

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 063 942**

21 Número de solicitud: 202430766

51 Int. Cl.:

C08G 83/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/34 (2007.01)

A61K 48/00 (2006.01)

C07F 7/08 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

26.09.2024

43 Fecha de publicación de la solicitud:

21.04.2026

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ (100,00%)
Plaza de San Diego, s/n
28801 Alcalá de Henares (Madrid) ES

72 Inventor/es:

GARCÍA GALLEGO, Sandra;
DE LA MATA DE LA MATA, Francisco Javier;
JIMÉNEZ RUIZ, Antonio;
DE LUCIO ORTEGA, Héctor Elessar y
MUÑOZ SÁNCHEZ, Silvia

54 Título: **DENDRÍMEROS DE ESTRUCTURA CARBOSILANO SENSIBLES A LA VARIACIÓN DEL PH Y SU USO COMO AGENTES DE TRANSFECCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN CÉLULAS HUMANAS**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a dendrímeros de estructura carbosilano con capacidad de respuesta a pH, y su uso como agentes para la transfección de ácidos nucleicos (RNA, DNA) en función del pH. También se refiere a los dendrones que conforman estos dendrímeros y a partir de los cuales se originan, y los métodos de síntesis química de los dendrímeros a partir de dichos dendrones. La invención proporciona un procedimiento para su aplicación en el área de la biomedicina.

ES 3 063 942 A1

DESCRIPCIÓN

DENDRÍMEROS DE ESTRUCTURA CARBOSILANO SENSIBLES A LA VARIACIÓN DEL PH Y SU USO COMO AGENTES DE TRANSFECCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN CÉLULAS HUMANAS

5

CAMPO DE APLICACIÓN

10 La presente invención proporciona moléculas y procedimientos de aplicación en el área de la biomedicina. Los materiales de la invención son eficaces agentes de transfección para el transporte y liberación de ácidos nucleicos, y son útiles para su aplicación en medicina. Se presentan ejemplos de su actividad como vectores de transfección de RNA mensajero (mRNA) en distintas líneas celulares y de su respuesta a pH.

15 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Desde el estallido de la pandemia de COVID-19, las terapias basadas en la administración de ácidos nucleicos, particularmente de RNAs mensajeros (mRNAs), están irrumpiendo con fuerza como alternativas para el tratamiento y/o profilaxis de patologías con dianas terapéuticas establecidas como enfermedades infecciosas, cánceres, enfermedades inmunitarias y enfermedades hereditarias. Estas terapias permiten manipular la expresión génica o producir proteínas terapéuticas. Sin embargo, independientemente de su mecanismo de acción terapéutica, algunas de las propiedades de los mRNAs como son su gran tamaño, elevada carga negativa, escasa biodisponibilidad y susceptibilidad a la degradación por las RNasas presentes tanto en el torrente sanguíneo como en los tejidos, dificultan su entrada en las células y la ejecución de sus funciones terapéuticas de forma autónoma. Para superar estos obstáculos, los mRNAs requieren de sistemas de administración que los protejan de la degradación y los distribuyan a los lugares de acción para que produzcan los efectos terapéuticos deseados.

La mayoría de los sistemas aprobados para la administración de terapias basadas en mRNAs son nanopartículas de origen lipídico (LNPs), que están compuestas por múltiples capas lipídicas y microdominios de lípidos y mRNAs. Las LNPs muestran limitaciones derivadas de la necesidad del empleo de bajas temperaturas para su

conservación y de la complejidad de desarrollar procesos de escalado en su producción como consecuencia del empleo de técnicas de microfluídica.

Una alternativa al uso de LNPs son los vectores poliméricos, de gran interés dada su
5 versatilidad y facilidad de manipulación. En este grupo destacan los vectores basados
en polímeros catiónicos como la polietilenimina, los poliaminoácidos como la polilisina,
las nanopartículas de poliésteres como los poli(β -amino-ésteres) o el poli(ácido láctico-
co-glicólico), polímeros naturales como el quitosano o la protamina combinados con
10 desventajas que limitan su uso como sistemas de administración de mRNAs. Entre ellas,
destaca la variabilidad entre lotes (polímeros naturales) o la ineficiente interacción con
los mRNAs debido a su carencia de cargas catiónicas (poliésteres).

Los dendrímeros catiónicos son un tipo de vector polimérico que trata de superar dichas
15 desventajas, ya que presentan una gran reproducibilidad entre lotes y una gran
interacción, basada en la complementariedad de carga con los ácidos nucleicos. Los
dendrímeros son polímeros sintéticos altamente ramificados con estructuras radiales
bien definidas y multivalencia cooperativa. La naturaleza multivalente, multifuncional y
monodispersa de los dendrímeros ofrece importantes ventajas como vectores de
20 transfección, y también en otras aplicaciones como biosensores, fármacos, agentes de
diagnóstico y sistemas de administración de ácidos nucleicos y fármacos. Entre los
dendrímeros catiónicos, los dendrímeros de tipo poli(amidoamina) (PAMAM)
constituyen las moléculas más ampliamente exploradas para la administración de
ácidos nucleicos. A pesar de su relativa citotoxicidad, los dendrímeros PAMAM se han
25 utilizado principalmente para administrar DNAs plasmídicos y RNAs de silenciamiento
(siRNAs). Sin embargo, debido al auge experimentado por las terapias basadas en
mRNAs a raíz de la COVID-19, también se está empezando a explorar su capacidad
como vectores para la administración de mRNAs. No obstante, cabe destacar que, hasta
la fecha, los intentos de transportar mRNAs utilizando dendrímeros PAMAM han sido
30 infructuosos y únicamente se ha podido utilizar una versión modificada de estos
dendrímeros en combinación con lípidos con polietilenglicol. Este último sistema de
administración presenta limitaciones derivadas de su inestabilidad y su corta vida útil.

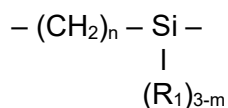
En el campo de la biomedicina, los sistemas dendríticos de tipo carbosilano han
35 demostrado ser muy versátiles en su aplicación como agentes de transporte de material

genético y/o fármacos, como agentes antibacterianos, anticancerígenos o antivirales entre otras. La presencia de un esqueleto altamente lipofílico ofrece numerosas ventajas en comparación con otras moléculas dendríticas de un carácter más hidrofílico.

- 5 Por otro lado, dotar a los vectores de transfección poliméricos de capacidad de respuesta a un estímulo permite controlar con éxito la liberación del ácido nucleico. En la bibliografía se han descrito diversos vectores con respuesta a estímulos tanto endógenos (pH, redox, enzimas) como exógenos (luz, campos magnéticos, ultrasonidos), aunque la mayoría de ellos se encuentran en etapa preclínica debido a
- 10 problemas para su traslación a clínica. Entre estos problemas destaca su baja eficiencia de transfección, problemas de seguridad, la complejidad de sus procesos de producción, y la existencia de efectos no deseados, lo que limita sus aplicaciones prácticas en la actualidad.
- 15 La invención, tratando de solventar los problemas detectados en el estado de la técnica, recoge la preparación de dendrímeros de estructura carbosilano con grupos dialquilamino en la periferia derivados de dendrímeros precursores con grupos alqueno como los descritos en WO2023084140A1, o derivados de otros dendrímeros precursores novedosos con grupos alquino que se sintetizan, a su vez, a partir de
- 20 nuevos dendrones no conocidos hasta el momento.

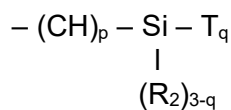
DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

- Un primer aspecto de la presente invención se refiere a un dendrón carbosilano, de acuerdo con la reivindicación 1. El dendrón consiste en un punto focal (PF), unido a una
- 25 primera unidad ramificante (UR) de esqueleto carbosilano de fórmula (I) mediante el grupo alcano de dicha UR o, alternativamente, a una primera unidad terminal (UT) de fórmula (II) mediante el grupo alcano de dicha UT y, donde la primera UR está unida mediante su átomo de silicio con o bien entre 1 y 3 URs adicionales, o bien entre 1 y 3
- 30 UTs adicionales. Las URs adicionales y las UTs adicionales están unidas al átomo de silicio de la primera UR mediante sus cadenas de alcano. Las URs adicionales están unidas mediante su átomo de silicio con entre 1 y 3 URs repetidamente y de manera concatenada, o con entre 1 y 3 UTs cada una.



(I)

- 5 En la fórmula (I), n es un número entero entre 1 y 4; m es un número entero entre 1 y 3 y corresponde al número de unidades UR o UT que se unen a un mismo átomo de Si; R1 es un grupo alquilo (C1-C4).



10

(II)

- En la fórmula (II), p es un número entero entre 1 y 4; q es un número entero entre 1 y 3; R₂ es un grupo alquilo (C₁-C₄); y T es un grupo alquino, preferiblemente acetileno (-CCH).
- 15

- Por “dendrón” se entiende a una molécula dendrítica de tipo polimérico ramificada con forma cónica. Un dendrón es la unidad básica repetitiva de un dendrímero y cuando no forma parte de la estructura de un dendrímero, puede encontrarse como una unidad ramificada unida con un punto focal (PF).
- 20

Por “dendrímero” se entiende a una molécula de tipo polimérico ramificada con forma esférica, donde el núcleo de crecimiento del dendrímero es polifuncional.

- 25 Por “molécula dendrítica de naturaleza carbosilano” se entiende, en todos los aspectos de la invención, a un dendrón o a un dendrímero según las definiciones anteriores, donde las unidades o ramas de crecimiento tienen esqueleto carbosilano, es decir, se componen de enlaces silicio-carbono y carbono-carbono.

- 30 El término “alquilo” se refiere en toda la invención cadenas alifáticas, lineales o ramificadas, que presentan de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, tert-butilo o sec-butilo, preferiblemente cadenas de 1 a 3 átomos de carbono, más preferiblemente es metilo.

- 35 Por punto focal (PF) se entiende al grupo funcional presente en el núcleo de un dendrón

al que se une este por la parte convergente de su ramificación. Cuando un dendrón se une a un núcleo multivalente o a la capa más externa de las ramificaciones de otra molécula dendrítica, lo hace a través de su parte más convergente. Al realizarse la unión dendrón-núcleo, el dendrón intercambia el punto focal por el núcleo, o lo adiciona sobre él.

Por repetidamente y de manera concatenada se entiende en todos los aspectos de la invención, que cualquier UR de una molécula dendrítica, ya sea dendrón o dendrímero, está unida mediante su átomo de silicio con entre 1 y 3 URs adicionales, y que lo mismo aplica a las URs que se puedan encontrar ya unidas a otras URs adicionales. Cuando esto sucede, la cadena de URs es más larga y existen ramificaciones en aquellas URs que están unidas simultáneamente a más de una unidad UR adicional. A la última UR de cada cadena del dendrón o dendrímero se encuentra siempre unida entre 1 y 3 UTs. De manera que la capa más externa del dendrón o dendrímero consiste, necesariamente, en UT.

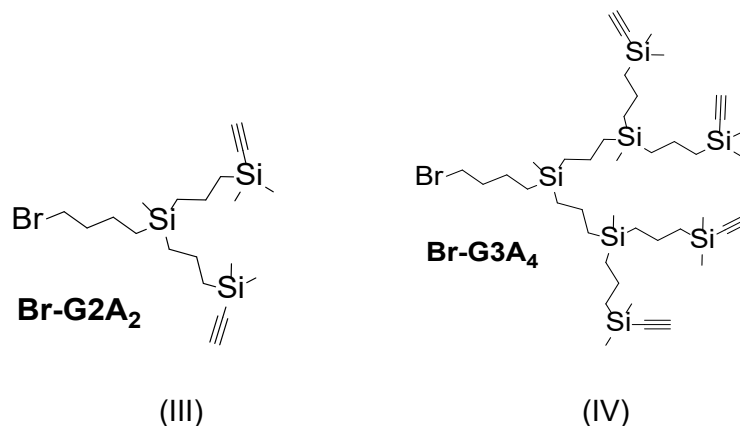
Por UR adicional, UR adicionales, se entiende en todos los aspectos de la invención, dendrón o dendrímero, unidades ramificantes que no están unidas directamente al PF del dendrón o núcleo del dendrímero, y que están unidas a otras URs.

Las moléculas dendríticas de naturaleza carbosilano descritas en la invención son preferiblemente de primera, segunda o tercera generación. El término "generación" (Gn) se refiere al número de etapas iterativas de adición de unidades dendríticas carbosilano al núcleo o PF que son necesarias para la preparación del sistema dendrítico. Dependiendo de la naturaleza del núcleo del dendrímero (divalente, trivalente, tetravalente, etc.) y del tipo de reacción utilizado (por ejemplo, click tiol-eno o click tiol-ino) el número de grupo terminales puede variar para una misma generación.

Cuando el PF del dendrón está unido con una UT, el dendrón es de primera generación. La UR inicial, unida al PF, puede ser también la última si no está unida a ninguna UR adicional. Esto da lugar a un dendrón que consiste en un PF unido a una unidad UR que a su vez está unida a entre 1 y 3 unidades terminales. Siendo éste dendrón de segunda generación. Si la UR inicial está unida a URs adicionales y estas URs adicionales están unidas a UTs, el dendrón resultante es de tercera generación. Si la UR inicial está unida a URs adicionales y estas URs adicionales están unidas a otras URs adicionales, y estas

otras URs adicionales están unidas a UTs, el dendrón resultante es de cuarta generación.

En una realización preferida, el dendrón se selecciona entre Br-G2A₂ (fórmula III) y Br-G3A₄ (fórmula IV).



10 Un segundo aspecto de la invención es el método, de acuerdo con la reivindicación 3, para la síntesis de un dendrón definido en la reivindicación 1. El método comprende una primera etapa en la que un dendrón reactivo se disuelve en éter dietílico; una etapa posterior en la que a la disolución se añade bromuro de etinil magnesio y se agita a entre 400-800 revoluciones por minuto (rpm) durante un periodo de tiempo de mínimo

15 12 horas y máximo 18, a temperatura ambiente, hasta obtener una mezcla que contiene un dendrón de fórmula I; y posteriormente se usa una solución acuosa de NaCl para lavar la mezcla obtenida, secando a continuación sobre MgSO₄, filtrando y llevando a sequedad.

20 En una realización particular, el dendrón reactivo es Br-G2(SiCl)₂ y se añaden 2,2 – 2,4 equivalentes de bromuro de etinil magnesio por cada equivalente de dendrón reactivo en la etapa (a) y el dendrón sintetizado es Br-G2A₂ (fórmula III).

En otra realización particular, el dendrón reactivo es Br-G3(SiCl)₄ y se añaden 4,4 – 4,8

25 equivalentes de bromuro de etinil magnesio por cada equivalente de dendrón reactivo en la etapa (a), y el dendrón sintetizado es Br-G3A₄ (fórmula IV).

Por dendrón reactivo se entiende, en todos los aspectos de la invención, un primer dendrón que se puede usar en la síntesis de los nuevos dendrones definidos en la

presente invención, o que puede unirse a un núcleo multivalente o superficie de una molécula dendrítica para formar los dendrímeros carbosilanos definidos en la presente invención.

- 5 Por temperatura ambiente se entiende en toda la invención una temperatura en el rango de 20 a 25 grados centígrados, ambas incluidas.

Un tercer aspecto de la invención se refiere a una molécula dendrítica que es un dendrímero carbosilano de acuerdo con la reivindicación 5 y de fórmula (V):



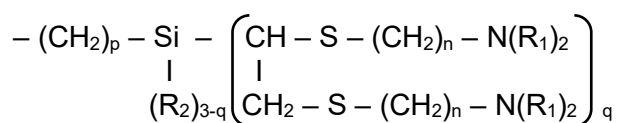
(V)

10

En la fórmula (V), Nu representa un núcleo polifuncional, que es seleccionado entre un elemento o un derivado polifuncional, y unido de manera covalente con al menos dos ramificaciones D. D es el dendrón de la reivindicación 1, o un dendrón alternativo que difiere del dendrón de 1 en sus unidades terminales. El dendrón alternativo consiste en una unidad inicial que es una UT de fórmula (VI) o (VII) o una unidad inicial que es una UR inicial de fórmula (I) unida mediante su átomo de silicio con entre 1 y 3 URs adicionales, o con entre 1 y 3 UTs de fórmula (VI) o (VII). De manera similar al dendrón de la reivindicación 1, las URs adicionales del dendrón alternativo están unidas a entre 1 y 3 URs, repetidamente y de manera concatenada, a entre 1 y 3 UT de fórmula (VI) o a entre 1 y 3 UT de fórmula (VII). x es un número entero igual o superior a 2, que define el número de ramificaciones unidas al núcleo del dendrímero.

15

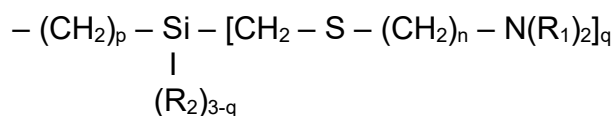
20



(VI)

En la fórmula (VI), p es un número entero entre 1 y 4; q es un número entero entre 1 y 3; R₂ es un grupo alquilo (C₁-C₄); n es un número entero entre 1 y 4; y R₁ es un grupo alquilo (C₁-C₄).

25



(VII)

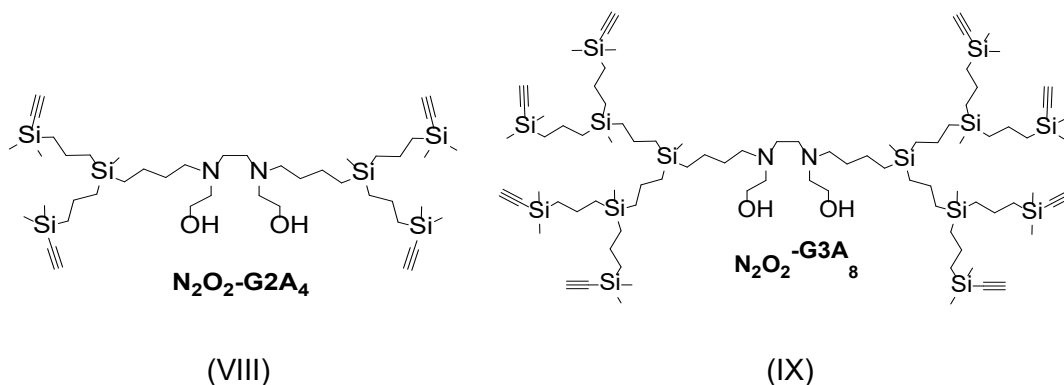
En la fórmula (VII) p es un número entero entre 1 y 4; q es un número entero entre 1 y

3; R_2 es un grupo alquilo (C_1 - C_4); n es un número entero entre 1 y 4; y R_1 es un grupo alquilo (C_1 - C_4).

5 En una realización preferida, el núcleo es divalente y más preferiblemente el núcleo es N,N' -Bis(2-hidroxietil)etilendiamina. En una realización más preferida, el dendrímero que contiene este grupo divalente como núcleo es, además, de primera, segunda o tercera generación.

10 Los dendrímeros con grupos alquino terminales pueden ser modificados mediante herramientas que se engloban dentro de la química "click", como son la cicloadición azida-alquino o la química tiol-ino. Estas reacciones se caracterizan por tener altos rendimientos, generar sólo subproductos inofensivos, ser modulares y robustas, y tener una elevada "economía de átomos", entre otras propiedades.

15 En una realización particular, el dendrímero es seleccionado entre N_2O_2 -G2A₄ (fórmula VIII) y N_2O_2 -G3A₈ (fórmula IX).

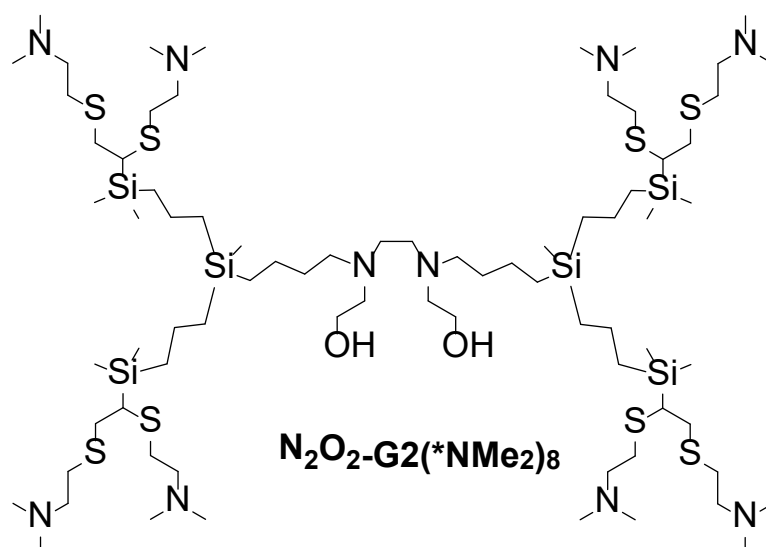


20 Los dendrímeros con grupos alquilamino en la periferia presentan una serie de ventajas como moléculas transportadoras de ácidos nucleicos. A valores de pH en el entorno de 6-7, los grupos alquilamino se encuentran protonados ($-NHR_2^+$), estableciendo una fuerte interacción con los ácidos nucleicos con cargas negativas. Al aumentar el pH, los grupos amino se van neutralizando, perdiendo fortaleza en la interacción con el ácido nucleico, y permitiendo así su liberación. Estudios realizados por los inventores han

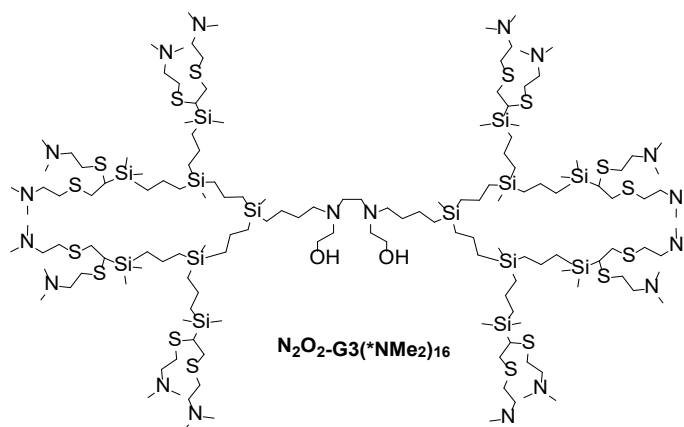
25 estimado la proporción de los distintos estados de protonación de ciertos dendrímeros a distintos valores de pH (Tabla 1). Por ejemplo, para el dendrímero N_2O_2 -G2(NMe₂)₈, a pH 6.8, se ha estimado la presencia mayoritaria del dendrímero con un solo grupo $-NR_2$ sin protonar y todos los restantes protonados; a pH 8.0, se observa la mezcla del mismo dendrímero, pero con 1 (52%), 2 (36%) y 3 (10%) grupos $-NR_2$, sin protonar; a pH 8.2,

la mezcla con 1 (36%), 2 (40%), 3 (18%) y 5 (5%) grupos $-NR_2$; y a pH 10.5, el estado de protonación mayoritario es aquel que tiene todos sus grupos desprotonados. La distribución de los distintos estados de protonación de un mismo dendrímero se ve afectada por la naturaleza de los grupos terminales. Por ejemplo, el dendrímero $N_2O_2-G2(*NMe_2)_8$ originado por química tiol-ino, presenta más grupos desprotonados al mismo pH que $N_2O_2-G2(NMe_2)_8$, obtenido por química tio-eno, lo que modificará la liberación del mRNA (ver Tabla 1). La generación dendrítica también influye, con el sistema $N_2O_2-G3(*NMe_2)_{16}$ con más grupos desprotonados que $N_2O_2-G2(*NMe_2)_8$ al mismo pH. Hay mayor tendencia a estados desprotonados conforme aumenta la generación del dendrímero. El uso de estos sistemas dendríticos como vehículo transportador de ácido nucleico permite un control del estado de protonación del vector en función del pH y, por tanto, de su capacidad de transfección. Los materiales de la invención con grupos dialquilamino terminales son eficaces agentes de transfección para el transporte y liberación de ácidos nucleico, y son útiles para su aplicación en medicina. Por eso la invención tiene un gran potencial en el área médica.

Por la misma razón, en otra realización particular, el dendrímero carbosilano de fórmula (V) tiene como unidades terminales a las UT de fórmula (VI), con grupos dialquilamino terminales. Preferiblemente, el dendrímero es seleccionado entre $N_2O_2-G2(*NMe_2)_8$ (fórmula X) y $N_2O_2-G3(*NMe_2)_{16}$ (fórmula XI).

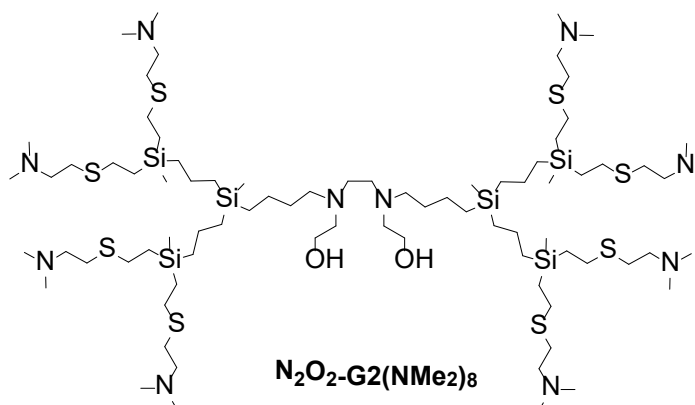


(X)

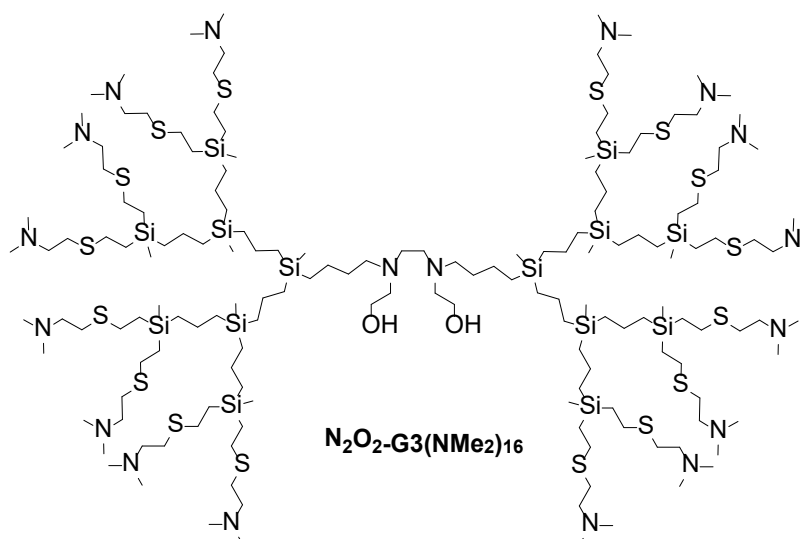


(XI)

En otra realización particular, el dendrímero carboxilano de fórmula (V) tiene como grupos terminales a la UT de fórmula (VII). Preferiblemente, el dendrímero es
5 seleccionado entre $N_2O_2-G2(NMe_2)_8$ (fórmula XII) y $N_2O_2-G3(NMe_2)_{16}$ (fórmula XIII).



(XII)



(XIII)

Por "núcleo polifuncional" (abreviado como Nu) se entiende en la presente invención a un elemento o compuesto polivalente enlazado de manera covalente con al menos dos ramificaciones, es decir, al menos deberá ser divalente. Sin embargo, el núcleo puede ser cualquier derivado polifuncional a partir del cual sea posible hacer crecer un dendrímero de naturaleza carbosilano, de los conocidos por un experto en la materia, como por ejemplo y sin limitarse, un núcleo polifenólico, o un núcleo amino o poliamino.

Un cuarto aspecto de la invención consiste en el método de acuerdo con la reivindicación 11 para la síntesis de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G2A_4$ y de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G3A_8$ definidos en la reivindicación 6, que comprende: una etapa en la que al menos un equivalente de N,N'-Bis(2-hidroxiethyl)etilendiamina, 2 equivalentes de un dendrón reactivo, 3 equivalentes de K_2CO_3 y 2 equivalentes de NaI se disuelven en acetona; una etapa posterior que consiste en agitar a 400-800 rpm la disolución durante 2-4 horas a una temperatura de 90 °C; una etapa posterior que consiste en filtrar y llevar a sequedad. El dendrímero carbosilano que se obtiene es $N_2O_2-G2A_4$ si el dendrón reactivo usado en la primera etapa descrita es Br-G2A₂, y el dendrímero carbosilano que se obtiene es $N_2O_2-G3A_8$ si el dendrímero reactivo usado en la primera etapa descrita es Br-G3A₄.

Un quinto aspecto de la invención consiste en el método de acuerdo con la reivindicación 12 para la síntesis de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G2(*NMe_2)_8$ (en forma de sal hidrocioruro) o de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G3(*NMe_2)_{16}$ (en forma de sal hidrocioruro) definidos en la reivindicación 8, que comprende: una etapa de disolver 2,4 equivalentes de 2-(dimetilamino)etanotiol hidrocioruro por cada grupo alquino en una mezcla de MeOH/THF/H₂O en proporción 1:0,5:0,5; una etapa posterior que consiste en añadir DMPA (10 mol% grupos alquino) y 1 equivalente de un dendrímero reactivo seleccionado de $N_2O_2-G2A_4$ o $N_2O_2-G3A_8$; una etapa posterior que consiste en irradiar con luz UV (365 nm) durante 24-48 horas; y una etapa posterior de llevar a sequedad y purificar mediante diálisis en agua. El dendrímero carbosilano resultante es el hidrocioruro de $N_2O_2-G2(*NMe_2)_8$ si el dendrímero reactivo es $N_2O_2-G2A_4$, y de $N_2O_2-G3(*NMe_2)_{16}$ si el dendrímero reactivo es $N_2O_2-G3A_8$.

Un sexto aspecto de la invención consiste en el método de acuerdo con la reivindicación 13 para la síntesis de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G2(NMe_2)_8$ (en forma de sal hidrocioruro) o de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G3(NMe_2)_{16}$ (en forma de sal

hidrocloruro) de acuerdo con la reivindicación 10, que comprende: una etapa de disolver 1,2 equivalentes de 2-(dimetilamino)etanotiol hidrocloruro por cada grupo vinilo, en una mezcla de MeOH/THF/H₂O (mínima cantidad para disolver los reactivos, en proporción 1:0,5:0,5); una etapa posterior en la que se añade DMPA (5 mol% grupos vinilo) y 1
5 equivalente de un dendrímero reactivo seleccionado de N₂O₂-G2V₈ o N₂O₂-G3V₁₆; una etapa en la que se irradia la mezcla con luz UV (365 nm) durante 6-8 horas; y una etapa posterior en la que se lleva la mezcla a sequedad y se purificar mediante diálisis en agua. El dendrímero carbosilano es el hidrocloruro de N₂O₂-G2(NMe₂)₈ si el dendrímero reactivo es N₂O₂-G2V₈, y de N₂O₂-G3(NMe₂)₁₆ si el dendrímero reactivo es N₂O₂-G3V₁₆.

10

Un séptimo aspecto de la invención se refiere a un nanoconjugado de acuerdo con la reivindicación 14, que comprende el dendrímero carbosilano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo; y una molécula biológicamente activa, que es un ácido nucleico; donde el
15 dendrímero carbosilano actúa como vehículo para el transporte y liberación del ácido nucleico y donde el ácido nucleico se libera en función del pH.

20

Por "molécula biológicamente activa" se entiende en la presente invención a cualquier sustancia que pueda influir en las propiedades físicas y bioquímicas de un organismo biológico, incluyendo, pero sin limitarse a, virus, bacterias, hongos, animales y seres humanos. En concreto, tal como se utiliza en el presente documento, moléculas biológicamente activas incluye cualquier sustancia prevista para el diagnóstico, la curación, el alivio, el tratamiento o la prevención de enfermedades en seres humanos u otros animales, o bien para potenciar el bienestar físico o mental de los seres humanos
25 o de los animales, incluyendo en bienestar físico sustancias para su uso en cosmética, actuando, por ejemplo, como antioxidante, hidratante, reafirmante o regenerante. Así, en el caso de la presente invención, las moléculas biológicamente activas incluyen preferentemente, pero no se limitan a ácidos nucleicos. Las clases de agentes biológicamente activos incluyen, pero no se limitan a, antiparasitarios, antibióticos,
30 fungicidas, agentes antivirales, agentes antiinflamatorios, agentes antitumorales, agentes cardiovasculares, agentes ansiolíticos, hormonas, factores de crecimiento, agentes esteroideos, agentes antioxidantes, y similares.

35

El nanoconjugado se puede usar en medicina, es decir, la invención incluye el uso del nanoconjugado, preferiblemente con excipientes y más preferiblemente junto con otras

terapias o medicamentos, como medicamento, y al uso del nanoconjugado para la elaboración de un medicamento capaz de transportar ácidos nucleicos de manera controlada mediante respuesta al pH. Estos usos incluyen el tratamiento de algunos tipos de cáncer, así como de otras enfermedades que implican un mal funcionamiento del sistema inmune. En una realización particular, la composición se encuentra en una forma adecuada para su administración tópica, oral o parenteral.

Otro aspecto de la invención se refiere al nanoconjugado para su uso en vacunas. En una realización particular, el nanoconjugado se puede usar para la elaboración de un medicamento para su uso en vacunas.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de acuerdo con la reivindicación 17 de un dendrímero carbosilano según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, como vehículo para el transporte y liberación de moléculas biológicamente activas.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Tabla 1. Distribución de los estados de protonación (porcentaje) para los distintos dendrímeros con grupos dimetilamino en función del pH. Calculado con MarvinSketch

pH	Nº grupos desprotonados	N ₂ O ₂ -G2(NMe ₂) ₈	N ₂ O ₂ -G3(NMe ₂) ₁₆	N ₂ O ₂ -G2(*NMe ₂) ₈	N ₂ O ₂ -G3(*NMe ₂) ₁₆
6.8	0	2,04	2,03	2,04	0,09
	1	93,8	93,3	93,7	3,99
	2	4,09	4,42	4,10	91,7
	3	0,08	0,19	0,18	4,01
	4		0,01	0,01	0,18
7.2	0	0,77	0,76	0,76	0,01
	1	89,0	87,6	88,3	1,52
	2	9,74	10,4	9,70	87,7
	3	0,45	1,14	1,07	9,63
	4	0,01	0,12	0,12	1,06
7.6	0	0,26	0,24	0,25	0
	1	76,2	70,9	72,5	0,05

pH	Nº grupos desprotonados	N ₂ O ₂ -G2(NMe ₂) ₈	N ₂ O ₂ -G3(NMe ₂) ₁₆	N ₂ O ₂ -G2(*NMe ₂) ₈	N ₂ O ₂ -G3(*NMe ₂) ₁₆
	2	20,9	21,2	20,0	73,1
	3	2,45	5,82	5,52	20,2
	4	0,16	1,60	1,52	5,56
	5	0,01	0,20	0,18	0,65
	6		0,02	0,01	0,04
8.0	0	0,07	0,05	0,05	0
	1	51,8	36,0	38,1	0,12
	2	35,7	27,0	26,4	42,7
	3	10,5	18,6	18,3	29,6
	4	1,70	12,85	12,7	20,5
	5	0,21	4,14	3,74	6,04
	6	0,02	1,21	0,61	0,98
	7		0,20	0,06	0,09
	8		0,02		0,01
8.4	0	0,01	0	0	0
	1	21,1	4,64	5,89	0,01
	2	36,5	8,73	10,2	10,9
	3	26,9	15,1	17,8	18,9
	4	10,9	26,3	31,0	32,9
	5	3,48	21,2	23,0	24,4
	6	0,84	15,7	9,37	9,92
	7	0,15	6,36	2,27	2,40
	8	0,02	1,53	0,32	0,52
	9		0,37	0,05	0,08
	10		0,05		0,01
pK _a	Núcleo Periferia	5,14; 9,25 8,16-9,89	5,14; 9,25 8,16-9,89	5,14; 9,25 5,44; 8,16-9,89	5,14; 9,24 5,44; 8,16-9,89

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

5

Fig. 1 Liberación del mRNA-GFP a partir del nanoconjugado con N₂O₂-G3(NMe₂)₁₆ a medida que se incrementa el pH.

10

Fig. 2 Eficiencia de transfección del dendrímero N₂O₂-G3(NMe₂)₁₆ en distintas líneas celulares humanas. Los resultados mostrados en esta gráfica corresponden a las medias de tres experimentos independientes. Las barras de error representan el error estándar de la media.

15

Fig. 3 Variación de la eficiencia de transfección del dendrímero N₂O₂-G3(NMe₂)₁₆ en distintas condiciones de pH.

EJEMPLOS

A continuación, y sin perjuicio a cualquiera de las demás realizaciones planteadas, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de
 5 manifiesto la efectividad del producto de la invención usando una serie de ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1. Liberación del ácido nucleico en función del pH.

La capacidad del dendrímero $N_2O_2-G3(NMe_2)_{16}$ para liberar un ácido nucleico de forma controlada en función del pH se demostró realizando una incubación del dendrímero con
 10 mRNA-GFP en agua y alterando posteriormente el pH mediante la adición de distintos tampones de carga que contenían glicerol (50%), azul de bromofenol (0,25%), EDTA (1 mM) y tampón Tris-acetato a pHs comprendidos entre 6,8 y 8,2. Los resultados de estos experimentos se visualizaron en geles de agarosa mediante electroforesis horizontal en
 15 condiciones no desnaturalizantes. En la Figura 1 se aprecia la liberación, a distintos valores de pH, del mRNA-GFP a partir del nanoconjugado. Las bandas correspondientes al mRNA-GFP con distintos grados de plegamiento tienen una gran movilidad electroforética, mientras que las bandas correspondientes al mRNA-GFP unido al dendrímero quedan retenidas en los pocillos del gel. A medida que aumenta el
 20 pH, se produce un aumento en la intensidad de la señal de las bandas correspondientes al mRNA-GFP y una disminución de la intensidad de la señal de las bandas correspondientes al nanoconjugado (en el pocillo).

Ejemplo 2. Capacidad para el transporte de ácidos nucleicos in vitro de los dendrímeros de la invención.

Como ejemplo de la capacidad para la carga y liberación de ácido nucleico que presentan algunos compuestos de la presente invención, se detallan los métodos de determinación empleados y los resultados obtenidos para compuestos seleccionados.

Ensayo de transfección. La eficiencia de transfección del dendrímero $N_2O_2-G3(NMe_2)_{16}$ se evaluó en cuatro líneas celulares humanas: células embrionarias de riñón (HEK-293T), células derivadas de una paciente con carcinoma cérvico uterino (HeLa), células derivadas de un paciente con carcinoma hepatocelular (HepG2) y monocitos derivados de un paciente con leucemia monocítica aguda (THP-1). Para la transfección, se disolvió
 30 el dendrímero $N_2O_2-G3(NMe_2)_{16}$ liofilizado en tampón citrato a 5 mM y pH 3 a una

concentración de 5 mg/mL (1,23 mM) para asegurar la protonación de todos los grupos amino del dendrímero. A continuación, se preparó la mezcla de transfección en un tampón HEPES a 6,25 mM y pH 6,8 que contenía el mRNA-GFP a 50 ng/μL y el dendrímero a 250 ng/μL (60 μM) en un volumen final de 20 μL y se incubó durante 15 minutos. Además, también se prepararon en paralelo las mezclas de transfección del control negativo (sin dendrímero) y de la del mRNA-GFP con el reactivo comercial Lipofectamine MessengerMAX™ siguiendo las especificaciones del fabricante. Las células se incubaron con 100 μL de las mezclas de transfección diluidas en Opti-MEM™ durante 24 h. Posteriormente, se aislaron las células y se resuspendieron en 250 μL PBS con DAPI a 1 μg/mL y se analizaron por citometría de flujo. El análisis se realizó seleccionando la población de células (P1); a continuación, la población de células vivas (P1/P2) en base a su impermeabilidad a DAPI; finalmente, la población de células vivas que eran fluorescentes debido a la expresión de GFP (P1/P2/P3). Los experimentos se realizaron con triplicados técnicos y se repitieron independientemente 3 veces (n=3).

El resultado de este ensayo avala la capacidad del dendrímero N₂O₂-G3(NMe₂)₁₆ para introducir en el interior de distintas líneas celulares humanas el mRNA de que codifica la proteína GFP. Significativamente, la eficiencia obtenida es comparable a la del agente de transfección liposomal Lipofectamine™ MessengerMAX™ (Figura 2).

Ejemplo 3. Capacidad de respuesta a pH de los dendrímeros de la invención.
Como ejemplo de la capacidad de respuesta a pH de los dendrímeros de la invención, se detalla el método de determinación empleado y los resultados obtenidos para compuestos seleccionados. Los experimentos de transfección se realizaron siguiendo el mismo protocolo ya mencionado en el ejemplo 2, pero solo en la línea celular humana HEK-293T. El pH de la mezcla de transfección en un tampón HEPES fue testado en el rango 6,8 a 8,2. Los resultados de los experimentos realizados para evaluar el impacto del pH en la eficiencia de transfección del dendrímero N₂O₂-G3(NMe₂)₁₆ (Figura 3) confirman la importancia de un control estricto de la acidez del medio.

Ejemplo 4: Preparación de dendrones carbosilano con grupos alquino periféricos.
Síntesis de Br-G2A₂.

El dendrón Br-G2(SiCl)₂ se disuelve en éter dietílico. A esta disolución, se añade lentamente bromuro de etinil magnesio (0,088 mol) y se agita 18 h a temperatura ambiente. Para purificar el compuesto, la disolución se lava con una solución acuosa de

NaCl, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se lleva a sequedad.

C₁₉H₃₇BrSi₃ (428.14 g/mol). Aceite amarillo. ¹H-NMR (400 MHz CDCl₃): 3,32 (2 H, t, Br-H₂), 2,30 (2 H, s, CCH), 1,74 (2 H, m, Br-CH₂-CH₂) 1,37 (2 H, m, Br-CH₂-CH₂-CH₂), 1,35
 5 (4 H, m, Si-CH₂CH₂CH₂-Si), 0,63 (4 H, m, Si-CH₂CH₂CH₂-Si), 0,56 (4 H, m, Si-CH₂CH₂CH₂-Si), 0,45 (Br-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂), 0,09 (12 H, s, Si(CH₃)₂), -0,10 (3 H, s, SiCH₃). ¹³C-NMR (400 MHz CDCl₃): δ 92,7 (CCH), 87,9 (CCH), 35,2 (Br-CH₂-CH₂), 32,0 (Br-CH₂), 21,2 (Br-CH₂-CH₂-CH₂), 19,3 (Si-CH₂CH₂CH₂-Si), 17,1 (Si-CH₂CH₂CH₂-Si), 16,9 (Si-CH₂CH₂CH₂-Si), 11,7 (Br-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂), -2,8 (Si(CH₃)₂), -6,1 (Si(CH₃)₃).
 10 Análisis Elemental: Calc. C, 53,11; H, 8,68. Exp.: C, 52,88; H, 9,786. m/z 428,16; Exp. 429,15 (M+H⁺).

Síntesis de Br-G3A₄.

El dendrón Br-G3(SiCl)₄ se disuelve en éter dietílico. A esta disolución, se añade
 15 lentamente bromuro de etinil magnesio (0,048 mol) y se agita 18 h a temperatura ambiente. Para purificar el compuesto, la disolución se lava con una solución acuosa de NaCl, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se lleva a sequedad.

C₄₁H₈₁BrSi₇ (848,39 g/mol). Aceite amarillo. ¹H-NMR (400 MHz CDCl₃): 3,40 (2 H, t, Br-CH₂), 2,35 (4 H, s, CCH), 1,85 (2 H, m, Br-CH₂-CH₂) 1,41 (2 H, m, Br-CH₂-CH₂-CH₂), 1,40 (4 H, m, Si-CH₂CH₂CH₂-Si) 1,30 (8 H, m, Si-CH₂CH₂CH₂-Si), 0,68 (8 H, m, Si-CH₂CH₂CH₂-Si), 0,56 (12 H, m, Si-CH₂CH₂CH₂-Si-(CH₃), Si-CH₂CH₂CH₂-Si-(CH₃)₂), 0,47 (2 H, m, Br-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂), 0,15 (24 H, s, Si(CH₃)₂), -0,08 (9 H, s, SiCH₃). ¹³C-NMR (400 MHz CDCl₃): δ 93,3 (CCH), 89,2 (CCH), 36,1 (Br-CH₂-CH₂), 33,2 (Br-CH₂),
 25 22,3 (Br-CH₂-CH₂-CH₂), 20,3 (Si-CH₂CH₂CH₂-Si-(CH₃)₂), 18,1-18,7 (Si-CH₂CH₂CH₂-Si-(CH₃), Si-CH₂CH₂CH₂-Si-(CH₃)₂), 12,7 (Br-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂), -2,0 (Si(CH₃)₂), -5,2 (Si(CH₃)₃). Análisis elemental: Calc.: C, 62,49; H, 10,49; N, 3,31. Exp.: C, 61,69; H, 10,55; N, 3,894. m/z 848,39; Exp. 849,39 (M+H⁺).

Ejemplo 5: Preparación de dendrímeros carbosilano con grupos alquino periféricos
 30

Síntesis de N₂O₂-G2A₄.

Se prepara una disolución en acetona de los siguientes compuestos: N,N'-Bis(2-hidroxiethyl)etilendiamina (1 eq.), dendrón Br-G₂A₂ (2 eq.), K₂CO₃ (3 eq.) y NaI (2 eq.). La disolución se agita a 90 °C durante 4 h, posteriormente se filtra y se lleva a sequedad,

obteniendo el producto como un aceite amarillo soluble en cloroformo. $C_{44}H_{88}N_2O_2Si_6$ (845,71 g/mol). 1H -NMR ($CDCl_3$): δ 3,62 (4H, t, CH_2OH), 2,64 (4 H, t, NCH_2CH_2OH), 2,61 (4 H, s, NCH_2CH_2N), 2,53 (4 H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 2,39 (4H, s, CCH), 1,51 (4 H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 1,41 (4 H, m, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1,39 (4 H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 0,69 (8 H, t, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 0,60 (8 H, t, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 0,52 (4 H, t, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 0,17 (24 H, s, $Si(CH_3)_2$), -0,06 (6 H, s, $SiCH_3$).

Síntesis de N_2O_2 -G3A₈.

Se prepara una disolución en acetona de los siguientes compuestos: *N,N'*-Bis(2-hidroxiethyl)etilendiamina (1 eq.), dendrón Br-G₃A₄ (2 eq.), K₂CO₃ (3 eq.) y NaI (2 eq.). La disolución se agita a 90 °C durante 4 h, posteriormente se filtra y se lleva a sequedad, obteniendo el dendrímero **5** como un aceite amarillo soluble en cloroformo. $C_{88}H_{176}N_2O_2Si_{14}$ (1687,58 g/mol). 1H -NMR ($CDCl_3$): δ 3,56 (4H, t, CH_2OH), 2,57 (4 H, t, NCH_2CH_2OH), 2,54 (4 H, s, NCH_2CH_2N), 2,47 (4 H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 2,33 (8H, s, CCH), 1,44 (4 H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 1,38 (24 H, m, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 1,24 (4 H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 0,64 (16 H, t, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 0,54 (32 H, t, $SiCH_2CH_2CH_2Si$), 0,44 (4 H, t, $NCH_2CH_2CH_2CH_2Si$), 0,11 (48 H, s, $Si(CH_3)_2$), -0,11 (18 H, s, $SiCH_3$).

Ejemplo 6: Preparación de dendrímeros carbosilano con grupos amino periféricos vía química click tiol-ino catalizada por Cu(I).

Síntesis de N_2O_2 -G2(*NMe₂HCl)₈.

Se prepara una disolución de 2-(dimetilamino)etanotiol hidrocloreuro (2,4 eq./alquino) en una mezcla de MeOH/THF/H₂O (1:0,5:0,5). A continuación, se añade el dendrímero N_2O_2 -G2A₄ (1 eq.) y DMPA (10 mol% grupos alquino). La reacción se irradia con luz UV durante 24 h. Después, se lleva a sequedad y el producto se purifica por diálisis en agua.

25

Síntesis de N_2O_2 -G3(*NMe₂HCl)₁₆.

Se prepara una disolución de 2-(dimetilamino)etanotiol hidrocloreuro (2,4 eq./alquino) en una mezcla de MeOH/THF/H₂O (1:0,5:0,5). A continuación, se añade el dendrímero N_2O_2 -G3A₈ (1 eq.) y DMPA (10 mol% grupos alquino). La reacción se irradia con luz UV durante 48 h. Después, se lleva a sequedad y el producto se purifica por diálisis en agua.

30

Ejemplo 7: Preparación de dendrímeros carbosilano con grupos amino periféricos vía química click tiol-eno fotocatalizada

Síntesis de N_2O_2 -G2(NMe₂HCl)₈.

Se prepara una disolución de 2-(dimetilamino)etanotiol hidrocloreuro (1,2 eq./vinilo) en una mezcla de MeOH/THF/H₂O (1:0,5:0,5). A continuación, se añade el dendrímero N₂O₂-G2V₈ (1 eq.) y DMPA (5 mol% grupos vinilo). La reacción se irradia con luz UV durante 8 h. Después, se lleva a sequedad y el producto se purifica por diálisis en agua.

5

Síntesis de N₂O₂-G3(NMe₂HCl)₁₆.

Se prepara una disolución de 2-(dimetilamino)etanotiol hidrocloreuro (1,2 eq./vinilo) en una mezcla de MeOH/THF/H₂O (1:0,5:0,5). A continuación, se añade el dendrímero N₂O₂-G3V₁₆ (1 eq.) y DMPA (5 mol% grupos vinilo). La reacción se irradia con luz UV durante 12 h. Después, se lleva a sequedad y el producto se purifica por diálisis en agua.

10

REIVINDICACIONES

1. Un dendrón carbosilano caracterizado por que consiste en:

un punto focal unido a un grupo alcano de una unidad ramificante inicial de
5 fórmula (I), o una unidad terminal de fórmula (II); donde,

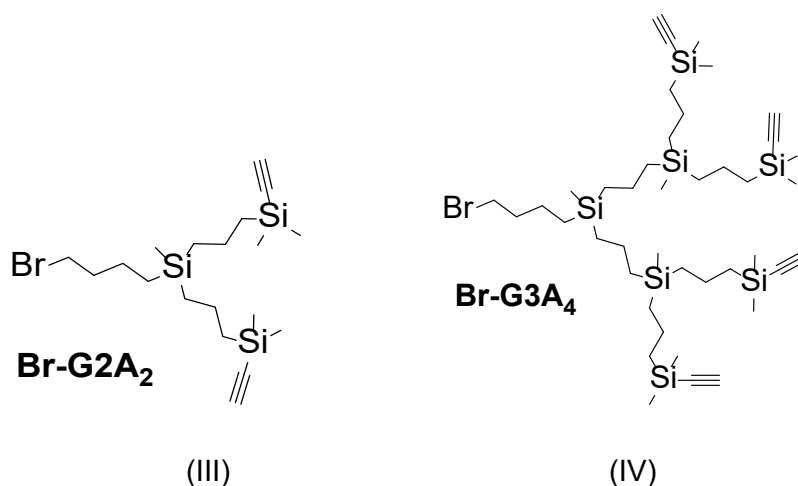
la unidad ramificante inicial está unida mediante un átomo de silicio con entre 1
y 3 unidades ramificantes adicionales de fórmula (I) o con entre 1 y 3 unidades
terminales de fórmula (II),

10 y donde cada unidad ramificante adicional está unida mediante su átomo de
silicio con entre 1 y 3 unidades ramificantes adicionales de fórmula (I) repetidamente y
de manera concatenada, o con entre 1 y 3 unidades terminales de fórmula (II);



15 donde n es un número entero entre 1 y 4; m es un número entero entre 1 y 3 y
corresponde al número de unidades ramificantes de esqueleto carbosilano adicionales
o unidades terminales que se unen a un mismo átomo de silicio; R₁ es un grupo alquilo
(C₁-C₄); p es un número entero entre 1 y 4; q es un número entero entre 1 y 3; R₂ es
un grupo alquilo (C₁-C₄); y T es un grupo alquino, preferiblemente acetileno (-CCH).

20 2. El dendrón carbosilano de acuerdo a la reivindicación 1, que es seleccionado entre
Br-G2A₂ (fórmula III) y Br-G3A₄ (fórmula IV):



3. Un método para la síntesis de un dendrón carbosilano definido en la reivindicación 1, que comprende las siguientes etapas:

(a) disolver un dendrón reactivo en éter dietílico;

5 (b) añadir bromuro de etinil magnesio a la disolución obtenida en (a) y agitar a 400-800 rpm durante 12-18 horas a temperatura ambiente, hasta obtener una mezcla que contiene el dendrón carbosilano; y,

(c) purificar el dendrón carbosilano usando una solución acuosa de NaCl para lavar la mezcla obtenida en (b), secando a continuación sobre MgSO₄, filtrando y llevando a sequedad.

10

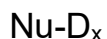
4. El método de acuerdo con la reivindicación 3, donde:

si el dendrón reactivo es Br-G2(SiCl)₂ y se añaden 2,2-2,4 equivalentes de bromuro de etinil magnesio por cada equivalente de dendrón reactivo en la etapa (a), el dendrón sintetizado es Br-G2A₂; y

15

si el dendrón reactivo es Br-G3(SiCl)₄ y se añaden 4,4-4,8 equivalentes de bromuro de etinil magnesio por cada equivalente de dendrón reactivo en la etapa (a), el dendrón sintetizado es Br-G3A₄.

5. Un dendrímero carbosilano de fórmula (V):



(V)

20

donde Nu representa un núcleo polifuncional, que es seleccionado entre un elemento o un derivado polifuncional, unido al menos con dos dendrones carbosilano de manera covalente;

donde D es el dendrón de acuerdo con la reivindicación 1; o un dendrón carbosilano que

25

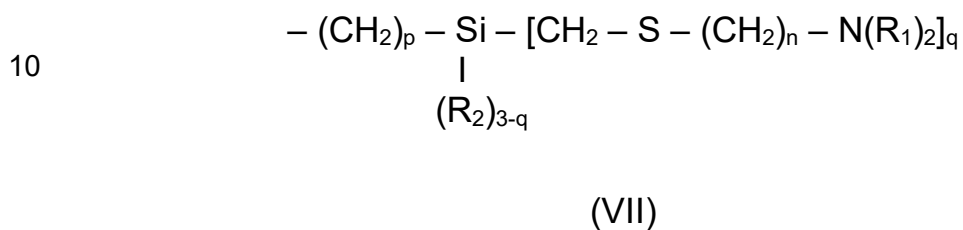
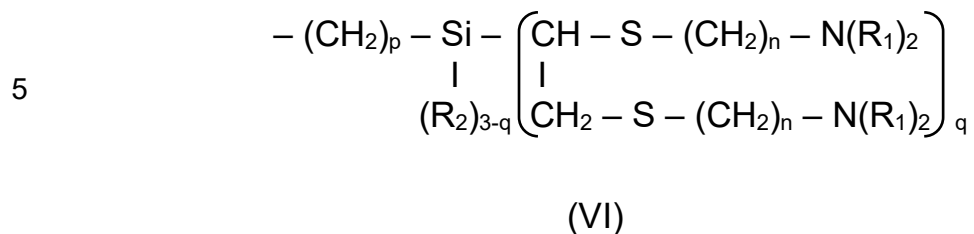
consiste en:
una unidad terminal de fórmula (VI) o (VII), o una unidad ramificante inicial de esqueleto carbosilano de fórmula (I), donde la unidad inicial está unida mediante su átomo de sílice con entre 1 y 3 unidades ramificantes adicionales de fórmula (I), o con entre 1 y 3 unidades terminales de fórmula (VI) o (VII), y donde

30

cada unidad ramificante adicional, está unida mediante su átomo de sílice con entre 1 y 3 unidades adicionales de fórmula (I) repetidamente y de manera concatenada, o con entre 1 y 3 unidades terminales de fórmula (VI) o (VII);

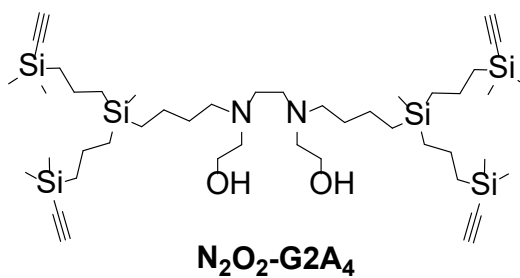
donde todas las unidades terminales son siempre de la misma fórmula; y

donde x es un número entero igual o superior a 2, que define el número dendrones unidos al núcleo del dendrímero;

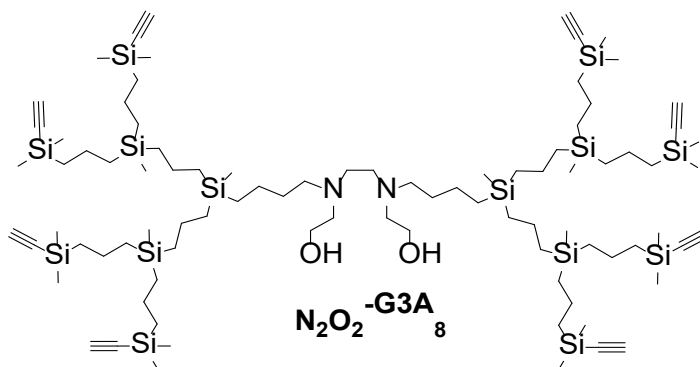


15 donde p es un número entero entre 1 y 4; q es un número entero entre 1 y 3; R₂ es un grupo alquilo (C₁-C₄); n es un número entero entre 1 y 4; y R₁ es un grupo alquilo (C₁-C₄).

20 6. El dendrímero carbosilano de acuerdo con la reivindicación 5, donde el dendrímero es seleccionado entre N₂O₂-G2A₄ (fórmula VIII) y N₂O₂-G3A₈ (fórmula IX):



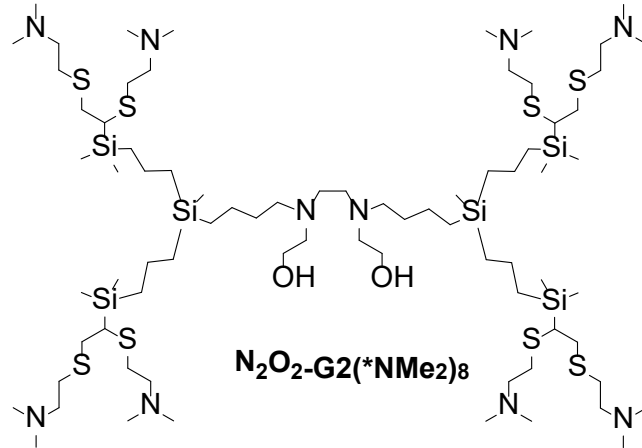
(VIII)



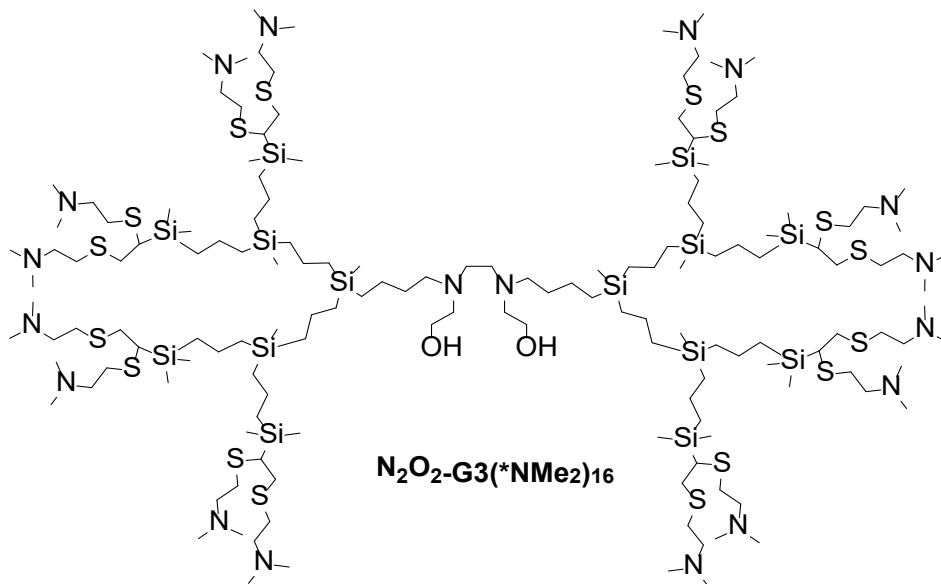
(IX)

7. El dendrímero carbosilano de acuerdo con la reivindicación 5, donde la unidad terminal es el compuesto de fórmula (VII).

5 8. El dendrímero carbosilano de la reivindicación 7, donde el dendrímero es seleccionado entre $N_2O_2-G2(*NMe_2)_8$ (fórmula X) y $N_2O_2-G3(*NMe_2)_{16}$ (fórmula XI).



(X)



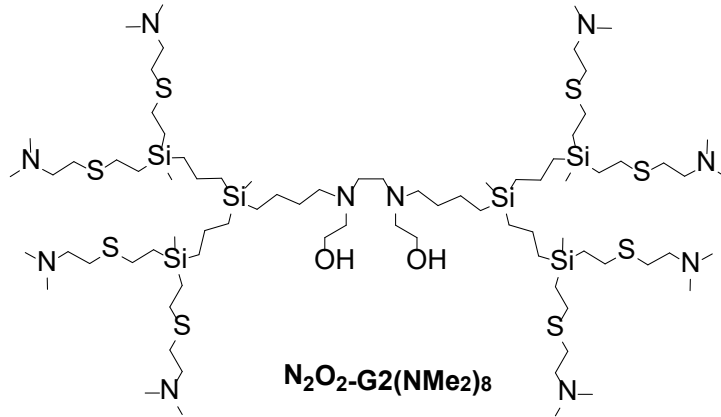
10

(XI)

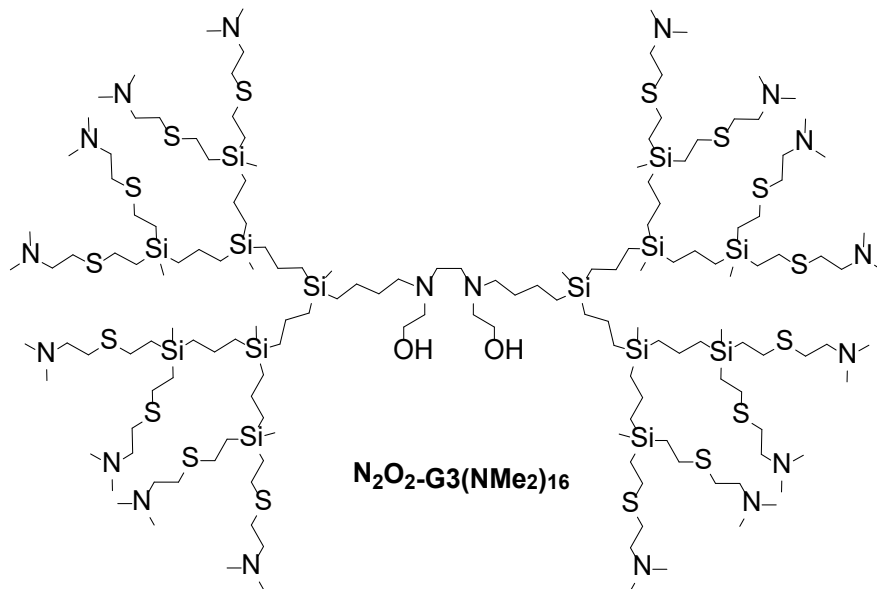
9. El dendrímero carbosilano de acuerdo con la reivindicación 5, donde la unidad terminal es el compuesto de fórmula (VIII).

15

10. El dendrímero carbosilano de la reivindicación 9, donde el dendrímero es seleccionado entre $N_2O_2-G2(NMe_2)_8$ (fórmula XII) y $N_2O_2-G3(NMe_2)_{16}$ (fórmula XIII).



(XII)



(XIII)

5

11. Un método para la síntesis de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G2A_4$ de fórmula (VIII) o de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G3A_8$ de fórmula (IX) definidos en la reivindicación 6, que comprende:

- (a) disolver, en acetona, 1 equivalente de *N,N'*-Bis(2-hidroxiethyl)etilendiamina, 2 equivalentes de un dendrón reactivo, 3 equivalentes de K_2CO_3 y 2 equivalentes de NaI;
- (b) agitar a 400-800 rpm la disolución durante 2-4 horas a una temperatura de 90 °C;

(c) filtrar y llevar a sequedad;

donde el dendrímero carbosilano es $N_2O_2-G2A_4$ de fórmula (VIII) si el dendrón reactivo es $Br-G2A_2$, y donde el dendrímero carbosilano es $N_2O_2-G3A_8$ de fórmula (IX) si el dendrímero reactivo es $Br-G3A_4$.

5

12. Un método para la síntesis de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G2(*NMe_2)_8$ de fórmula (X) o de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G3(*NMe_2)_{16}$ de fórmula (XI) definidos en la reivindicación 8, que comprende:

(a) disolver 2,4 equivalentes de 2-(dimetilamino)etanotiol hidrocloreuro por cada grupo alquino en una mezcla de MeOH/THF/ H_2O , en una proporción 1:0,5:0,5;

(b) añadir 0,1 mol de 2,2-Dimetoxi-2-fenilacetofenona por cada mol de grupos alquino y 1 equivalente de un dendrímero reactivo seleccionado entre $N_2O_2-G2A_4$ o $N_2O_2-G3A_8$;

(c) irradiar con luz UV (365 nm) durante 24-48 horas;

(d) llevar a sequedad y purificar mediante diálisis en agua;

y donde el dendrímero carbosilano es $N_2O_2-G2(*NMe_2)_8$ si el dendrímero reactivo es $N_2O_2-G2A_4$, y donde el dendrímero carbosilano es $N_2O_2-G3(*NMe_2)_{16}$ si el dendrímero reactivo es $N_2O_2-G3A_8$.

13. Un método para la síntesis de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G2(NMe_2)_8$ de fórmula (XII) o de un dendrímero carbosilano $N_2O_2-G3(NMe_2)_{16}$ de fórmula (XIII) definidos en la reivindicación 10, que comprende:

(a) disolver 1,2 equivalentes de 2-(dimetilamino)etanotiol hidrocloreuro por cada grupo vinilo, en una mezcla de MeOH/THF/ H_2O en proporción 1:0,5:0,5;

(b) añadir 0,05 mol de 2,2-Dimetoxi-2-fenilacetofenona por cada mol de grupos vinilo y 1 equivalente de un dendrímero reactivo seleccionado de $N_2O_2-G2V_8$ o $N_2O_2-G3V_{16}$;

(c) irradiar con luz UV (365 nm) durante 6-8 horas;

(d) llevar a sequedad y purificar mediante diálisis en agua;

donde el dendrímero carbosilano es $N_2O_2-G2(NMe_2)_8$ de fórmula (XII) si el dendrímero reactivo es $N_2O_2-G2V_8$, y donde el dendrímero carbosilano es $N_2O_2-G3(NMe_2)_{16}$ de fórmula (XIII) si el dendrímero reactivo es $N_2O_2-G3V_{16}$.

14. Un nanoconjugado que comprende:

el dendrímero carbosilano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones

7 a 10, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo; y

una molécula biológicamente activa, que es un ácido nucleico;

donde el dendrímero carbosilano actúa como vehículo para el transporte y liberación del ácido nucleico y donde el ácido nucleico se libera en función del pH.

5

15. Una composición farmacéutica que comprende el nanoconjugado descrito en la reivindicación 14 para su uso en medicina.

10 16. Una composición farmacéutica para uso según la reivindicación 15, que se encuentra en una forma adecuada para su administración tópica, oral o parenteral.

17. Uso de un dendrímero carbosilano según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, como vehículo para el transporte y liberación de moléculas biológicamente activas.

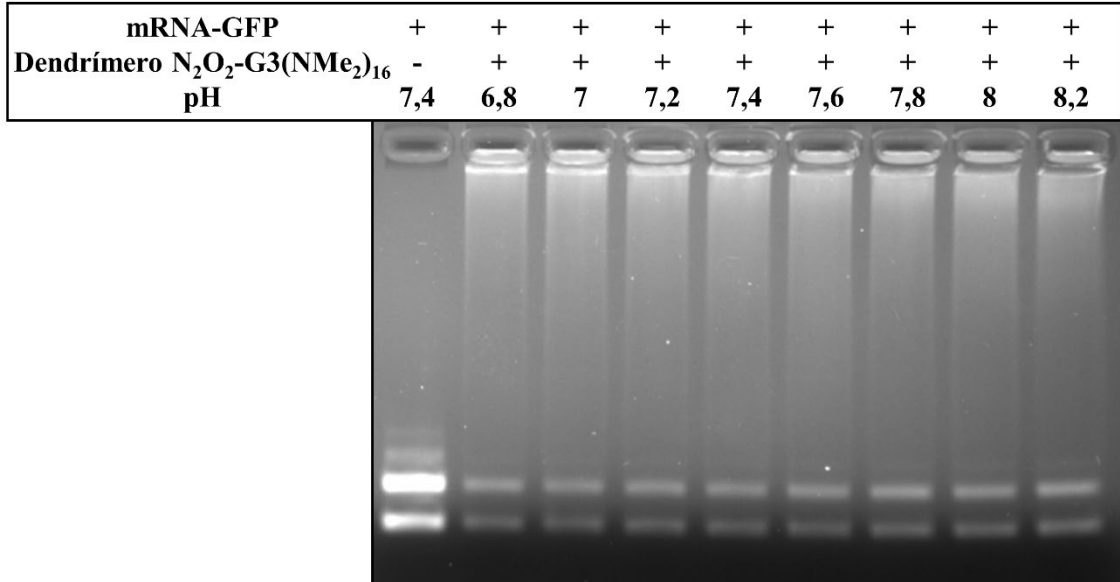


Fig. 1

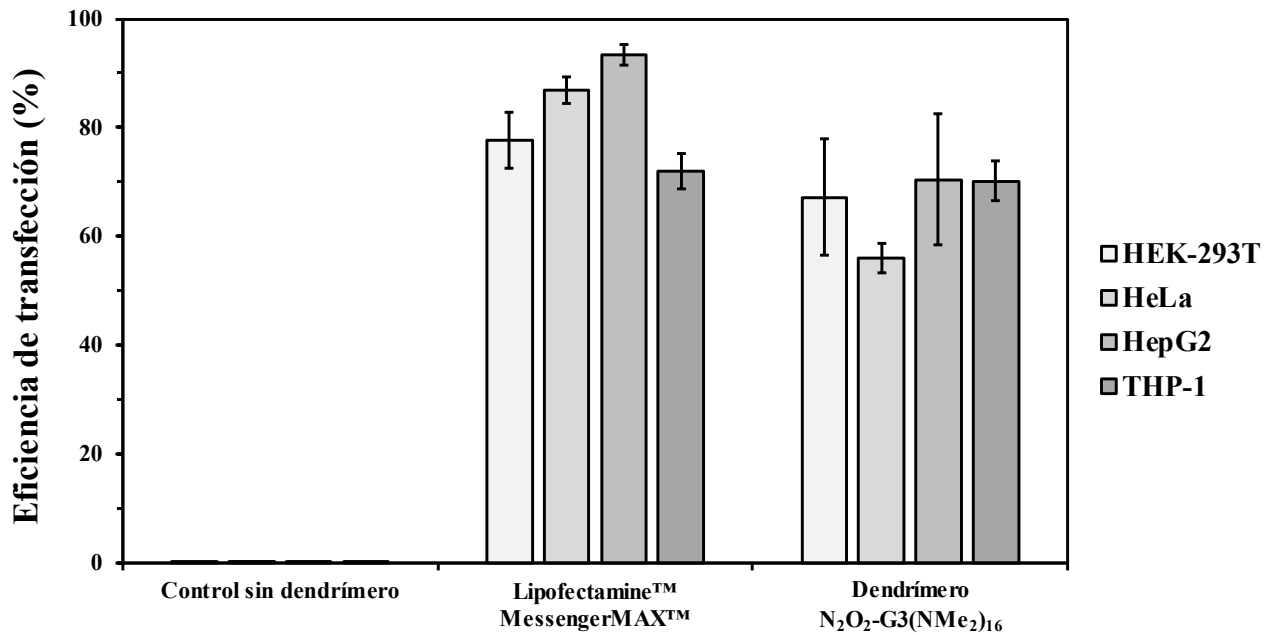


Fig. 2

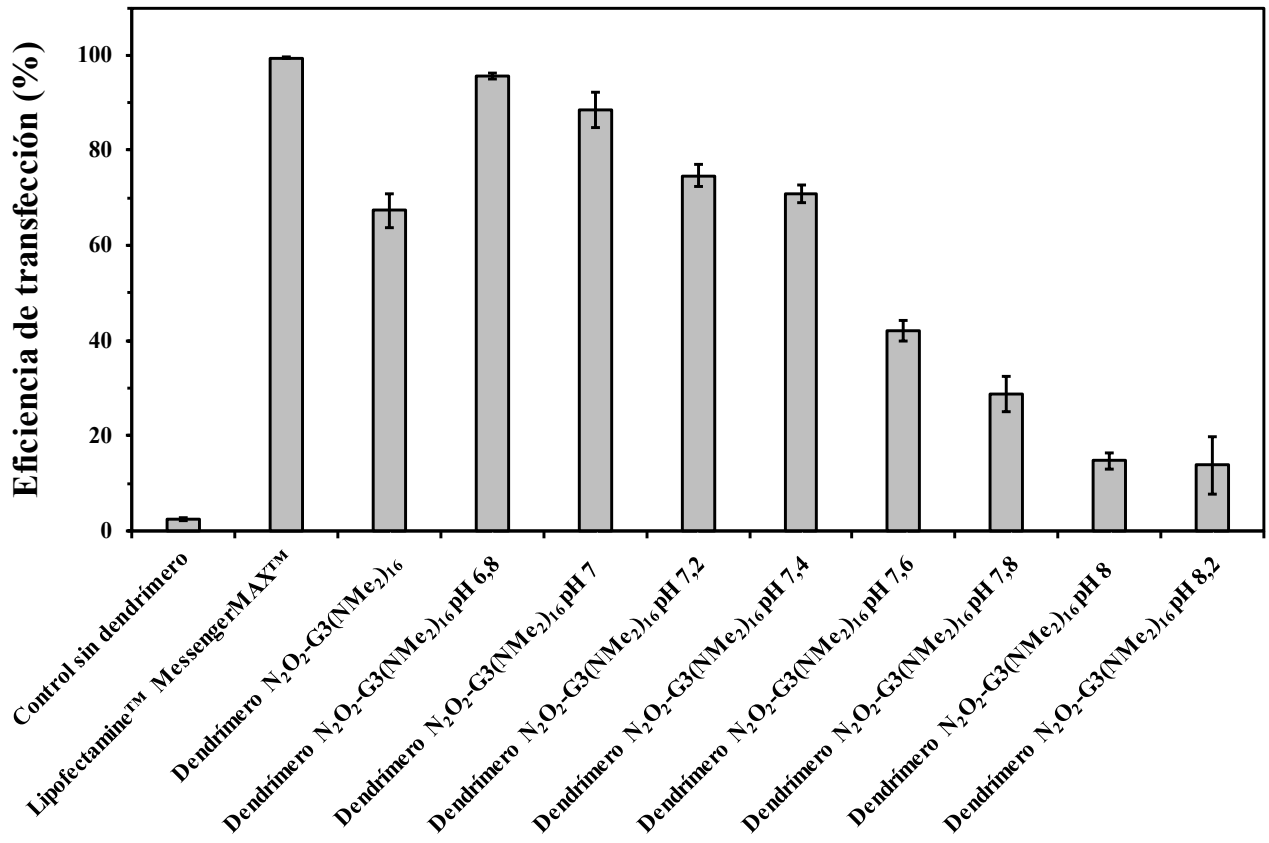


Fig. 3



- ②① N.º solicitud: 202430766
②② Fecha de presentación de la solicitud: 26.09.2024
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X Y	ES 2444490 B1 (UNIV ALCALA HENARES et al.) 04/12/2014, resumen, pág. 4 párr. 3, pág. 5 párr. 4 y 6, pág. 6 párr. 6 y 11, página 10 último párrafo.	5, 9, 14-17, 10, 13
X Y	ES 2940914 B2 (UNIV ALCALA HENARES) 16/10/2023, resumen, página 5 párrafo 4, pág. 6, pág. 13 párr. 1, pág. 14 párr. 1, ejemplos 4 y 12 y esquema 2.	5, 9, 14-17, 10, 13
A	US 6794327 B2 (YOUNGS WILEY J et al.) 21/09/2004, resumen, reivindicaciones 1-3, figuras 1a y 1b, columnas 4 y 10.	1-17
A	ES 2392994 B1 (UNIV ALCALA HENARES et al.) 24/10/2013, resumen, esquema 2, figuras 5-9 y 13, página 7 líneas 35-40.	1-17

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
12.06.2025

Examinador
B. de Luis Fernández

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C08G83/00 (2006.01)

A61K9/00 (2006.01)

A61K47/34 (2017.01)

A61K48/00 (2006.01)

C07F7/08 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C08G, A61K, C07F

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

AbS colección patentes, AbS colección literatura no patente, INVENES/LATIPAT, WPI, CAPLUS, XPESP