al ligando orgánico como a la molécula de Bortezomib se apreciaron en el espectro RMN ^{13}C de **14** (Figura 3).

15

La señal a 7,52 ppm fue debida al carbonio del grupo metileno ligado a la sílice (Si-CH₂), mientras que las dos señales a 21,49 y 23,50 correspondieron respectivamente a los metilos en la cadena lateral del residuo de amino ácido de leucina en el carbono central de metileno de la cadena de propilo ligada al silicio.

20

Las señales relativas a los átomos de carbono de los dos grupos CH₂ ligados al átomo de oxígeno de éter del engarce orgánico (CH₂-O-CH₂) también estuvieron presentes a 70,50 y 71,56 ppm. Dentro del intervalo de 122,56-154,76 ppm el espectro mostró señales relativas a los carbonos aromáticos de la molécula de Bortezomib, y las señales que se pueden atribuir a los carbonilos de amida de esa molécula entre 162,76 y 171,45 ppm.

25

En el espectro ^{29}Si -RMN en estado sólido (no mostrado), se apreciaron dos picos muy intensos a -110,6 y -105,5 ppm correspondientes a las estructuras Q⁴[Si(OSi)₄] y Q³[Si(OSi)₃OH], respectivamente. También se apreció la presencia de dos picos en los campos inferiores, -66,2 y -56,1 pp, que se pueden atribuir al silicio de las estructuras T³[RSi(OSi)₃] y T²[RSi(OSi)₂OH]. La presencia de especies T en el espectro confirma que el ligando orgánico se ha unido a la estructura inorgánica de la sílice. El análisis ^{11}B -RMN de **14** también muestra señales que se pueden atribuir al boro tricoordinado y tetracoordinado.

Profármacos de Bortezomib como constituyentes de microsistemas y nanosistemas de administración de fármaco: evaluación de la estabilidad del profármaco a diferente pH

El agente de engarce para el anclaje del fármaco a la matriz, como se ha mostrado anteriormente, es 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano, que es capaz de reaccionar con el grupo funcional de ácido borónico del fármaco y el material mesoporoso al mismo tiempo.

5 De acuerdo con este enfoque, el fármaco se une covalentemente sobre la superficie de la sílice de un material mesoporoso. El enlace es estable a pH neutro y se vuelve lábil a pH ligeramente ácido (4,5 – 5,0) que se encuentra típicamente en la célula dentro de los endosomas y lisosomas.

10 Estas características (junto con la posibilidad de conjugación de un ligando específico de receptor con el sistema) dieron lugar al sistema como una totalidad, potencialmente capaz de difundir dentro del torrente sanguíneo (sin pérdidas significativas de Bortezomib), siendo reconocido e internalizado por las células tumorales que sobre-expresan los receptores de ligando específico de receptor, con liberación del fármaco tras hidrólisis ácida del enlace covalente.

Se evaluó el comportamiento del sistema anteriormente mencionado por medio de HPLC (Cromatografía de Líquidos de Alto Rendimiento) en soluciones tampón a pH 5,0 y pH 7,0, que simulan los entornos intracelular y de torrente sanguíneo, respectivamente.

15 Liberación de Bortezomib por parte del sistema de administración de fármaco que comprende el pre-fármaco de Bortezomib (conjugado de sílice (SBA-15)/engarce/Bortezomib)

20 Se estudió el perfil de liberación del fármaco a partir del sistema completo mediante la reproducción de los entornos fisiológicos con los cuales entra en contacto "in vitro". Por tanto, se simuló la liberación en una solución a pH neutro (SBF) con el fin de simular la ruta seguida por el sistema matriz-fármaco dentro del torrente sanguíneo hasta su entrada en el dianocto, y en una solución ácida a pH = 5, que simula el entorno presente en los endosomas, vesículas intracelulares que se forman una vez que el sistema fármaco-matriz ha sido internalizado por endocitosis.

Preparación de c-SBF (Fluido Corporal Simulado)

Las c-SBF son soluciones tamponadas a diferentes valores de pH que simulan el entorno de fluido corporal.

En particular se usaron:

- 25 1) una solución tampón a pH 7, formada por dihidrogenofosfato de potasio (KH₂PO₄) e hidróxido de sodio (NaOH) que reproduce el entorno neutro del plasma sanguíneo.
2) solución tampón de pH 4,4 basada en acetato de sodio y ácido acético, que reproduce el entorno ácido de los lisosomas con los cuales entra en contacto el fármaco tras la endocitosis.

Condiciones analíticas de HPLC (Cromatografía de Líquidos de Alto Rendimiento).

30 Se evaluó el perfil del fármaco por medio de HPLC usando acetonitrilo/agua (30/70 v/v) con un 0,1 % de ácido fórmico como fase eluyente y un caudal de 1,0 ml/min. El detector UV se ajustó en 270 nm.

Se usó una columna Lichrosorb RP18 TEKNOKROMA 10 Mm 25 x 0,46.

El volumen de las soluciones inyectadas fue de 1 microlitro y se obtuvieron muestras a partir de la solución en condiciones fisiológicas a intervalos de 30 minutos durante 12 horas.

35 Se confeccionaron curvas de calibración usando tres soluciones tampón que tenían diferentes concentraciones de Bortezomib. El fármaco mostró tres picos diferentes a pH 5 en el cromatograma HPLC.

Se consideraron el segundo y tercer picos con fines de evaluación de la liberación de fármaco debido a que el área abarcada por ellos presenta una correlación lineal con la concentración de las soluciones patrón.

40 La presencia de dos picos diferentes se debe a la existencia de dos formas de Bortezomib al pH en cuestión que tienen diferentes tiempos de elución como se muestra en la Figura 4.

Los valores obtenidos a partir de los análisis de soluciones de Bortezomib a diferentes concentraciones se muestran en las Tablas 1.1 y 2.1 para los picos identificados por los números 2 y 3, respectivamente, en el cromatograma obtenido a pH 5, mostrado en la Figura 4. Las curvas de calibración obtenidas a partir de los picos 2 y 3 se muestran en las Figuras 5 y 6, respectivamente.

45 **Tabla 1.1** Valores del área abarcada por el segundo pico para la solución a pH 5

| Concentración (ppm) | Área de pico (µa) |
|---------------------|-------------------|
| 4 | 1550 |
| 10 | 1829 |
| 70 | 9650 |

Tabla 2.1 Valores del área abarcada por el tercer pico para la solución a pH 5

| Concentración (ppm) | Área de pico (μa) |
|---------------------|--------------------------------|
| 4 | 1674 |
| 10 | 1830 |
| 70 | 9173 |

Liberación de Bortezomib en un entorno ácido (tampón a pH = 5)

5 El profármaco al cual se refiere la invención (conjugado de Sílice (SBA-15)/engarce/Bortezomib) como tal o como constituyente de un microsistema o nanosistema de administración de fármaco (en este caso el vehículo en la Figura 1) es una molécula capaz de liberar la forma activa de Bortezomib a pH ligeramente ácido. El pH ligeramente ácido es característico del entorno intracelular para que el fármaco pueda difundir dentro del entorno celular si este es el primer compartimento de pH ligeramente ácido con el que el profármaco o el sistema del cual es un constituyente entran en contacto tras la internalización por medio de endocitosis tras pasar a través del fluido corporal a pH neutro. Los endosomas (orgánulos intracelulares), de hecho, se caracterizan por un pH ligeramente ácido próximo al valor de 5, de manera que se evaluó la liberación de la muestra de conjugado de (SBA-15)/engarce/Bortezomib en una solución que reproducía el entorno ácido de los endosomas. A tal fin, se usó un tampón de ácido acético/acetato de sodio, preparado por medio de mezcla de 51 ml de una solución acuosa de ácido acético 0,2 M obtenida a partir de ácido acético al 99 % (Carlo Erba) y 49 ml de una solución acuosa de acetato de sodio de 0,2 M. La última se obtuvo por medio de adición de 0,803 g de acetato de sodio [CH_3COONa] (Sigma Aldrich) a 49 ml de H_2O ultrapura.

Se preparó la muestra inyectada en la columna cromatográfica por medio de disolución de 4 mg de material de SBA-BORT en 15 ml de solución tampón a pH próximo al valor de 5 y se agitó a una temperatura de 37 °C para proporcionar la mejor reproducción de las condiciones fisiológicas del entorno intracelular.

La Tabla 3.1 muestra las concentraciones de Bortezomib encontradas por HPLC en la solución tampón a pH 5, las áreas relativas de los picos considerados y las cantidades expresadas en gramos a diferentes intervalos de tiempo.

La Figura 7 muestra el cromatograma HPLC durante los ensayos de liberación llevados a cabo en fluido corporal simulado a pH 5.

Se obtuvieron las concentraciones del fármaco en diferentes intervalos de tiempo dividiendo el valor de cada área abarcada por el pico correspondiente entre el valor del gradiente (y) de la curva de calibración.

En particular, las concentraciones encontradas durante las primeras 2,5 horas proceden exclusivamente de las áreas abarcadas por el segundo pico, ya que el tercero únicamente resultó detectable a partir de la tercera hora en adelante. No obstante, se consideraron ambos picos en tiempos posteriores con el fin de obtener la cantidad final de fármaco a partir de la suma de las concentraciones correspondientes a todas las áreas individuales.

Como se puede apreciar a partir de los valores mostrados de la Tabla 3.1, las concentraciones de fármaco tienden a aumentar progresivamente con el tiempo hasta aproximadamente la hora ocho, y a continuación adoptan valores constantes.

Liberación de Bortezomib en entorno neutro (tampón a pH = 7).

Con el fin de demostrar la estabilidad del sistema dentro de un entorno de pH neutro tal como el torrente sanguíneo, se llevaron a cabo ensayos de liberación sobre la muestra SBA-BORT en un medio tamponado a pH 7 a una temperatura de 37 °C simulando el flujo sanguíneo.

Se usó un tampón $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ (dihidrogeno fosfato de potasio/hidróxido de sodio) para esta finalidad, preparado por medio de disolución de 6,81 g de dihidrogeno fosfato de potasio en 291 ml de hidróxido de sodio 0,10 M.

Tabla 3.1 Datos relativos a la liberación de SBA-BORT a pH = 5 en función del tiempo

| <u>Tiempo (horas)</u> | <u>Área (μa) 2º pico</u> | <u>Área (μa) 3er pico</u> | <u>Concentración de BORT encontrada (ppm)</u> | <u>Cantidad de BORTEZOMIB liberado por 4 mg de matriz</u> |
|-----------------------|--|---|---|---|
| 1 | 6798 | | 48,71 | 0,04871 mg |
| 2 | 7647 | | 54,79 | 0,05479 mg |
| 3 | 6017 | 3500 | 69,42 | 0,06942 mg |
| 5 | 5581 | 5394 | 80,54 | 0,08054 mg |

(continuación)

| <u>Tiempo (horas)</u> | <u>Área (μa) 2º pico</u> | <u>Área (μa) 3er pico</u> | <u>Concentración de BORT encontrada (ppm)</u> | <u>Cantidad de BORTEZOMIB liberado por 4 mg de matriz</u> |
|-----------------------|---|--|---|---|
| 6 | 5726 | 5768 | 84,39 | 0,08439 mg |
| 8 | 5778 | 6404 | 89,55 | 0,08955 mg |
| 9 | 5754 | 6545 | 90,43 | 0,09043 mg |

Posteriormente, se dispersaron 4 mg de muestra de SBA-BORT en 15 ml de solución tampón. Se dejó la mezcla con agitación durante el transcurso de los ensayos de liberación a una temperatura de 37 °C.

- 5 Las muestras de la mezcla anteriormente mencionada se tomaron cada 30 minutos para el análisis de HPLC. La Figura 8 muestra el cromatograma de Bortezomib en una concentración de 50 ppm en fluido corporal simulado a pH 7.

Los valores obtenidos a partir del análisis de soluciones de Bortezomib a diferentes concentraciones se muestran en la Tabla 4.1 relativa al pico identificado por el número 1. La curva de calibración obtenida se muestra en la Figura 9.

10 **Tabla 4.1** Valores del área abarcada por el pico para la solución a pH 7

| <u>Concentración (ppm)</u> | <u>Área de pico (μa)</u> |
|----------------------------|---|
| 10 | 46392 |
| 20 | 93083 |
| 50 | 181493 |

Se aprecia a partir de los dos cromatogramas mostrados en la Figura 10 y la Figura 11 que el pico identificado por el número 1 en la Figura 8 está casi ausente incluso tras 9 horas de suspensión en el fluido a pH 7.

- 15 En particular, no se observaron pérdidas de fármaco a partir del conjugado de Sílice (SBA-15)/Engarce/Bortezomib que pudieran ser detectadas por medio de HPLC durante aproximadamente las primeras cuatro horas.

La Tabla 5.1 muestra datos indicativos de la liberación de Bortezomib a pH 7 en función del tiempo.

La cantidad de Bortezomib liberada a partir del sistema conjugado de Sílice (SBA-15)/Engarce/Bortezomib tras haber permanecido en la solución tamponada durante 9 horas fue aproximadamente 50 veces menor que la detectada en la solución tamponada a pH 5 durante el mismo período.

- 20 La Figura 12 muestra el progreso de liberación de Bortezomib a dos valores de pH diferentes: en tampón a pH 5 y pH 7 en función del tiempo.

- 25 A partir de los datos de liberación, como queda demostrado por la Figura 12.1, se puede concluir que el sistema es extremadamente estable dentro de la solución que imita el entorno de plasma sanguíneo. Aunque el sistema SBA-BORT permaneció en solución durante tres horas, la técnica usada no detectó ninguna presencia del fármaco, después de lo cual permaneció en gran medida anclado a la matriz de sílice mesoporosa.

La evidencia experimental relativa a la liberación de Bortezomib en un entorno ácido muestra que están presentes concentraciones significativas de fármaco en solución incluso después de que el sistema SBA-BORT haya estado en residencia durante tiempos reducidos, confirmando la naturaleza lábil del enlace del tipo diéster borónico a pH ligeramente ácido.

30 **Tabla 5.1** Datos relativos a la liberación de SBA-BORT a pH = 7 en función del tiempo

| <u>Tiempo (horas)</u> | <u>Área (μa)</u> | <u>Concentración de BORT encontrada (ppm)</u> | <u>Cantidad de BORTEZOMIB liberado por 4 mg de matriz</u> |
|-----------------------|---------------------------------|---|---|
| 1 | ≈ 0 | ≈ 0 | ≈ 0 |
| 3 | ≈ 0 | ≈ 0 | ≈ 0 |
| 4 | 4693 | 1,43 | 0,00143 mg |
| 6 | 5208 | 1,58 | 0,00158 mg |
| 7 | 5365 | 1,63 | 0,00163 mg |
| 9 | 5839 | 1,78 | 0,00178 mg |

Experimentos de vitalidad celular

Por tanto, se llevaron a cabo experimentos de vitalidad celular sobre sistemas que comprendían una matriz basada en óxidos inorgánicos que tenían una porosidad regular y controlada caracterizados por el hecho de que se acopló selectivamente ácido fólico a la matriz como sustancia responsable de la dirección y reconocimiento de la molécula y se ancló un profármaco de Bortezomib en los poros.

Con esta finalidad, se funcionalizaron nanopartículas de sílice mesoporosa (MSNs, también denominadas SBA anteriormente) con ácido fólico (dando lugar a partículas denominadas MSN-FOL) o con ácido fólico y Bortezomib (siendo las últimas denominadas: MSN-FOL7gps-BTZ) lo que representa el producto más “completo” de acuerdo con la invención, es decir el micro-nanosistema de administración de fármaco. En este caso particular, que fue uno de los sometidos a ensayo, el engarce fue el grupo funcional glicidoxipropilo (GPS). Se llevaron a cabo los experimentos de vitalidad y actualización celular. Se determinó la toxicidad potencial de las nanopartículas por medio de experimentos de vitalidad celular lo que mostró que no eran tóxicas hasta una concentración de $3 \mu\text{g}/10^5$ células (resultados no presentados), y los inventores por tanto continuaron con esta relación de MSNs/número de células en los experimentos posteriores.

Las observaciones llevadas a cabo usando microscopio electrónico (TEM) revelaron que MSN-FOL tuvo éxito en la penetración de células HeLa que expresan niveles elevados de FR incluso tras 1 h de incubación, estando ubicadas principalmente en las formaciones de endosomas dentro del citoplasma (Figura 13).

Con el fin de determinar si las nanopartículas podrían constituir un instrumento fiable en terapia dirigida, se conjugó MSN-FOL con Bortezomib usando un sistema sensible a pH (MSN-FOL/GPB-BTZ). A continuación, se sometieron dichas partículas a ingeniería en un intento de obtener un dispositivo antitumoral que pueda usar el ácido fólico como ligando específico de receptor exclusivamente responsable del reconocimiento de células FR-positivo, y una vez que haya tenido lugar la endocitosis de receptor mediada por MSNs en un sistema sensible a pH capaz de liberar el fármaco únicamente en el entorno ácido de las cavidades endolisosomales.

Se evaluó la eficacia/toxicidad de MSN-FOL/GPS-BTZ por medio de experimentos de vitalidad celular usando un ensayo de exclusión de azul de Tripano (véase Materiales y Procedimientos). Se apreció una interrupción obvia del crecimiento después de únicamente 1 día en células HeLa (FR-positivo) tratadas con MSN-FOL/GPS-BTZ, en comparación con el control. Posteriormente, el efecto citostático se transmutó en efecto citotóxico en el segundo y sobre todo en el tercer día de tratamiento (Figura 14A). En confirmación del hecho de que la toxicidad se debe exclusivamente a la presencia de BTZ, los intermedios de síntesis MSN-FOL y MSN-FOL/GPS usados como control negativo adicional no revelaron defectos significativos sobre la proliferación celular en ningún momento considerado (Figura 14A).

Al contrario, las células de carcinoma de mama MCF-7 y las células normales embrionarias de riñón HEK293, ambas estirpes FR-negativo, no mostraron inhibición del crecimiento tras el tratamiento con MSN-FOL/GPS-BTZ en relación con el control o las muestras tratadas con MSN-FOL y MSN-FOL/GPS (Figuras 14B y C) (Morelli C., Maris P, Sisci D, Perrota E, Brunelli E, Perrota I, Panno ML, Tagarelli A, Versace C, Casula MF, Testa F, Andó S, Nagy JB, Pasqua L, PEG-templated mesoporous silica nanoparticles exclusively target cancer cells. *Nanoscale*. 2011 Aug; 3 (8):3198-207).

Los datos obtenidos muestran que las nanopartículas de sílice mesoporosa de los inventores son un vehículo potencial en el campo de la liberación controlada de fármaco, ya que se pueden reconocer selectivamente e internalizar por parte de las células tumorales que expresan FR y no por medio de células FR-negativo (por ejemplo, la mayoría de las células normales). Esto permite la liberación del fármaco dentro de los lisosomas (pH 4 – 5) y la acción únicamente dentro de los dianocitos, con la consiguiente reducción drástica de los efectos colaterales debido a su distribución sistémica no selectiva.

Materiales y procedimientos**Estirpes celulares y condiciones de cultivo**

Se cultivaron células de adenocarcinoma de cuello uterino humano HeLa (American Type Culture Collection, ATCC, EE.UU.) y células normales de riñón embrionarias HEK293 en Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM), complementado con un 10 % de suero bovino fetal (FBS); se propagaron células de carcinoma de mama humano MCF-7 (Interlab Cell Line Collection, ICLC, Geoa, Italia) en DMEM:F12 que contenía un 5 % de FBS.

Se añadieron 100 IU ml^{-1} de penicilina, $100 \mu\text{g}$ de estreptomycin y $0,2 \text{ M}$ de L-glutamina a ambos medios de cultivo. Se adquirieron los medios y los reactivos a partir de Gibco® (Thermo Fisher Scientific Inc.).

Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Se sembraron las células en placas de Petri de cultivo celular de 60 mm de diámetro y se incubaron a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ con MSN-FOL. Trascorrida una incubación de 1 hora se lavaron las células y se recogieron en Disolución Salina de Tampón de Fosfato (PBS, Invitrogen, Italia) y se centrifugaron a 14.000 rpm . El microgránulo resultante se fijó

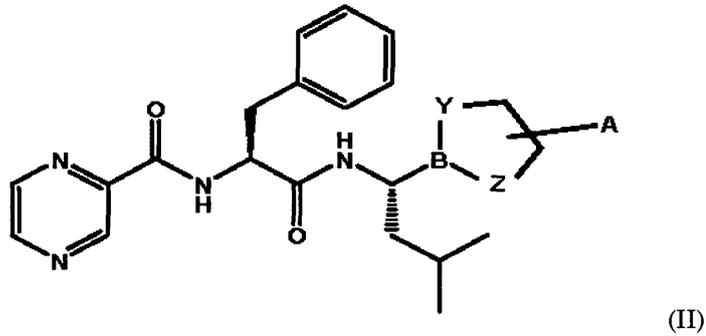
5 inmediatamente después en PBS con 3 % de glutaraldehído (pH 7,4) durante 2 horas, a continuación, se transfirió a una solución de tetróxido de osmio al 3 % durante 2 horas adicionales, se eliminó el agua sobre un gradiente de acetona y finalmente se intercaló en Araldite (Fuka, Buchs, Suiza). Se obtuvieron secciones ultrafinas usando un microtomo, se estratificó sobre una rejilla metálica de cobre, se contrastó con citrato de plomo y acetato de uranilo y posteriormente se observó usando un microscopio electrónico "Zeiss EM 900".

Experimentos de vitalidad celular

10 Se evaluó el efecto de MSNs conjugados con Bortezomib (BTZ) en la proliferación celular usando el procedimiento de exclusión de azul de tripano, un agente de tinción capaz de penetrar a través de las membranas o células muertas o dañadas (que quedan excluidas del conteo), pero que no atraviesa la membrana de las células intactas (que por el contrario si se cuentan). Posteriormente, se inocularon las células, en una etapa de crecimiento exponencial, en el medio de cultivo en multipocillos de 12 pocillos, en una cantidad de 10^5 células/pocillo, y se permitió el crecimiento durante la noche. Al día siguiente, se sincronizaron las células en medio libre de suero (SFM) con el fin de obtener una población celular que estuviera en la misma etapa del ciclo, evitando de este modo las diferencias en el crecimiento entre las células. Trascorridas 24 horas, se añadieron 3 $\mu\text{g}/10^5$ células MSN-FOL, 15 MSN-FOL/GPS y MSN-FOL/GPS-BTZ a las células durante 1 hora; posteriormente se sustituyó por un medio nuevo al cual se había añadido un 5 % de FBS y se recolectaron las células trascurridos 1, 2 o 3 días por medio de tripsinización y se incubaron en una solución al 0,5 % de azul de Tripano a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se determinó la vitalidad celular microscópicamente mediante el conteo de las células que no captaron el tinte (células vitales) usando un citómetro de sangre (Burker, Brand, Alemania).

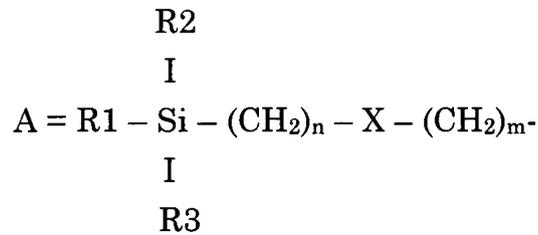
REIVINDICACIONES

1. Derivado de fórmula general (II)



en la que:

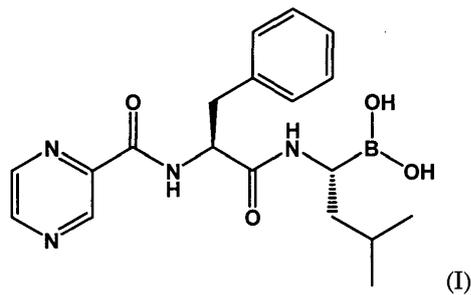
5 Y y Z representan, independientemente cada uno del otro, -NH-, -O-, -S y A es



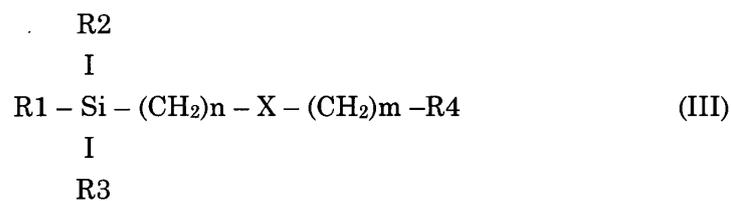
con:

10 R1, R2 y R3 estando seleccionados independientemente uno de otro entre CH₃, C₂H₅, OCH₃, OC₂H₅, OC₃H₇, OC₄H₉, OC₅H₁₁;
 X es un enlace sencillo o S, O, NH;
 n y m son números enteros positivos, de forma que n = 0-5 y m = 0-3, con n+m ≥ 1.

2. Derivado de acuerdo con la reivindicación 1, que se puede obtener haciendo reaccionar Bortezomib de fórmula general (I):



15 con un ligando bidentado de fórmula general (III)



en la que:

R1, R2, R3, X, n y m tienen los significados indicados en la reivindicación 1 y

R4 está seleccionado entre NH₂, SH, epóxido, halógeno, CN, tiocianato, -CH=CH₂;

que reacciona formando un derivado cíclico de boro en el extremo del ligando que porta R4.

3. Derivado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el ligando bidentado de fórmula (III) está seleccionado entre: 3-glicidoxipropil-trimetoxisilano; 3-aminopropiltriethoxisilano; 3-aminopropiltrimetoxisilano; 4-aminobutildimetil metoxisilano; 3-(2-aminoetilamino)propil-trimetoxisilano (N-[3-(trimetoxisilil)propil]etilendiamina); 3-[2-(2-aminoetilamino)etilamino]-propiltrimetoxisilano; N¹-(3-trimetoxisililpropil)dietilentiamina; 3-(2-aminoetilamino)propil-metildimetoxisilano; 3-mercaptopropiltrimetoxisilano; 3-glicidoxipropildimetoximetilsilano; 3-glicidoxipropildimetiletoxosilano; 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano; aliltriethoxisilano; aliltrimetoxisilano; 3-cianopropiltriethoxisilano; clorometil(metil)dimetoxisilano; clorometiltrimetoxisilano; clorometiltriethoxisilano; (3-cloropropil)dimetoximetilsilano; (3-cloropropil)trimetoxisilano; 3-tiocianatopropiltriethoxisilano; 3-tiocianatopropiltrimetoxisilano.
4. Derivado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, **caracterizado porque** es químicamente estable a pH neutro mientras que descompone con liberación de Bortezomib a pH ligeramente ácido entre 4,0 y 5,5, preferentemente de 4,5 – 5,0.
5. Derivado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para uso en el campo farmacéutico como profármaco antitumoral.
6. Sistema de administración de fármaco que comprende el derivado de fórmula (II) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, anclado a una matriz inorgánica porosa de dimensiones micrométricas o nanométricas.
7. Sistema de acuerdo con la reivindicación anterior, en el que la matriz inorgánica comprende óxidos inorgánicos tales como sílice mesoporosa.
8. Sistema de acuerdo con las reivindicaciones 6-7, en el que los poros de dimensiones nanométricas son poros que tienen una porosidad controlada obtenida por medio del procedimiento de impresión o mediante el uso de un tensioactivo.
9. Sistema de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en el que la matriz inorgánica comprende una o más moléculas seleccionadas entre sustancias responsables de administración y reconocimiento molecular y moléculas que actúan como marcadores.
10. Sistema de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la sustancia responsable de la administración y reconocimiento molecular está seleccionada entre ácido fólico, biotina, péptidos, anticuerpos, glicósidos, carbohidratos, proteínas.
11. Sistema de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el marcador es un marcador fluorescente, en particular fluoresceína y rodamina.
12. Composición farmacéutica que comprende el derivado o sistema de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
13. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación anterior, en el que el derivado o sistema se formula en combinación con otros principios activos o profármacos.
14. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12-13 formulada para administración por ruta nasal, bucal, oral, intradérmica, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, endovenosa, intratecal, intracraneal, parenteral o intraperitoneal.
15. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12-14, formulada como formulación inyectable, por ejemplo, una dispersión o solución acuosa estéril, en forma de polvo estéril para la preparación de dispersiones extemporáneas.
16. Estuche que comprende el derivado, sistema o composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-15, preparado en dosis predeterminadas para administración única o simultánea, secuencial o retardada de otros principios activos o profármacos, tales como por ejemplo fármacos antitumorales, material genético, radionucleidos, marcadores fluorescentes.
17. El derivado, el sistema, la composición o el estuche de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, para su uso en el tratamiento, mejora de condición clínica y alivio de los efectos colaterales en personas que padecen formas de tumores, en particular carcinomas, mieloma múltiple, linfomas tales como linfoma de células corteza cerebral, tumores de próstata, mama, pulmón, riñón y ovario, más particularmente carcinomas de ovario, riñón, cerebro, pulmón y mama.
18. El derivado, el sistema, la composición o estuche de acuerdo con la reivindicación anterior, en el que las condiciones clínicas y los efectos colaterales son cambios morfológicos en las fibras nerviosas periféricas,

neuropatías periféricas, parestesia distal y dolor neuropático que tiene una distribución de “guante y calcetín”.

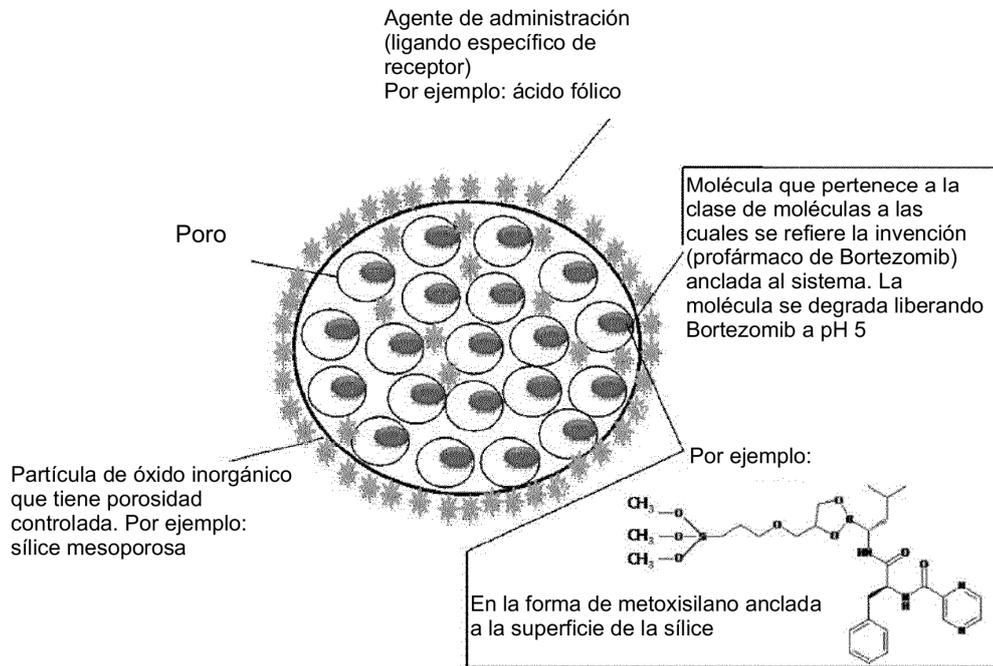


Figura 1

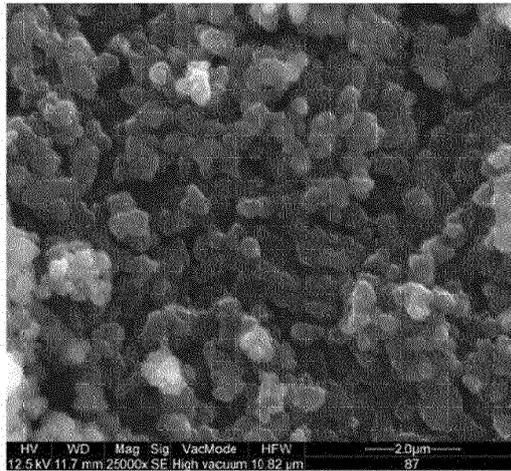


Figura 2

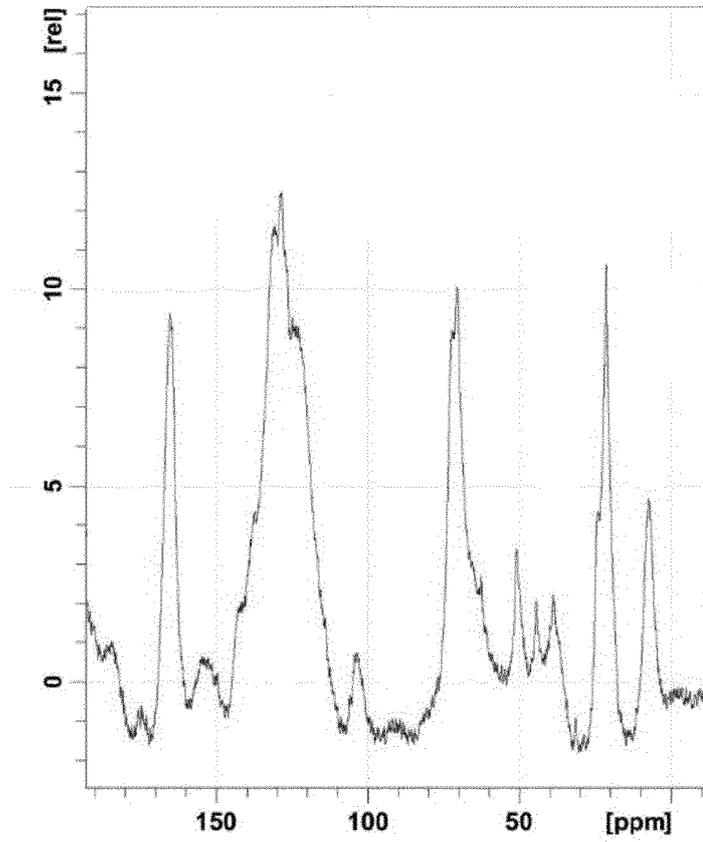


Figura 3

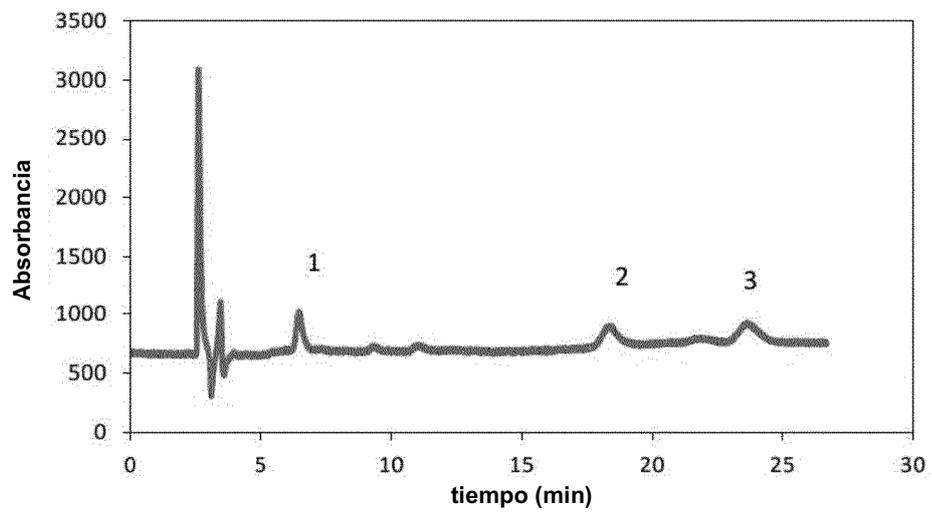


Figura 4

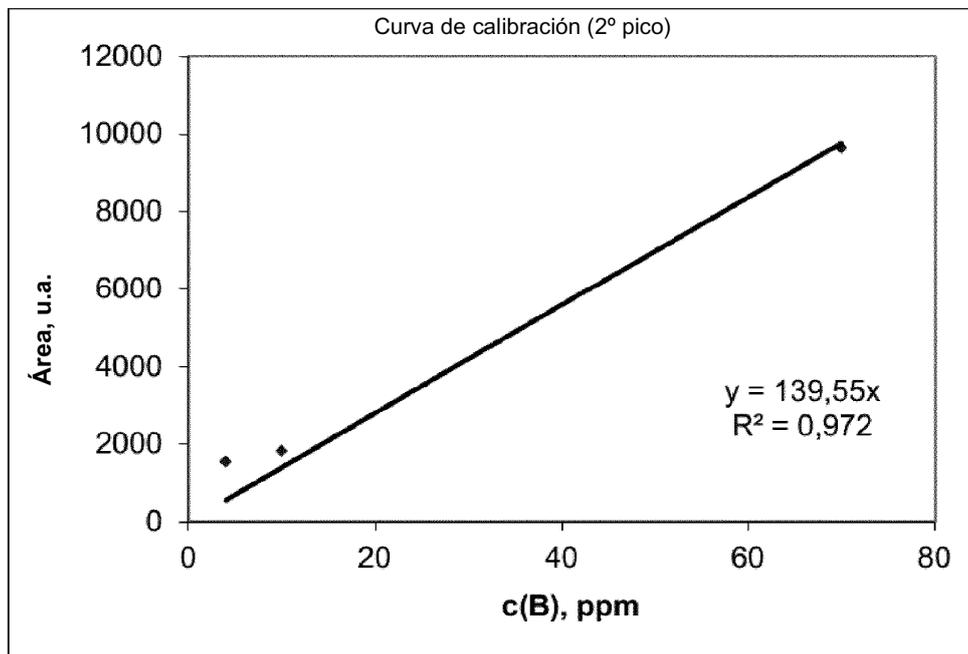


Figura 5

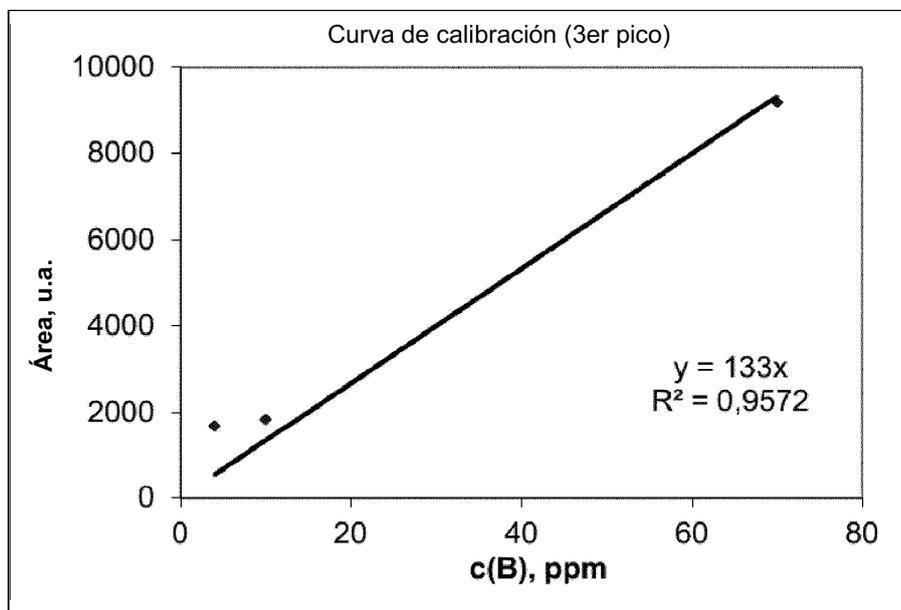


Figura 6

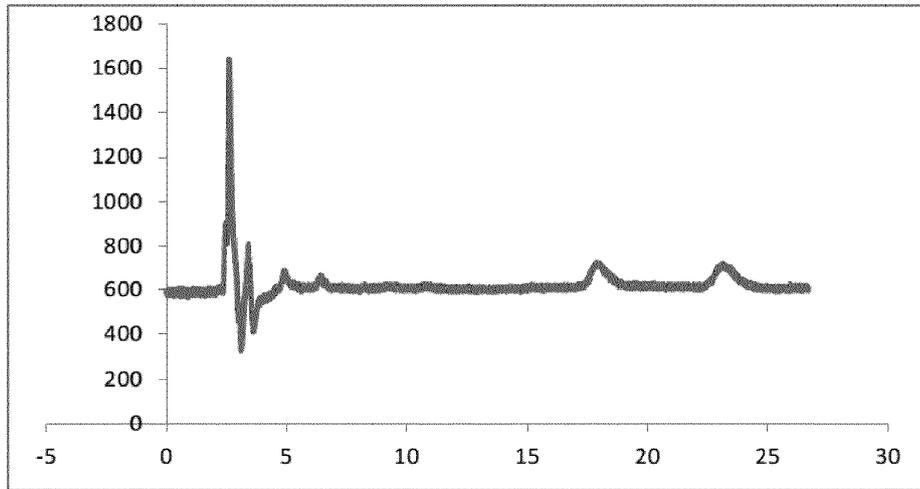


Figura 7

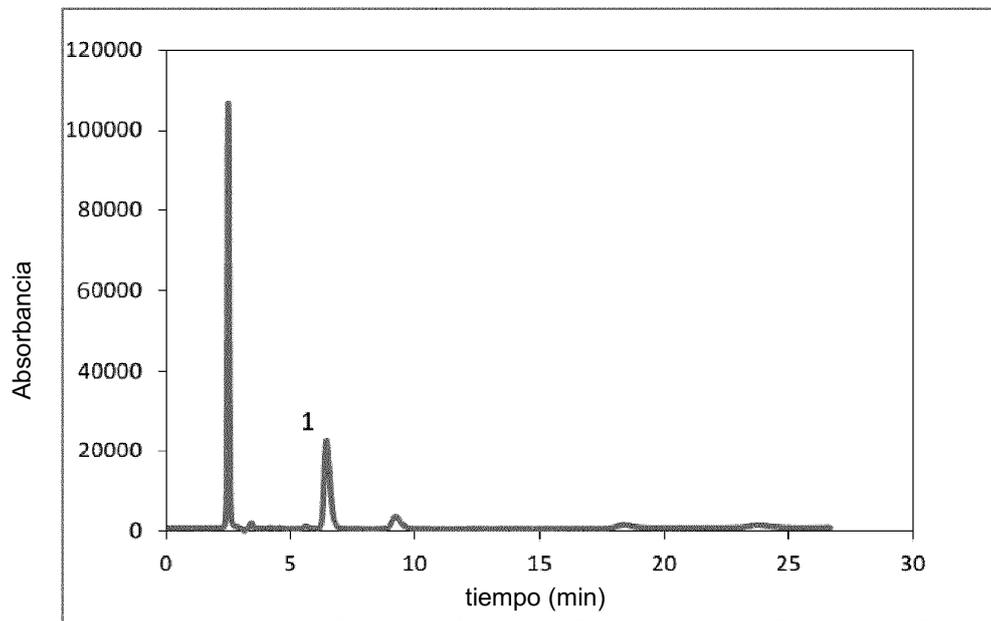


Figura 8

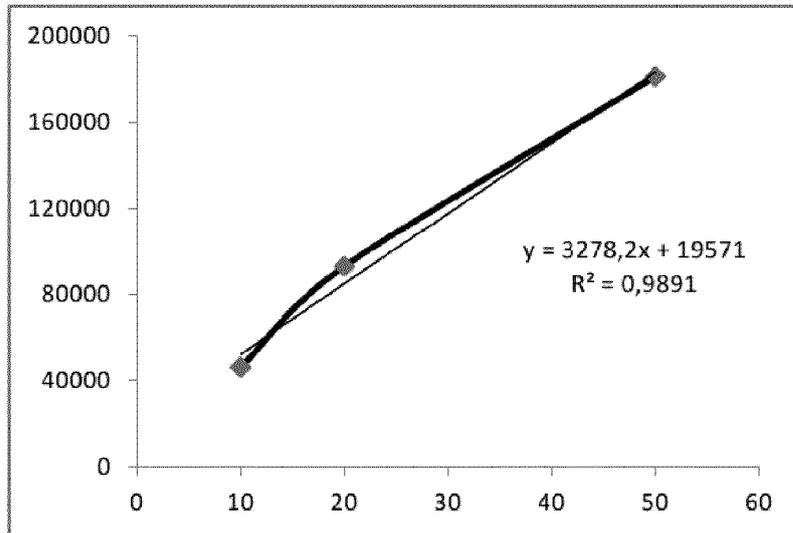


Figura 9

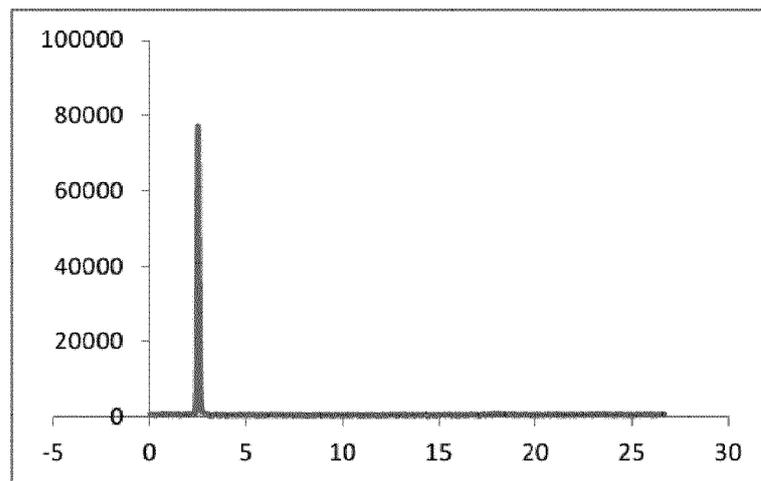


Figura 10

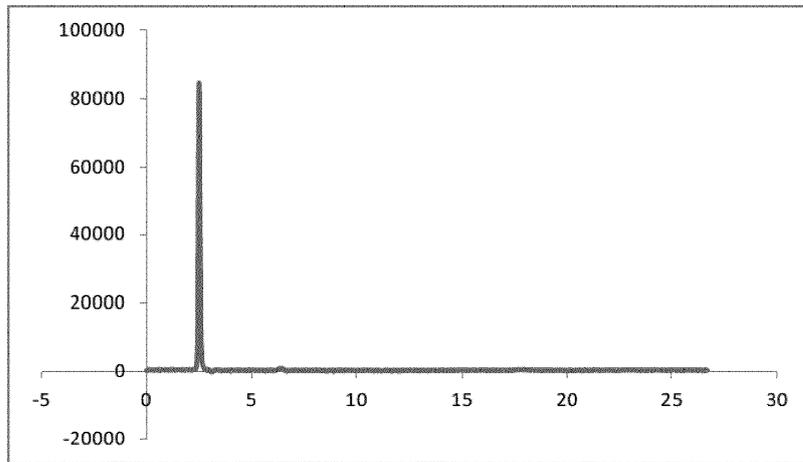


Figura 11

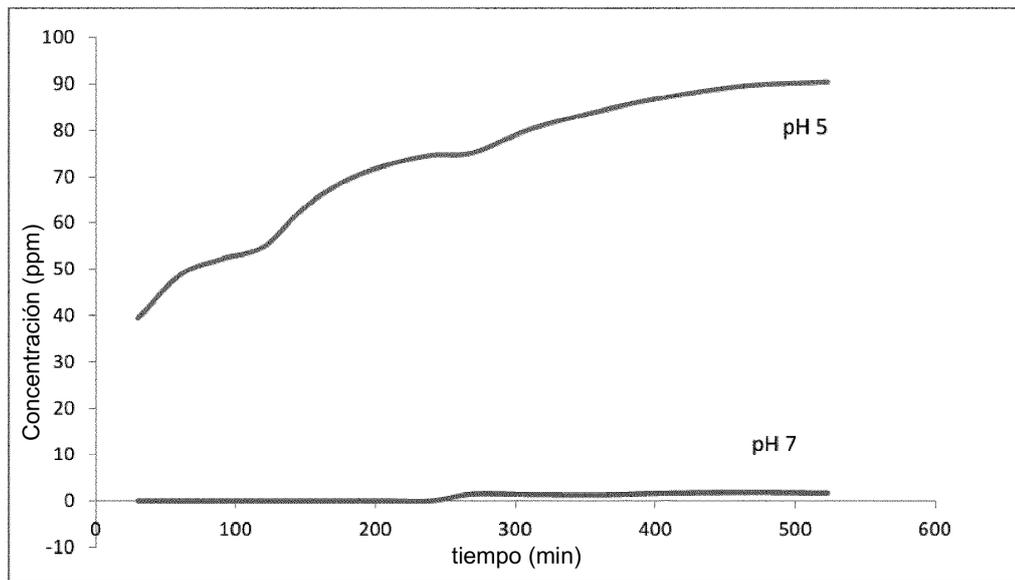


Figura 12

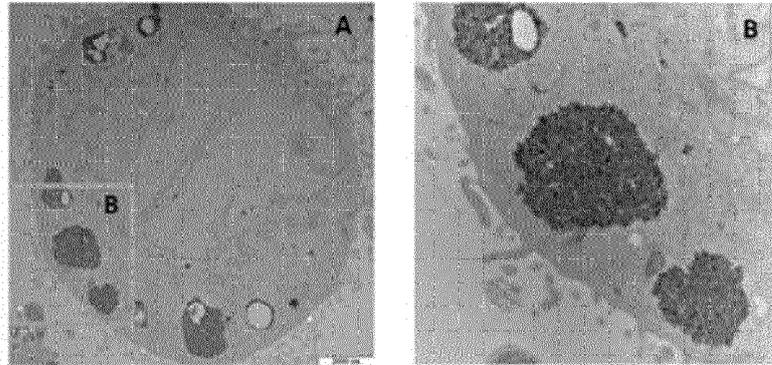


Figura 13

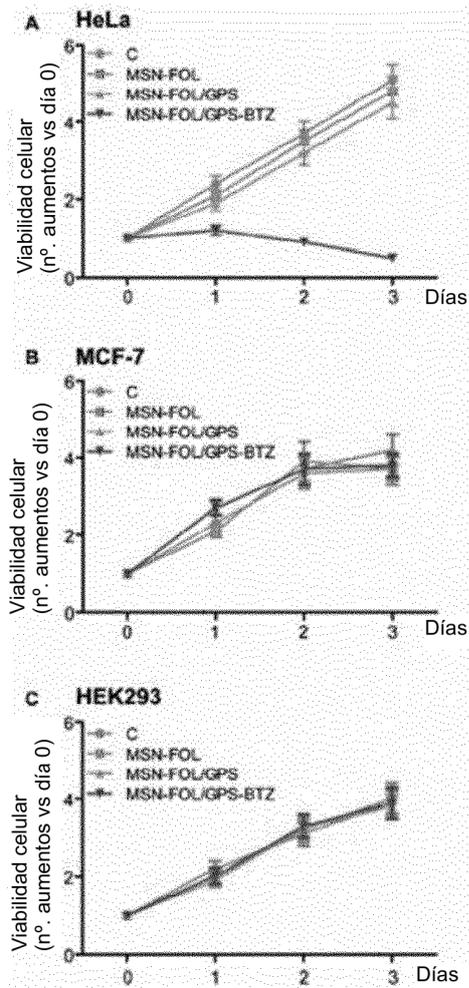


Figura 14