

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 888**

51 Int. Cl.:

**A61L 27/34** (2006.01)

**A61L 27/54** (2006.01)

**A61L 29/08** (2006.01)

**A61L 29/16** (2006.01)

**A61L 31/16** (2006.01)

12

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06733084 .5**

96 Fecha de presentación: **03.05.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1877113**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.01.2008**

54 Título: **Materiales supramoleculares activos biológicamente, modulares biorreabsorbibles o biomédicos**

30 Prioridad:  
**04.05.2005 EP 05103764**  
**11.05.2005 US 679671 P**  
**21.11.2005 EP 05111018**

73 Titular/es:  
**SUPRAPOLIX B.V.**  
**EUTECH-PARK, MMP 1.29, HORSTEN 1**  
**5612 AX EINDHOVEN, NL**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**20.03.2012**

72 Inventor/es:  
**DANKERS, Patricia, Yvonne, Wilhelmina;**  
**HOORNE - VAN GEMERT, Gaby, Maria, Leonarda;**  
**JANSSEN, Henricus, Marie;**  
**MEIJER, Egbert, Willem y**  
**BOSMAN, Anton, Willem**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**20.03.2012**

74 Agente/Representante:  
**Tomas Gil, Tesifonte Enrique**

**ES 2 376 888 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

Materiales supramoleculares activos biológicamente, modulares biorreabsorbibles o biomédicos

### 5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La invención se refiere a nuevos materiales supramoleculares biorreabsorbibles o biomédicos que son biológicamente activos, así como a un proceso para preparar tales materiales biorreabsorbibles o biomédicos de un modo supramolecular y/o modular, para obtener materiales que permiten un ajuste fácil de las propiedades materiales, propiedades de biorresorción y/o bioactividad haciendo uso de interacciones reversibles supramoleculares. Más específicamente, la apariencia, la fuerza mecánica, la elasticidad, la biorresorción y la bioactividad se ajustan mediante el uso de estas interacciones supramoleculares reversibles. Los nuevos materiales de esta invención se pueden usar en una variedad de aplicaciones biomédicas que se beneficiarán de dichas propiedades incluyendo composiciones de revestimiento biomédicas.

15

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] Se sabe que una amplia variedad de materiales biomédicos o biorreabsorbibles se basan principalmente en poliésteres alifáticos (Uhrich et al. Chem. Girar. 99, 3181-3198, 1999). Las propiedades mecánicas de materiales biomédicos o biorreabsorbibles actuales están fuertemente relacionadas con sus altos pesos moleculares que están en general por encima de 100 kDa, la presencia de enlaces químicos cruzados, y la presencia de dominios cristalinos en estos polímeros. Aunque los dominios cristalinos son beneficiosos para las propiedades mecánicas del material (resistencia y elasticidad), tienen en verdad un impacto fuerte en el proceso de biodegradación del material como la biodegradación de dominios cristalinos es en general muy lenta y dominios cristalinos pueden causar respuestas inmunológicas. Por otra parte, la necesidad de polímeros de peso molecular alto, para obtener las propiedades materiales deseadas, implica normalmente una necesidad de temperaturas de tratamiento altas, y estas son desfavorables conforme los procesos de degradación térmica se hacen más probable, especialmente cuando especies biológicamente activas están implicadas.

20

[0003] Hay también diferentes ejemplos de especies biológicamente activas que han sido de fijadas manera covalente a polímeros para usos biomédicos. Especialmente, promotores de adhesión celular a base de oligopéptidos tal como secuencias RGD han tenido una atención considerable en este aspecto. Péptidos RGD han sido fijados de manera covalente a un polímero sintético mediante la copolimerización de monómeros con RGD, para obtener polinorbomenos activos biológicamente (Grubbs et al., J. Am. Chem. Soc. 123, 1275, 2001). Desafortunadamente, de esta manera sólo fue posible obtener polinorbomenos biológicamente activos, un polímero que no es biorreabsorbible, y uno necesita química compleja para cambiar la biofuncionalidad específica. Como resultado, uno se limita en la cantidad y elección de (combinaciones) de moléculas biológicamente activas. En consecuencia, este enfoque carece de libertad en la elección de polímeros y bioactividades.

30

[0004] La secuencia RGD biológicamente activa ha sido también fijada de manera covalente a alginatos, un polisacárido de origen natural (Mooney et al., Biomaterials 20, 45, 1999). Los materiales de hidrogel resultantes muestran una proliferación mejorada de células de mioblasto. No obstante, la química de carbodiimida específica se necesita para introducir la bioactividad y se pueden usar sólo materiales basados en alginatos, limitando así las propiedades biomédicas o biorreabsorbibles y mecánicas del material resultante. Por otra parte, polímeros de fuentes naturales, tal como polisacáridos, son generalmente costosos y puede mostrar diferencias de calidad cuando lotes diferentes son comparados. Como la producción de polímeros sintéticos es más controlada, polímeros sintéticos son preferidos porque una calidad constante puede ser asegurada.

40

[0005] Otros conocidos en la técnica son los recubrimientos biomédicos que se utilizan para mejorar la biocompatibilidad de dispositivos médicos. Por ejemplo, *stents* se pueden revestir para reducir la trombosis (cf. por ejemplo US 6.702.850) e implantes se pueden revestir para reducir los riesgos de rechazo. Recubrimientos biomédicos pueden comprender además agentes biológicamente activos que se liberan de manera controlada. Tales recubrimientos biomédicos se pueden preparar mediante la mezcla de un agente biológicamente activo con una formulación de recubrimiento polimérica.

45

[0006] Un agente biológico activo que ha sido fijado de manera covalente a diferentes polímeros para recubrimientos biomédicos son derivados de heparina. Por ejemplo heparinas han sido copolimerizadas en sistemas depoliestireno y poli(etileno glicol) (Feijen et al., J. Mater. Sci. Matrix. Med. 4, 353, 1997), o heparinas han sido fijadas de manera covalente a poliuretanos como se divulga en el documento WO98/23307. Estos conjugados de polímero de heparina se usan como recubrimientos antitrombogénicos para estructuras que han de ser introducidas en sistemas vivos. En ambos

50

55

60

casos se usan diisocianatos aromáticos que son conocidos por su perfil de biodegradación tóxica y una cantidad relativa baja de heparina está disponible en la superficie del recubrimiento dando como resultado una baja actividad antitrombogénica.

5 [0007] Aunque se prefiere un anclaje fuerte de las moléculas biológicamente activas al esqueleto polimérico para garantizar una fuerte adhesión de célula o una bioactividad prolongada, hay también materiales en los que moléculas biológicamente activas sólo se mezclan con polímeros y por tanto no son fijadas de manera covalente a la cadena polimérica. Como consecuencia, las moléculas biológicamente activas salen del material y, por lo tanto, tales materiales sólo encuentran usos en las aplicaciones de administración de fármacos. Ejemplos son los hidrogeles y microcápsulas. 10 Desafortunadamente, en hidrogeles, el índice de administración de fármaco es difícil de ajustar, mientras estos sistemas generalmente tienen propiedades de material pobres. Adicionalmente, los enlaces cruzados químicos en su estructura limitan su comportamiento de biodegradación. Por otro lado, se preparan microcápsulas a partir de polímeros con temperaturas de transición vítrea o de fusión altas, limitando sus rendimiento mecánico. También, las microcápsulas necesitan frecuentemente solventes orgánicos bioincompatibles para procesarlos.

15 [0008] Otro ejemplo de moléculas activas biológicamente fijadas de manera no covalente son las heparinas que son ionicamente enlazadas a recubrimientos catiónicos debido a la carga negativa intrínseca de la heparina provocada por la presencia de carboxilatos y sulfonatos en la molécula, como se divulga por ejemplo en el documento US 4.229.838. No obstante, este método es más bien limitado debido a que el compuesto bioactivo se filtra a lo largo del tiempo desde la 20 superficie debido a la resistencia de unión iónica relativa baja.

[0009] Alternativamente, interacciones hidrofóbicas han sido usadas para fijar de manera no covalente heparina a superficies poliméricas mediante grupo terminal funcionalizando heparina con una cadena de alquilo (Matsuda et al., Biomacromolecules, 2, 1169, 2001). No obstante, las interacciones hidrofóbicas son más bien pobres, dando como resultado una reducción rápida en la actividad debido a la fuga de las heparinas de las superficies poliméricas. 25

[0010] En general "química supramolecular" se entiende que es la química de interacciones cooperativas, no covalentes, orientadas, múltiple (como mínimo dos). Por ejemplo, un "polímero supramolecular" es un compuesto orgánico que tiene propiedades poliméricas —por ejemplo respecto a su comportamiento reológico— debido a interacciones secundarias específicas y fuertes entre las diferentes moléculas. Estas interacciones no covalentes supramoleculares contribuyen sustancialmente a las propiedades del material resultante. 30

[0011] Polímeros supramoleculares que comprenden (macro)moléculas que contienen unidades de unión de hidrógeno pueden tener propiedades poliméricas a granel y en la solución, debido a los puente de H entre las moléculas. Sijbesma et al. (véase los documentos WO 98/14504 y Science 278, 1601, 1997) han demostrado que en casos donde la unidad de hidrógeno cuádruple autocomplementaria (unidad 4H) se usa, las interacciones físicas entre las moléculas se vuelven tan fuertes que se pueden preparar polímeros con propiedades materiales mucho mejores. 35

[0012] Diferentes polímeros telequéricos han sido modificados con unidades 4H antes, como ha sido publicado en Folmen, B.J.B. et al., Adv. Mater. 12, 874, 2000, y en Hirschberg et al., Macromolecules 32, 2696, 1999. No obstante, estos polímeros sólo contienen unidades 4H acopladas a los extremos de las cadenas poliméricas. En consecuencia, el número de unidades 4H en la macromolécula está limitado por la cantidad de grupos terminales a dos, y las unidades funcionales se localizan siempre en la periferia del polímero, limitando las propiedades mecánicas de los materiales resultantes. 40

[0013] El documento WO 02/034312 divulga polímeros a los que se fija heparina de manera covalente mediante grupos funcionales. 45

[0014] El documento WO 02/46260 divulga polímeros a base de poliuretano unidades de enlace 4H con extremos protegidos que son opcionalmente injertadas con unidades de enlace 4H adicionales 4H. Los polímeros descritos se pueden usar como adhesivo termofundible o espuma de TPU. El documento WO 02/98377 divulga una composición cosmética para el cuidado y/o tratamiento y/o maquillaje de materiales queratinosos que comprende en un medio fisiológicamente aceptable una cantidad eficaz de un polímero con grupos funcionales que son capaces de unirse a otros grupos funcionales mediante al menos tres puentes de hidrógeno. El documento WO 02/98377 se refiere explícitamente al documento WO 98/14504 y afirma que el documento WO 98/14504 no divulga un uso cosmético de los polímeros descritos en él. Los documentos WO 02/46260 y WO 02/98377 usan una química comparable o la misma como se describe en Folmen et al. y Hirschberg et al. 50 55

[0015] El documento WO 2004/016598 divulga una química para adquirir polímeros con unidades de enlace H cuádruple injertadas. Por ejemplo, poliacrilatos y polimetacrilatos con unidades 4H injertadas han sido producidas usando diferentes tipos de técnicas de polimerización. El documento WO 2004/016598 además divulga que estos polímeros son 60

adecuados para aplicaciones relacionadas con el cuidado personal, recubrimientos de superficies, tecnologías de tratamiento de imágenes, aplicaciones biomédicas, por ejemplo materiales para la liberación controlada de fármacos hasta materiales para ingeniería de tejido y formación de pastillas, adhesivos y composiciones de sellado, y agentes espesantes y ligantes.

5

[0016] El documento WO 2004/052963 divulga polisiloxanos que comprenden unidades 4H en el esqueleto polimérico. Más precisamente, se divulgan polisiloxanos que tiene (a) unidades 4H directamente incorporadas en el esqueleto polimérico, o (b) unidades 4H pendientes del esqueleto polimérico, donde las unidades 4H están unidas de manera covalente mediante un enlazador a través de un enlace de silicona-carbono.

10 No obstante, los polímeros descritos no son biorreabsorbibles.

[0017] La policaprolactona telequímica de peso molecular bajo endcapped con 4H-units ha sido descrita por Dankers et al. (Resúmenes de Papeles, 225<sup>o</sup> Reunión nacional ACS, Nueva Orleans, LA, Estados Unidos, Marzo 23-27, 2003; ven PMSE it, 88, 52, 2003). Se descubrió que películas de este material eran biocompatibles basándose en la fijación observada de células de fibroblasto a las películas. El estudio de la biodegradación de este polímero mostró la presencia de cristalitas lo que no es favorable para la biorresorción. Por otra parte, en una ponencia de Ten Cate et al. (Resúmenes de ponencias, 225<sup>o</sup> Encuentro Nacional ACS, Nueva Orleans, LA, Estados Unidos, Marzo 23-27, 2003; véase Polymer Preprints, 2003, 44(1), 618) se mostró que la elasticidad del material era más bien pobre, ya que alargamientos más allá del 130% no eran posibles.

15

[0018] Por lo tanto, hay una necesidad de materiales supramoleculares biorreabsorbibles o biomédicos que tienen propiedades mecánicas buenas y ajustables y/o biofuncionalidad ajustable. Adicionalmente, se desea que estos materiales sean ajustables en su comportamiento de biodegradación. Además, se desea que ellos éstos puedan ser fácilmente preparados y procesados. La presente invención hace frente a estas necesidades introduciendo un enfoque supramolecular modular, donde diferentes ingredientes (o módulos o componentes) son mezclados - con cada módulo aportando su propia característica específica (es decir, rendimiento mecánico, biorresorción, bioactividad, etc.) - para producir una visualización material las características combinadas. Este enfoque modular no suele ser posible fácilmente, pero es habilitado aquí, como unidades de unión de hidrógeno cuádruples (unidades 4H) se usan en al menos uno de los módulos que son aplicados, dando como resultado el contacto entre los módulos en el material final. El método presentado elimina la necesidad de síntesis extensiva covalente, ya que los experimentos de mezcla con los varios módulos puede utilizarse para afinar las propiedades del material final. Además, cada módulo se puede preparar de un modo controlado, llevando a estructuras bien definidas que dan como resultado productos de calidad alta controlable.

20

## 25 **RESUMEN DE LA INVENCION**

[0019] Es un objetivo de la presente invención el proporcionar nuevos materiales supramoleculares biorreabsorbibles o biomédicos así como el proceso para preparar tales materiales con el objetivo de obtener materiales biomédicos con mejores características que aquellos de la técnica anterior. En particular, el material supramolecular biomédico es una composición de recubrimiento supramolecular.

30

[0020] Otro objeto de la presente invención es de proporcionar supramolecular biorreabsorbible o biomédico materiales con la característica adicional que éstas son fácilmente sintonizado fino respecto a las sus características (p. ej. propiedades mecánicas, biorresorción, bioactividad, etc.). Por lo tanto, la presente invención se refiere a un material supramolecular biorreabsorbible o biomédico comprendiendo los componentes siguientes:

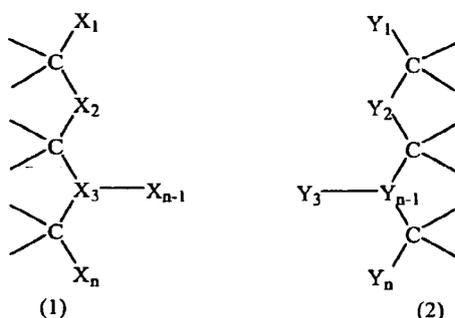
35

(a) un polímero que comprende al menos dos unidades 4H; y

40

(b) un compuesto biológicamente activo;

donde la unidad 4H se representa mediante las fórmulas generales (1) o (2):



donde los enlaces C-X<sub>i</sub> y el C-Y<sub>i</sub> representan cada uno un enlace único o doble, n es 4 o más, y X<sub>i</sub> representan donantes o aceptores que forman puentes de hidrógeno con el puente H formando unidad monomérica conteniendo una fórmula general correspondiente (2) enlazada a éstos con X<sub>i</sub> representando un donante y Y<sub>i</sub> un aceptor y viceversa. La estructura de estas unidades 4H es descrita en detalle en el documento WO 98/14505 que es expresamente incorporado por referencia.

[0021] El componente (a) es preferiblemente biorreabsorbible cuando el material supramolecular es biorreabsorbible, y según la presente invención, los términos "biorresorción" y "biorreabsorbible" abarcan procesos tal como la degradación mediada de célula, degradación enzimática y/o degradación hidrolítica del polímero supramolecular biorreabsorbible, y/o la eliminación del polímero supramolecular biorreabsorbible del tejido vivo como será apreciado por el experto en la técnica.

[0022] Además, un compuesto biológicamente activo debe ser entendido como un compuesto cosméticamente y/o farmacéuticamente activo que puede inducir un efecto bioquímico o biológico en un mamífero, pero no incluye sistemas biológicos tales como células y organelos celulares.

## DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0023]

La Figura 1 muestra la adhesión celular y la proliferación *in vitro*. Adhesión celular de fibroblasto (5·10<sup>4</sup> células/cm<sup>2</sup>) y proliferación celular en diferentes películas de depósito por goteo (Figura 1a: ejemplo 29a, Figura 1b: ejemplo 29b, Figura 1c: ejemplo 29c y identidad de figura: ejemplo 14) después dos días de cultivo celular en ausencia de FBS. En todos los casos el 4 % molar de péptido fue mezclado con el polímero del ejemplo 14. Las células fueron visualizadas en las películas poliméricas con microscopio óptico; las barras de escala representan 100 μm.

La Figura 2 muestra el comportamiento *in vivo* de materiales supramoleculares bioactivos: películas supramoleculares bioactivas de solución de fundición de los ejemplos 36a (Figura 2a) y 36c (Figura 2b), y los polímeros descubiertos de ejemplos 14 (Figura 2c) y 8 (Figura 2d) fueron subcutáneamente implantados en ratas AO macho. Las películas y tejido circundante son mostrados después de 21 días de implantación. Las muestras fueron manchadas con azul de toluidina para examen histológico. Las ampliaciones son de 200 veces. El material se indica con m. La cápsula fibrosa se muestra con c. Los vasos sanguíneos se indican con v. Las células gigantes que están injertadas en el material de la interfaz se indican con un asterisco (\*).

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0024] Al investigar los polímeros supramoleculares que comprenden unidades de unión de hidrógeno cuádruple (unidades 4H), se halló sorprendentemente que mezclando diferentes polímeros, opcionalmente modificados con unidades 4H, no sólo las propiedades mecánicas de la mezcla podían ser modificadas y mejoradas, sino también su comportamiento de biodegradación. Por otra parte, compuestos biológicamente activos, opcionalmente modificados con unidad(es) 4H, podrían ser añadidos a estos materiales, hacer al material biomédico o biorreabsorbible biológicamente o bioquímicamente activo mediante la mezcla en el compuesto biológicamente activo deseado. Por lo tanto, esta invención permite el uso de materiales biológicamente o bioquímicamente activos con propiedades mecánicas mejoradas, mientras es posible ajustar separadamente el índice de biodegradación y la bioactividad del material. Así, esta invención traspasa el nivel de la técnica en materiales biomédicos, como se introduce un modo simplificado de diseñar y preparar nuevos materiales activos biológicamente, biorreabsorbibles o biomédicos usando el enfoque supramolecular modular.

**Componente (a)**

- 5 [0025] Por consiguiente, el componente (a), es un polímero que comprende al menos dos unidades 4H, preferiblemente 2 - 50, más preferiblemente 3 - 50, incluso más preferiblemente 3 - 20, y de la forma más preferible 4 - 15 unidades 4H que son fijadas de manera covalente a la cadena polimérica. Las unidades 4H se pueden unir a los terminales de la cadena polimérica al igual que al esqueleto de la cadena polimérica o ambos. Obviamente, el material supramolecular biomédico o biorreabsorbible de esta invención puede comprender más de un componente (a), por ejemplo, polímeros de diferente naturaleza química, de diferente peso molecular, y/o diferentes números de unidades 4H. Es también posible que el componente (a) se constituya a partir de componentes de diferente naturaleza química y/o de diferente peso molecular.
- 10 [0026] Se prefiere que el componente (a) sea un polímero biorreabsorbible. No obstante, si el material supramolecular biomédico es una composición de recubrimiento supramolecular biomédica, puede ser más preferido que el componente (a) no sea biorreabsorbible.
- 15 [0027] El componente (a) puede ser cualquier tipo de polímero, es decir, el polímero puede ser de origen sintético o de origen natural, tal como quitosano, colágeno, fibrina, o proteoglicanos. No obstante, se prefiere que el componente (a) sea seleccionado del grupo que consiste en poliéteres, poliésteres alifáticos, poliésteres aromáticos, poliuretanos, poliamidas, poliacrilatos, polimetacrilatos, poliacrilamidas, (hidrogenado) poliolefinas, polisiloxanos, policarbonatos, poliortoésteres, polisacáridos, poli(N-vinilcaprolactamo), polivinilpirrolidona y polivinil alcoholes (preferiblemente parcialmente esterificados) o copolímeros a partir de estos polímeros tal como copolímero de acetato de vinilo/polivinilpirrolidona.
- 20 [0028] Según una forma de realización más preferida de la invención, el componente (a) es seleccionado del grupo que consiste en poliéteres, poliésteres alifáticos, policarbonatos, polisiloxanos y poliortoésteres. Incluso más preferiblemente, el componente (a) es seleccionado del grupo que consiste en poliéteres, poliésteres alifáticos y policarbonatos. De la forma más preferible, el componente (a) es un poliéster alifático.
- 25 [0029] En otra forma de realización más preferida de esta invención, el componente (a) es seleccionado del grupo que consiste en poliamidas, poliacrilatos, polimetacrilatos, poliacrilamidas, poli(N-vinilcaprolactamo), o copolímeros de estos polímeros.
- 30 [0030] El peso molecular del promedio en número  $M_n$  del componente (a) es preferiblemente en el intervalo de 100 a 100000, más preferiblemente de 100 a 60000, incluso más preferiblemente de 800 a 40000, de la forma más preferible de 2000 a 35000 Dalton.
- 35 [0031] Preferiblemente, el componente (a) se obtiene a partir de polímeros de peso molecular relativamente bajo con dos grupos terminales de hidroxil, grupos terminales de amino primarios, o una combinación de los mismos. Más preferiblemente, el componente (a) se obtiene a partir de polímeros de peso molecular relativamente bajo con dos grupos terminales de hidroxilo. Ejemplos de polímeros de peso molecular relativamente bajo con dos grupos terminales de hidroxil son:
- 40 (i) dioles de poliéter con una estructura de polioxialquileo y grupos terminales de OH;
- 45 (ii) poliésteres y copoliésteres con grupos terminales de OH;
- (iii) policarbonatos y copolicarbonatos con grupos terminales de OH;
- 50 (iv) poliortoésteres con grupos terminales de OH;
- (v) dioles de poliolefina hidrogenados; y
- 55 (vi) polímeros y copolímeros basados en combinaciones de estos polímeros preferidos (i) - (v).
- [0032] Ejemplos adecuados de polímeros (i) son los polieterdioles con una estructura de polioxialquileo y grupos terminales de OH, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol, poli(etileno-co-propileno) glicol (aleatorio o bloque), glicol de politetrametileno. Ejemplos de polímeros (ii) son los poliésteres y copoliésteres hechos mediante policondensación de ácidos dicarboxílicos, por ejemplo, ácido adípico, y dioles, por ejemplo 1,6-hexanediol o glicoles, o
- 60

- por policondensación de hidroxiácidos, por ejemplo, ácido láctico; poliésteres y copoliésteres hechos por polimerización por apertura de anillo de, por ejemplo,  $\epsilon$ -caprolactona, glicólido, láctido,  $\delta$ -valerolactona, 1,4- dioxano-2-one, 1,5-dioxepan-2-one, oxepan-2,7-diona, y similares. Ejemplos de polímeros (iii) son policarbonatos y copolicarbonatos basados en por ejemplo 1,6-hexanediol policarbonato, policarbonatos y copolicarbonatos hecho por polimerización por apertura de anillo de, por ejemplo, trimetilenecarbonato, 1,3-dioxepano-2-ona, 1,3-dioxanona-2-ona, 1 tetraoxacicotetradecano-2,9-diona. Un ejemplo de polímeros (iv) es un poliortoéster basado en por ejemplo 3,9-dietileno-2,4,8,10- tetraoxaspiro[5,5]undecano. Ejemplos de polímeros (v) son polibutadieno OH funcionalizado y poli(etileno-butileno) OH funcionalizado. Un ejemplo de polímeros (vi) son copolímeros en bloque OH funcionalizados de policaprolactona y polietilenglicol.
- [0033] Ejemplos de polímeros de peso molecular relativamente bajo con dos grupos amino terminales son Jeffamines® (aminas de polioxialquileo producidas y comercializadas por Hunstman), u otros poliésteres, poliamidas alifáticas o polisiloxanos.
- [0034] Preferiblemente, los polímeros tienen dos grupos hidroxilo terminales, grupos terminales de amina primarios, o una combinación de los mismos tienen un peso molecular de promedio en número  $M_n$  de 500 a y 10000, más preferiblemente de 750 a 7000.
- [0035] Según una primera forma de realización preferida de la presente invención, el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico 50,0 - 99,99 por ciento en peso de componente (a) y 0,01 - 50,0 por ciento en peso del componente (b) si ningún componente (c) está presente (véase más abajo). Más preferiblemente, el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico comprende un 70,00 - 99,99 por ciento en peso de componente (a) y un 0,01 - 30,00 por ciento en peso de componente (b). De la forma más preferible, el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico comprende 90,00 - 99,95 por ciento en peso de componente (a) y 0,05 - 10 por ciento en peso de componente (b). Todos estos intervalos de peso se basan en el peso total del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico.
- [0036] El componente (a) puede tener todo tipo de diferentes arquitecturas, por ejemplo, un (co)polímero lineal con las unidades 4H fijadas a éste como grupos terminales, y/o en el esqueleto polimérico, y/o injertadas sobre la cadena polimérica; un (co)polímero con forma de estrella con las unidades 4H fijadas a este de alguna manera covalentemente, preferiblemente como grupos terminales; una estructura dendrítica con las unidades 4H fijadas a esta como grupos terminales, y/o en los brazos dendríticos; o una estructura (multifuncional) ramificada o hiperramificada con las unidades 4H fijadas a esta como grupos terminales, y/o en las derivaciones. Los (co)polímeros pueden tener cualquier tipo de microestructura, tal como una estructura aleatoria, en bloque, segmentada o segmentada de forma aleatoria, con las unidades 4H fijadas a este copolímero de cualquier forma, tal como de extremo cubierto, incorporado en la cadena polimérica o injertada del esqueleto.
- [0037] En una forma de realización preferida de esta invención, el componente (a) comprende un polímero con forma de estrella que es (parcialmente) provisto de grupos funcionales terminales con unidades 4H, o el componente (a) comprende un polímero lineal al que se injertan diferentes unidades 4H, o el componente (a) comprende un (co)polímero lineal con las unidades 4H fijadas a éste como grupos terminales y en el esqueleto polimérico. Los intervalos preferidos del número de unidades 4H son descritas anteriormente.
- [0038] Más preferiblemente, el componente (a) comprende un (co)polímero lineal con las unidades 4H fijadas a éste como grupos terminales y en el esqueleto polimérico. De la forma más preferible, el componente (a) comprende un (co) polímero lineal con las unidades 4H fijadas a éste en el esqueleto polimérico.
- [0039] Es además preferido el uso de los componentes (a) con  $M_n$  de pesos moleculares de promedio en número relativamente bajos, preferiblemente en el intervalo de 100 a 100000, más preferiblemente de 100 a 60000, incluso más preferiblemente 800 a 40000, de la forma más preferible de 2000 a 35000, para permitir el proceso de fusión del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico a temperaturas preferiblemente inferiores a 200 °C, más preferiblemente inferiores a 150 °C, y de la forma más preferible inferiores a 100 °C, o procesarlos a partir de soluciones en concentraciones superiores al 10% en peso, preferiblemente superiores al 15% en peso.
- [0040] Opcionalmente, grupos ionogénicos o iónicos se pueden incorporar en el componente (a) para hacer el material más hidrofílico y facilitar así la solubilidad en agua o el hinchamiento en agua del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico (es decir, gelificando). Grupos ionogénicos preferidos son N-metil-dietanolamina, 2,6-bis-(hidroximetil)- piridina y ácido 2,2-bis(hidroximetil)-propiónico.
- [0041] Además, el componente (a) puede contener uno o más bloques poliméricos hidrofílicos en su cadena polimérica para facilitar la solubilidad en agua o el hinchamiento en agua del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico

(es decir, gelificando). Estos bloques poliméricos hidrofílicos son preferiblemente derivados a partir de polímeros de glicol de polietileno, preferiblemente con un  $M_n$  de peso molecular promedio en número de 200 a 50000, más preferiblemente de 500 a 6000.

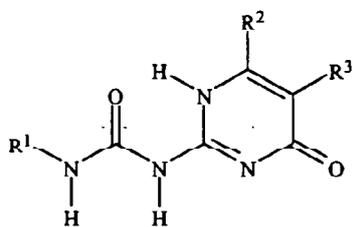
5 [0042] El componente (a) puede en particular ser usado para ajustar las propiedades mecánicas del material supramolecular biorreabsorbible de esta invención. En una forma de realización preferida de esta invención, el componente (a) tiene un alargamiento de rotura de al menos el 140%. En otra forma de realización preferida de este componente (a) de la invención tiene un e-módulo  $> 35$  MPa.

10 [0043] Preferiblemente, el componente (a) contiene al menos tres unidades 4H de media para compensar los componentes (b) si el componente (b) tiene menos de dos unidades 4H, la última opcionalmente actuando como tapón de cadena supramolecular.

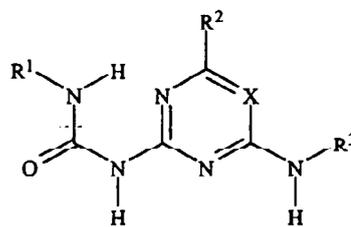
### 15 La unidad 4H

[0044] Se prefiere que en las fórmulas (1) y (2) n equivalga a 4 así y que la unidad 4H comprenda cuatro donantes o aceptores en las series  $X_1 \dots X_4$  y  $Y_1 \dots Y_4$ . La unidad 4H puede ser autocomplementario (es decir, las dos unidades conectadas de hidrógeno tienen un conjunto igual de donantes y aceptores), o no autocomplementario (es decir, las dos unidades conectadas de hidrógeno tienen dos series diferentes de donantes y aceptores). Preferiblemente, la unidad 4H comprende dos donantes sucesivos, seguidos de dos aceptores sucesivos, es decir, se prefiere que  $X_1$  y  $X_2$  sean donantes y  $X_3$  y  $X_4$  sean aceptores. Preferiblemente, los donantes y aceptores son átomos de O, S, y N. La unidad 4H es descrita en detalle en el documento WO 98/14505 y en el documento US 6.320.018 que son expresamente incorporados por referencia.

25 [0045] Según una forma de realización preferida de la presente invención la unidad 4H tiene la fórmula general (3) o la fórmula (4), y tautómeros de la misma:



(3)



(4)

30 donde X es un átomo de nitrógeno o un átomo de carbono que lleva un sustituyente  $R^8$ , preferiblemente un átomo de nitrógeno, y donde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^8$  son independientemente seleccionados del grupo que consiste en:

(a) hidrógeno;

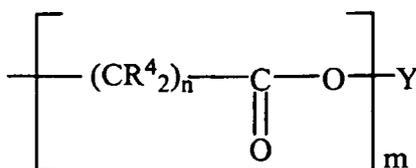
35 (b) alquilo  $C_1 - C_{20}$ ;

(c) arilo  $C_6 - C_{11}$ ;

(d) alcarilo  $C_7 - C_{12}$ ;

40 (e) alquilaril  $C_7 - C_{12}$ ;

(f) grupos de poliéster con la fórmula (5)



(5)

donde  $\text{R}^4$  e Y son independientemente seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $\text{C}_1 - \text{C}_6$  ramificado o lineal, n es 1 - 6 y m es 10 a 100;

5

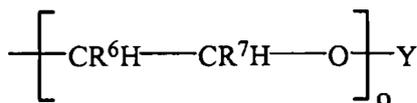
(g) grupos alquilo  $\text{C}_1 - \text{C}_{10}$  sustituidos con 1 - 4 grupos de ureido según la fórmula (6)



donde  $\text{R}^5$  es seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $\text{C}_1 - \text{C}_6$  ramificado o lineal;

10

(h) grupos de poliéter con la fórmula (7)



(7)

15

donde  $\text{R}^6$ ,  $\text{R}^7$  e Y son independientemente seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $\text{C}_1 - \text{C}_6$  ramificado o lineal y o es 10 - 100;

20

(i) grupos de oligopéptidos que consisten en secuencias de 1 a 50, preferiblemente 1 a 10, aminoácidos; y donde la unidad 4H se conecta a un esqueleto polimérico mediante  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  y/o  $\text{R}^3$  (de manera que  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  o  $\text{R}^3$  representan un enlace directo) con los otros grupos R representando, independientemente una cadena lateral según (a) - (h).

25

[0046] Según la invención,  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^8$  son preferiblemente independientemente seleccionados del grupo que consiste en grupos (a) - (h) descritos anteriormente.

30

[0047] En una primera forma de realización preferida, la unidad 4H se conecta a un esqueleto polimérico mediante  $\text{R}^1$  (de manera que  $\text{R}^1$  constituye un enlace directo), mientras  $\text{R}^2$  y  $\text{R}^3$  son independientemente cualquiera de los grupos (a) - (i) definidos anteriormente, preferiblemente el grupo (b), más preferiblemente 2-etilpentil o metilo y de la forma más preferible metilo. De la forma más preferible, la unidad 4H se une al esqueleto polimérico mediante  $\text{R}^1$  mientras que  $\text{R}^2$  es cualquiera de los grupos (a) - (h) definidos anteriormente, más preferiblemente el grupo (b), incluso más preferiblemente 2-etilpentil o metilo y de la forma más preferible metilo, y  $\text{R}^3$  es hidrógeno.

35

[0048] En una segunda forma de realización preferida, la unidad 4H se conecta a un esqueleto polimérico mediante  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  (de manera que  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  constituyen enlaces directos), mientras  $\text{R}^3$  es cualquiera de los grupos (a) - (i) definidos anteriormente, preferiblemente el grupo (a) o (b), más preferiblemente el grupo (a).

40

[0049] En una tercera forma de realización preferida, la unidad 4H se conecta a un esqueleto polimérico mediante  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^3$  (de manera que  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^3$  constituyen un enlace directo), mientras  $\text{R}^2$  es cualquiera de los grupos (a) - (i) definidos anteriormente, preferiblemente grupo (b), más preferiblemente 2-etilpentil o metilo y de la forma más preferible metilo. Esta tercera forma de realización preferida es más preferida que las primeras y segundas formas de realización preferidas.

[0050] Como será evidente para el experto en la técnica, los grupos (b) - (i) definido arriba pueden ser lineales, cíclicos o

ramificados cuando sea apropiado.

### Componente (b)

5

[0051] Adicionalmente, el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico de la presente invención comprende un compuesto biológicamente activo como un componente (b). Preferiblemente, el componente (b) es seleccionado del grupo que consiste en compuestos biológicamente activos con al menos una unidad 4H hasta un máximo de diez unidades 4H, preferiblemente una para cuatro, y de la forma más preferible dos para cuatro unidades 4H. Estas unidades 4H son fijadas de manera covalente al compuesto biológicamente activo.

10

15

[0052] Si ningún componente (c) está presente (véase abajo), entonces la cantidad de componente (b) es del 0,01 a 50,00 por ciento en peso y la cantidad de componente (a) es del 50,00 - 99,99 por ciento en peso, basado en el peso total del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico, como se ha descrito anteriormente. Según esta forma de realización, se prefiere que el intervalo de peso del componente (a) sea del 70,00 - 99,99 por ciento en peso, e incluso más preferiblemente del 90,00 - 99,95 por ciento en peso, mientras que el intervalo de peso preferido para el componente (b) es 0,01 - 30 por ciento en peso, e incluso más preferiblemente 0,05 - 10,00 por ciento en peso. Todos estos intervalos de peso se basan en el peso total del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico. Por otra parte, el componente (b) puede comprender uno o más compuestos activos biológicamente diferentes.

20

25

[0053] El compuesto activo biológicamente puede ser cualquier compuesto que muestre bioactividad como se ha descrito anteriormente. Un "compuesto activo biológicamente", como se utiliza en este caso, incluye un compuesto que es biomédicamente adecuado. Además proporciona un efecto terapéutico, diagnóstico, cosmético, medicinal o profiláctico, un compuesto que logra o participa en el crecimiento tisular, crecimiento celular, diferenciación celular, señalización celular, retorno celular, absorción de proteína, es decir, un compuesto que puede ser capaz de recurrir a una acción biológica, o podría desempeñar cualquier otro papel en uno o más procesos biológicos. Tales compuestos incluyen, pero de forma no limitativa, agentes antimicrobianos (incluyendo agentes antifúngicos y antibacterianos), agentes antivirales, agentes antitumorales, agentes antitrombogénicos, agentes anticoagulantes, agentes lubricante, agentes trazadores, fármacos, medicinas, hormonas, agentes inmunogénicos, factores de crecimiento, citocinas, quimiocinas, colorantes (fluorescentes), agentes de contraste, ácidos nucleicos tal como por ejemplo ADN mono- o bicatenario y ARN mono- o bicatenario, lípidos, lipopolisacáridos, (poli)sacáridos, vitaminas, y péptidos, polipéptidos y proteínas en general, compuestos biotinilados u otro compuesto que tiene como objetivo las moléculas biológicamente pertinentes.

30

35

[0054] Un grupo no limitativo, importante y preferido de especies que se pueden usar como componente (b) según la presente invención está formado por péptidos, polisacáridos y proteínas. Los péptidos incluyen di-, tri- y tetrapéptidos, así como oligopéptidos y polipéptidos como es sabido por el experto en la técnica.

40

[0055] En una forma de realización preferida, el componente (b) comprende un factor de crecimiento, un agente antimicrobiano, un inhibidor de trombina, o un agente antitrombogénico. Un factor de crecimiento se define como una proteína o péptido que tiene un efecto beneficioso en el crecimiento, proliferación y/o diferenciación de células vivas. Según una forma de realización más preferida de esta invención, el material supramolecular bioabsorbible es ventajosamente usado como un soporte para la ingeniería de tejido, donde el factor de crecimiento está ligado de manera no covalente a un polímero.

45

50

[0056] Ejemplos de factores de crecimiento preferidos son las proteínas morfogenéticas del hueso (BMP), factores de crecimiento epidérmico, por ejemplo, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factores de crecimiento de fibroblasto, por ejemplo, factor de crecimiento de fibroblasto básico (bFGF), factor de crecimiento nervioso (NGF), factor de crecimiento derivado del hueso (BDGF), factores de crecimiento de transformación, por ejemplo, crecimiento de transformación Factor-.beta.1 (TGF-.beta.1), y hormona del crecimiento humano (HGH).

55

[0057] Si el material supramolecular es un material supramolecular biomédico, es usado según otra forma de realización preferida como composición de recubrimiento biomédica, donde el agente antitrombogénico está ligado de manera no covalente a un polímero. Ejemplos no limitativos de agentes antitrombogénicos preferidos son la heparina, análogos de heparina, complejos de heparina, y moléculas que comprenden una fracción de glicosaminoglicano sulfonatado. El agente antitrombogénico puede también ser una heparina enlazada de manera covalente a uno o más polímeros como se describe en el documento WO 02/34312, incorporado aquí por referencia. Una clase preferida de agentes antitrombogénicos consiste en heparina, análogos de heparina, complejos de heparina, moléculas que comprenden una fracción de glicosaminoglicano sulfonatado, y polímeros heparinizados como se describe en el documento WO 02/34312.

60

[0058] Más ejemplos de péptidos o proteínas que pueden ventajosamente ser incluidos en el material supramolecular

biorreabsorbible o biomédico incluyen péptidos inmunogénicos o proteínas inmunogénicas, por ejemplo, toxinas, antígenos de superficie viral o partes de virus, antígenos de superficie bacterianos o partes de bacterias, antígenos de superficie de parásitos causantes de enfermedad o partes de parásitos, inmunoglobulinas, antitoxinas, antígenos.

5 [0059] Aunque, en vista de la inestabilidad térmica de péptidos, polisacáridos y proteínas, el método según la presente invención es particularmente útil para preparar materiales cargados con péptidos, polisacáridos y proteínas, obviamente también es posible cargar el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico con una sustancia distinta a un péptido, un polisacárido o una proteína. Tales agentes biológicamente activos que pueden ser incorporados incluyen fármacos no peptídicos, no polisacáridos y no proteínicos y compuestos inorgánicos. Es posible dentro del campo de la  
10 presente invención incorporar fármacos de una naturaleza polimérica, pero también incorporar fármacos o vitaminas de un peso molecular relativamente pequeño inferior a 1500, o incluso menos de 500.

[0060] Ejemplos de fármacos no peptídicos, no polisacáridos o no proteínicos que pueden ser incorporados incluyen lo siguiente: agentes antitumorales, agentes antimicrobianos tal como antibióticos o agentes hemoterapéuticos, agentes antifúngicas, agentes antivirales, agentes antiinflamatorios, agentes antigota, analgésico de acción central, anestésicos locales, relajantes musculares de acción central, hormonas y antagonistas de hormonas, corticosteroides tal como mineralocorticosteroides o glucocorticosteroides, androgénicos, estrógenos, progestágenos.

[0061] Ejemplos de compuestos inorgánicos, que pueden ser incorporados, incluyen, pero de forma no limitativa secuestrantes de oxígeno reactivos o extractos del hueso como la apatita o la hidroxiapatita.

[0062] El componente (b) se puede usar como tal, o puede ser modificado químicamente con una o más unidades 4H. Esta modificación química puede hacerse mediante procedimientos de síntesis orgánica regular, por ejemplo, como métodos de acoplamiento usando ésteres de succinimida, agentes reactivos de sulfhidril, azidas, (tio)isocianatos, carbodiimidas, aldehídos, o cicloadiciones dipolares [2+3] Huisgen catalizadas por Cu(I), o por procedimientos de síntesis de estado sólido regulares que son conocidas por el experto en la técnica. Por otra parte, en el caso de péptidos y proteínas, esta modificación química puede hacerse usando ligadura química nativa con un péptido o proteína que contenga un tioéster C-terminal y una unidad 4H con una cisteína N-terminal, la ligadura química nativa es conocida por los expertos en la técnica.

[0063] Opcionalmente, la unidad 4H se puede unir al componente (b) mediante un enlace (bio)degradable que puede ser escindido *in vivo*. De manera que el componente nativo (b) es gradualmente liberado del material, por ejemplo, para inducir un efecto terapéutico mejorado. Ejemplos no limitativos de enlaces divisibles son ésteres u oligopéptidos que se escinden mediante actividad enzimática, tal como la escisión del péptido Gly-Phe-Leu-Gly por cisteinaproteasas.

[0064] Adicionalmente, dos o más componentes diferentes (b) pueden estar presentes en el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico. Esto es especialmente beneficioso cuando la bioactividad se basa en interacciones polivalentes y/o sinérgicas. Un ejemplo no limitativo de tal interacción es la adhesión celular ventajosamente mediada por una combinación de RGD y péptidos PHSRN.

### Componente (c)

[0065] El material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según la presente invención preferiblemente también comprende un tercer componente (c), siendo dicho tercer componente (c) un polímero biorreabsorbible.

[0066] Preferiblemente, este polímero biorreabsorbible comprende una hasta un máximo de cincuenta unidades 4H, preferiblemente de una a treinta, más preferiblemente de dos a veinte, y de la forma más preferible de cuatro a veinte. Estas unidades 4H son fijadas de manera covalente a la cadena polimérica. El material supramolecular biorreabsorbible o biomédico de esta invención puede obviamente comprender diferentes tipos de componentes (c), donde estos componentes son, por ejemplo, de diferente naturaleza química y/o de diferente peso molecular, y pueden contener números diferentes de unidades 4H. Obviamente es también posible que estos polímeros se constituyan a partir de elementos de diferente naturaleza química y/o de diferente peso molecular.

[0067] El componente (c) puede ser cualquier polímero biorreabsorbible. No obstante, se prefiere que el componente (c) sea seleccionado del grupo que consiste en poliéteres (preferiblemente alifáticos), poliésteres alifáticos, poliésteres aromáticos, poliamidas (preferiblemente alifáticas; por ejemplo polipéptidos), policarbonatos (preferiblemente alifático), poliortoésteres, polisacáridos, polivinil alcoholes (preferiblemente parcialmente esterificados). Es incluso más preferido que el componente (c) sea seleccionado del grupo que consiste en poliéteres alifáticos, poliésteres alifáticos, poliamidas alifáticas, policarbonatos alifáticos, poliortoésteres alifáticos, polisacáridos y parcialmente esterificados polivinil alcoholes.

[0068] En otra forma de realización de esta invención, el componente (c) contiene cualquier combinación de tipos de polímeros, por ejemplo, combinaciones del grupo preferido de polímeros descrito anteriormente. Según una forma de realización preferida de la invención, el esqueleto polimérico es seleccionado del grupo que consiste en polisacáridos, poliéter y copoliésteres basados en, por ejemplo, óxido de etileno, óxido de propileno, o tetrahidrofurano; poliésteres y copoliésteres producidos mediante policondensación, basados en, por ejemplo, ácido adípico y dioles tal como glicoles o hidroxiácidos, tal como ácido láctico; poliésteres y copoliésteres producidos mediante polimerización por apertura de anillo, basados en, por ejemplo,  $\epsilon$ -caprolactona, glicólido, láctido,  $\delta$ -valerolactona, 1,4-dioxano-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona, oxepan-2,7-diona; policarbonatos y copolicarbonatos basados en, por ejemplo, 1, 6-hexanediol policarbonato; policarbonatos y copolicarbonatos producidos mediante polimerización por apertura de anillo basada en, por ejemplo, trimetilenecarbonato, 1,3-dioxepano-2-ona, 1,3-dioxanona-2-ona, 1 tetraoxacicotetradecano-2,9-diona; o poliortoésteres, basados en, por ejemplo, 3 tetraoxaspiro[5,5]undecano; polímeros y copolímeros basados en combinaciones de estos polímeros preferidos. También diferentes combinaciones de estos polímeros preferidos pueden estar presentes en el componente (c).

[0069] El peso molecular de promedio en número  $M_n$  del componente (c) está preferiblemente en el intervalo de 100 a 100000, más preferiblemente de 100 a 60000, incluso más preferiblemente 800 a 40000, de la forma más preferible de 2000 a 35000 Dalton.

[0070] El componente (c) puede tener todo tipo de diferentes arquitecturas: un (co)polímero lineal con las unidades 4H fijadas a éste como grupos terminales, y/o en el esqueleto polimérico y/o injertadas sobre la cadena polimérica; un (co)polímero con forma de estrella con las unidades 4H fijadas de alguna manera a éste, preferiblemente como grupos terminales; una estructura dendrítica con las unidades 4H fijadas a esta como grupos terminales, y/o en los brazos dendríticos; o una estructura (multifuncional) ramificada o hiperramificada con las unidades 4H fijadas a esta como grupos terminales, y/o en las derivaciones, preferiblemente sólo como grupos terminales. Los copolímeros pueden tener cualquier tipo de microestructura, tal como una estructura aleatoria, en bloque, segmentada o una estructura segmentada de forma aleatoria, con las unidades 4H fijadas a este copolímero de cualquier forma, tal como de extremo cubierto, incorporadas en la cadena polimérica o injertadas en el esqueleto.

[0071] Preferiblemente, el componente (c) comprende un polímero con forma de estrella que está provisto (parcialmente) de grupos funcionales terminales con unidades 4H, un polímero lineal en el que se injertan diferentes unidades 4H, o un (co)polímero lineal con las unidades 4H fijadas a éste como grupos terminales y en el esqueleto polimérico. Más preferiblemente, el componente (c) comprende un (co)polímero lineal con las unidades 4H fijadas a éste como grupos terminales y en el esqueleto polimérico. De la forma más preferible, el componente (c) comprende un (co)polímero lineal con las unidades 4H fijadas a éste en el esqueleto polimérico.

[0072] Como el componente (a), grupos ionogénicos o iónicos pueden opcionalmente ser incorporados en el componente (c) para hacer el material más hidrofílico y facilitando así la solubilidad en agua o hinchamiento en agua del material (es decir, la gelificación). Grupos ionogénicos preferidos son descritos para el componente (a). Además, el componente (c) puede contener uno o más bloques poliméricos hidrofílicos en su cadena polimérica para facilitar la solubilidad en agua o el hinchamiento en agua del material (es decir, la gelificación). Estos bloques poliméricos hidrofílicos son preferiblemente derivados de polímeros de polietilenglicol, preferiblemente con un  $M_n$  de peso molecular promedio en número  $M_n$  de 200 a 50000, y más preferiblemente de 500 a 6000.

#### 45 **Método de preparación del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico**

[0073] La presente invención también proporciona un método de preparación del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico. Este método comprende mezclar el componente (a), que predominantemente se atribuye a la fuerza mecánica del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico, y el componente (b) que predominantemente se atribuyen a la actividad biológica del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico. Según una forma de realización preferida de la presente invención, este método comprende componente de mezclado (a), componente (b) y componente (c), éste predominantemente modificando y/o atribuyendo a la biorresorción del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico. La mezcla de los componentes (a), (b) y (c) da como resultado materiales supramoleculares biorreabsorbible o biomédicos con las propiedades materiales deseadas. En particular, si todos los componentes comprenden unidades 4H, todos contribuirán fuertemente en interacciones físicas fuertes entre los diferentes componentes en la mezcla. En particular, se prefiere, por lo tanto, según la presente invención que todos los tres componentes (a) - (c) tengan al menos una unidad 4H. La mezcla de todos los componentes puede hacerse mediante procesos convencionales, es decir, procesamiento de la solución o procesamiento por fusión, o una combinación de ambos.

[0074] El concepto de mezcla supramolecular de los diferentes componentes también permite ajustar el comportamiento

de biodegradación de los materiales supramoleculares biorreabsorbibles o biomédicos, ya que este comportamiento viene determinado por el comportamiento de degradación de todos los componentes adicionados.

## 5 Preparación y procesamiento del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico

[0075] Según el enfoque supramolecular modular, el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico se puede obtener de tres formas diferentes: el método (i) comprende mezclar los diferentes componentes (a); (b) y opcionalmente (c) entre sí conjuntamente con un medio que consiste en uno o más solventes, en los que estos componentes son disueltos o dispersados, preferiblemente disueltos. Este primer método (i) es preferiblemente seguido de procesos para polímeros disueltos conocidos en la técnica.

[0076] Un segundo método (II) comprende la mezcla de los componentes diferentes (a); (b) y opcionalmente (c) entre sí en masa a temperaturas elevadas, preferiblemente 40° a 150°C (*vide infra*). Este segundo método (II) es preferiblemente seguido de procesos sin solvente para polímeros conocidos en la técnica.

[0077] Un tercer método (iii) comprende una combinación de los métodos (i) y (ii). Por lo tanto, el método (iii) comprende, por ejemplo, un primer componente de mezcla (b) con un componente (c) según el método (i), seguido de la mezcla del componente (a) y la mezcla de los componentes (b) y (c) según el método (ii). Alternativamente, el método (iii) comprende un primer componente de mezcla (a) con un componente (b) según el método (i), seguido de la mezcla del componente (c) y la mezcla de los componentes (a) y (b) según el método (ii). Las otras alternativas será evidentes para el experto en la técnica.

[0078] Según una forma de realización especialmente preferida de la invención, los métodos (i) y (ii) comprenden la preparación in situ de los componentes (a) y/o (c).

[0079] El procesamiento según el método (i) puede llevarse a cabo a partir de solventes orgánicos o medios acuosos, dependiendo de la solubilidad de los diferentes componentes. Preferiblemente, un solvente o una mezcla de solventes se usa que es aceptable para usos biomédicos, tal como agua, acetona, metiletilcetona, THF, DMSO, NMP, CO<sub>2</sub> supercrítico o alcoholes alifáticos, tal como etanol. El material supramolecular biorreabsorbible o biomédico es preferiblemente obtenido mediante fundición por solvente, revestimiento por inmersión, liofilización, fundición de precipitación, recubrimiento de pulverización, pintura, revestimiento por rodillos, formación de espuma, hilatura de solvente, hilado húmedo, hilado eléctrico, micro impresión de contacto, impresión por chorro de tinta, técnicas de lixiviación de partículas, técnicas de separación de fases o procesos de emulsión.

[0080] Si el material supramolecular es una composición de recubrimiento biomédica, la elección del solvente(s) debería ser de manera que se obtuviera la viscosidad deseada de la solución para el proceso de recubrimiento, preferiblemente solventes polares deberían ser usados para reducir la unión de hidrógeno entre los polímeros. Por otra parte, el solvente tiene preferiblemente un punto bajo de ebullición para facilitar la eliminación del solvente(s) después del proceso de recubrimiento, y el solvente (o mezcla de solvente) tiene preferiblemente sólo una toxicidad limitada. Por lo tanto, el secado del material supramolecular es requerido después del proceso de recubrimiento y es preferiblemente seguido de lavados extensivos con agua o agua con un tampón de pH.

[0081] Como será conocido por los expertos en la técnica, es necesario tener especial cuidado al limpiar la superficie del sustrato cuando el material supramolecular se aplica como un recubrimiento a este sustrato. Por ejemplo, la humectabilidad del sustrato se puede mejorar mediante técnicas de mordentado líquido, tal como el uso de ácido crómico, hidróxido sódico acuoso y ácido sulfúrico fumante, o técnicas de plasma-mordentado.

[0082] Procesamiento según el método (II) se realiza a temperaturas lo suficientemente altas para permitir el procesamiento de los componentes aunque las temperaturas no deberían ser demasiado altas para evitar la degradación de los diferentes componentes, especialmente el componente (b). Preferiblemente, las temperaturas de procesamiento están entre los 40 °C y los 150 °C, de la forma más preferible entre los 50°C y los 120°C. Los materiales supramoleculares biorreabsorbibles o biomédicos son obtenidos preferiblemente por extrusión, extrusión reactiva, microextrusión, modelado por deposición fundida, moldeo, laminación, soplado de película, moldeo por inyección y reacción (RIM), técnicas de hilado, prototipo rápido, o por polimerización térmica o fotopolimerización de un recubrimiento.

[0083] La cantidad de componente (a) en el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico es preferiblemente de un 50,00 - 99,99 por ciento en peso si no hay ningún componente (c) presente. Según esta forma de realización, el componente (a) está más preferiblemente presente entre el 70,00 - 99,99 por ciento en peso, y de la forma más preferible entre el 90,00 - 90,95 por ciento en peso.

5 [0084] La cantidad de componente (b) en el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico es preferiblemente 0,01 - 50,00 por ciento en peso si no hay ningún componente (c) presente. Según esta forma de realización, componente (b) es más preferiblemente presente entre 0.01 - 30.00 por ciento en peso, y de la forma más preferible entre 0,05 - 10,00 por ciento en peso.

10 [0085] Si el componente (c) está presente en el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según la invención, las proporciones de peso de los componentes (a) - (c) son preferiblemente de la siguiente manera: 20 - 59,99 por ciento en peso de (a), 0,01 - 40,00 por ciento en peso de (b), y 0,01 - 40,00 por ciento en peso de (c). Más preferiblemente, las proporciones en peso de los componentes (a) - (c) son 40,00 - 69,99 por ciento en peso de (a), 0,01 - 30,00 por ciento en peso de (b), y 0,01 - 30,00 por ciento en peso de (c). Todos los porcentajes en peso aquí listados para el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico se basan en el peso total del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico.

15 [0086] Estructuras altamente porosas se pueden obtener de los materiales supramoleculares biorreabsorbibles de esta invención mediante técnicas conocidas en la técnica, tal como liofilización, lixiviación de partículas, por ejemplo, usando sales o azúcares, y electrohilado. Estructuras altamente porosas (interconexión) o tejidos no tejidos son beneficiosos para la fijación o proliferación celular, y permiten el crecimiento de tejido dentro del soporte. Estas estructuras pueden, por ejemplo, ser usadas como soportes porosos usados en ingeniería de tejidos, como prótesis o implantes.

20 [0087] Opcionalmente, el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico puede utilizarse para preparar un hidrogel, es decir, un gel en el que el líquido es agua. Hidrogeles pueden ser obtenidos por expertos en la técnica equilibrando la proporción de componentes hidrofóbicos e hidrofílicos en los componentes (a) y opcionalmente (c) en la formulación. Materiales de hidrogel tienen un alto contenido de agua, potencialmente imitando funciones diferentes de las matrices extracelulares en el tejido. En consecuencia, los hidrogeles encuentran muchos usos en aplicaciones biomédicas tal como la administración de fármacos controlada, matrices de salida o como recubrimientos.

25 [0088] Según esta invención, ingredientes adicionales diferentes a (a); (b), u opcionalmente (c), se pueden adicionar al material tal como excipientes conocidos en la técnica tal como, por ejemplo, antioxidantes y tampones de pH.

30

### Aplicaciones

35 [0089] Los materiales biomédicos o supramoleculares biorreabsorbible según la invención son preferiblemente adecuados para aplicaciones relacionadas con aplicaciones biomédicas. En particular, los materiales supramoleculares biorreabsorbible no son sólo útiles para la administración controlada de fármacos o tecnologías de formación de imágenes médicas (por ejemplo MRI), sino también para aplicaciones cosméticas y en aplicaciones agrícolas, tal como en herbicidas y en el control de plagas.

40 [0090] Por otro lado, los materiales biomédicos son en particular adecuados como materiales para ingeniería de tejidos, materiales para la manufactura de una prótesis o un implante. Más preferiblemente, los materiales supramoleculares biomédicos son útiles para recubrimientos biomédicos con una liberación controlada de fármacos, recubrimientos biomédicos que tienen actividad antitrombogénica o antimicrobiana, recubrimientos biomédicos que han mejorado la lubricación. El recubrimiento biomédico se puede aplicar en prótesis, implantes, stents, catéteres, u otros dispositivos médicos que entran en contacto con tejido vivo. Según otra aplicación más preferida, el material supramolecular biomédico es útil como material de relleno para cirugía estética y en la cirugía plástica reconstructiva.

### EJEMPLOS

50

[0091] Los siguientes ejemplos no limitativos ilustran adicionalmente las formas de realización preferidas de la invención. Cuando no se menciona específicamente, los productos químicos se obtienen de Aldrich.

#### 55 Ejemplo 1: Preparación de UPy1

60 [0092] 1,6-Hexildiisocianato (650 g) y metilisocitosina (o 2-amino-4-hidroxi-6-metil-pirimidina, 65, 1 g) fueron suspendidos en un matraz de 2 litros. La mezcla fue agitada durante toda la noche a 100 °C bajo una atmósfera de argón. Tras el enfriamiento a temperatura ambiente, se añadió un litro de pentano a la suspensión, mientras se continuaba con la agitación. El producto fue filtrado, lavado con diferentes partes de pentano y secadas al vacío. Se obtuvo un polvo blanco. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.1 (1H), 11. 8 (1H), 10. 1 (1H), 5.8 (1H), 3.3 (4H), 2.1 (3H),

1.6 (4H), 1.4 (4H). FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ). 2935, 2281, 1698, 1668, 1582, 1524, 1256.

### Ejemplo 2: Preparación de UPy2

5

[0093] 2-Amino-4-hidroxi-5-(2-hidroxi etil)-6-metil-pirimidina (12 gramos) fue suspendida en IPDI (150 mL) y fue agitada durante toda la noche a 90 °C bajo una atmósfera de argón. Se produjo una solución clara. La solución fue enfriada y precipitada en hexano. El sólido fue filtrado, agitado en otra parte de hexano, y luego el producto fue aislado por filtración, lavado con hexano y secado del residuo. Rendimiento: 98%.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.1 (1H), 11.9 (1H), 10.2 (1H), 4.8-4.5 (1H), 4.2 (2H), 4.0-3.2 (3H), 3.1-2.9 (3H), 2.7 (2H), 2.3 (3H), 1.9-1.6 (4H), 1.4-0.8 (26H). FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 2954, 2254, 1690, 1664, 1637, 1590, 1532, 1461, 1364, 1307, 1257, 1034, 791. MALDI-TOF-MS,  $[\text{M}^+]$  = 614,  $[\text{M} + \text{Na}^+]$  = 636.

10

### Ejemplo 3: Preparación de UPy3

15

[0094] Una mezcla de metilisocitosina (10 g) y carbodiimidazol (20,7 g) en DMSO seco (50 mL) fue calentada y agitada a 100 °C bajo una atmósfera de argón durante 2 horas. El sólido resultante fue filtrado y lavado con acetona seca hasta que quedó un polvo blanco en el filtro que posteriormente fue secado al vacío y almacenado sobre  $\text{P}_2\text{O}_5$ . FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3174, 1701, 1644, 1600, 1479, 1375, 1320, 1276.

20

### Ejemplo 4: Preparación de UPy4

25

[0095] 6-(2-Etilpentil) isocitosina (0,42 g) fue disuelta en 5 mL de cloroformo. Para esta solución clara 1,1-carbonildiimidazol (CDI) (0,71 g) fue añadido. La mezcla reactiva fue agitada durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla entera fue extraída tres veces con salmuera. Los estratos de agua fueron combinados y extraídos con cloroformo. Los estratos de cloroformo combinados fueron secados con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y filtrados. La estrato orgánico restante fue secada bajo presión reducida dando como resultado un polvo ligero amarillo en un rendimiento del 66%.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.8 (1H), 7.6 (1H), 7.1 (1H), 5.8 (1H), 2.5 (1H), 1.7 (4H), 1.3 (4H), 1.0 (3H), 0.9 (3H).

30

### Ejemplo 5: Preparación de UPy5

35

[0096] UPy3 (0,9 g) y 1,6-diaminohexano (0,54 g; 1,1 eq.) fueron agitados durante 72 horas a temperatura ambiente en 15 mL de THF. La mezcla fue mantenida bajo argón. Se añadió etanol (25 mL), y la suspensión fue agitada durante media hora. El sólido fue filtrado, lavado con varias partes de 10 mL de etanol y secado. Dando como resultado 0,86 g de 2(6-aminohexilaminocarbonilamino)-6-metil-4[1H]pirimidinona.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$  con una gota de  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ):  $\delta$  = 5.9 (1H), 3.2 (2H), 2.9 (2H), 2.2 (3H), 1.7-1.2 (8H).

40

### Ejemplo 6: Preparación de UPy6

45

[0097] Se añadió metilisocitosina (5,2 gramos) a isoforonedisocianato (IPDI, 50 mL) y posteriormente se agitó a 90 °C bajo una atmósfera de argón durante 3 días. La solución clara resultante fue precipitada en heptano. El gom blanco fue recogido, calentado en 150 mL de heptano, enfriado en hielo y filtrado. El mismo procedimiento fue repetido una vez más con el residuo blanco, dando como resultado un polvo blanco que consiste en ureidopirimidinona con una unidad de IPDI. Este producto (10,22 g) fue disuelto en cloroformo (20 mL), y luego se añadieron hidroxietil acrilato (HEA, 3,6 mL) y 1 gota de dilaurato de dibutilestaño (DBTDL) fueron adicionados. La mezcla fue agitada a una temperatura de baño de aceite de 65 °C durante 4 horas, y fue luego enfriada y filtrada. El filtrado fue concentrado y depositado por goteo en un exceso de dietiléter. El precipitado fue recogido por filtración, y fue lavado con dietiléter. El secado al vacío dio un producto sólido.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.1 (1H), 11.7-12.0 (1H), 9.8-10.0 (1H), 6.4 (1H), 6.2 (1H), 5.8 (2H), 5.2 (1H), 4.3 (4H), 4.1-3.6 (1H), 3.1-2.9 (2H), 2.1 (3H), 2.0 (3H), 1.8-1.5 (2H), 1.4-0.8 (13H) 1.9 (3H), 1.7-1.2 (8H). FT-IR (puro):  $\nu$  3212, 2954, 1697, 1660, 1572, 1520, 1242, 1165.

50

55

### Ejemplo 7: Polímero I con unidades 4H:

60

[0098] PEO-6000 hidroxiterminado telequérico (10,20 g) fue calentado al vacío en un matraz de 3 bocas a 120°C durante 120 minutos y posteriormente enfriado a 80°C. UPy2 (1,25 g) y dos gotas de dilaurato de dibutilestaño disueltos

en el tolueno (40 mL) fueron añadidas a la fusión polimérica y la solución fue agitada durante toda la noche bajo argón a 80°C. La mezcla reactiva fue diluida con 40 mL de THF y precipitada en el dietiléter. El material es blanco (semicristalino), elástico y resistente.  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  4.1, 3.6, 2.8, 2.2, 1.8-1.4, 1.2-0.8.

5

#### Ejemplo 8: Polímero II con unidades 4H

[0099] Policaprolactona hidroxí terminada telequímica con un peso molecular de 1250 D (25,9 g, secado al vacío), UPy2 (10,9 g) y dos gotas de dilaurato de dibutilestaño fueron disueltas en el etilacetato seco (130 mL) y agitadas durante toda la noche a una temperatura de baño de aceite de 70 °C. Al día siguiente, etilacetato (70 mL) y etanol (50 mL) fueron adicionados a la mezcla reactiva, que fue posteriormente precipitada en el etanol. El polímero fue aislado tras el secado del precipitado, dando como resultado un material elástico.  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.1, 12.0, 10.1, 4.5-3.8, 3.0, 2.6-2.2, 2.0-0.8. SEC (THF, PS-estándares):  $M_n = 8.8$  kD,  $D = 2$ .

15

#### Ejemplo 9: Polímero III con unidades 4H

[0100] PEO-3000 hidroxí terminado telequímico (12,78 g) fue calentado al vacío en un matraz de 3 bocas a 120°C durante 30 minutos, seguido de la adición de 5 gotas de dilaurato de dibutilestaño y UPy1 (2,51 g). Esta mezcla reactiva heterogénea fue posteriormente agitada con un agitador mecánico bajo una atmósfera de argón y calentada a 140°C. Después 10 minutos de agitación a 140°C se obtuvo un líquido claro homogéneo viscoso que tras el enfriamiento fue aislado como un material duro, blanco y quebradizo.  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.1, 11.9, 10.1, 5.8, 5.0, 4.2, 3.8-3.3, 3.2, 3.1, 2.1, 1.6-1.2. FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 2882, 1698, 1663, 1588, 1527, 1466, 1342, 1100, 962, 841. SEC (THF, PS-estándares):  $M_n = 2.9$  kD,  $D = 1.2$ .

25

#### Ejemplo 10: Polímero IV con unidades 4H

[0101] Bis(aminopropil) polisiloxano de extremo bloqueado DMS A21 con una viscosidad de 100-120 cSt se obtuvo de Gelest. UPy3 (1,5 g) se añadió a una solución de DMS A21 (14,7 g) en tetrahidrofurano (200 mL). Esta mezcla fue posteriormente calentada a una temperatura de baño de aceite de 80 °C y agitada a esta temperatura durante 16 h bajo una atmósfera de argón. Se añadió cloroformo (200 mL) a la mezcla reactiva que fue posteriormente filtrada sobre sílice. El filtrado claro fue lavado dos veces con una solución de cloruro sódico saturada en agua. La fracción orgánica fue secada sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , secada al vacío y filtrada para obtener un material blanco roto, claro y elástico. La masa molecular ( $M_n$ ) es 5,0 kg/mol; distribución de peso molecular 1,8, determinado por cromatografía de permeación en gel (poliestireno estándares).  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.1 -0.1. FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 2961, 1698, 1659, 1587, 1527, 1258, 1010, 780. SEC (THF, PS-estándares):  $P_M = 8.1$  kD.

40

#### Ejemplo 11: Polímero V con unidades 4H

[0102] Kraton L-2203, producido por Kraton Polymers, (peso molecular medio  $M_n = 3400$ , 10 g) fue disuelto en tolueno seco (100 mL). A esta mezcla se le añadió UPy1 (1,75 g) y 2 gotas de dilaurato de dibutilestaño, posteriormente la mezcla turbia fue agitada a 80°C bajo una atmósfera de argón durante 12h. Una muestra fue tomada y comprobada para la reacción completa con  $^1\text{H R.M.N.}$  (desaparición multiplete a 3,6 ppm). La mezcla reactiva viscosa fue enfriada a 70°C mientras se agitaba y 0,3 mL de agua fueron añadidos. La mezcla reactiva fue agitada durante una hora adicional, seguido de precipitación en metanol (la viscosidad de la mezcla reactiva se puede rebajar con la adición de más etanol). La goma blanca fue recogida y secada al vacío para obtener un caucho transparente ligeramente amarillento. Rendimiento: 94%;  $^1\text{H RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.1, 11.9, 10.1, 5.8, 4.9, 4.6, 4.1, 3.8, 3.3, 3.2, 2.2, 1.6-1.1, 0.8.

50

#### Ejemplo 12: Polímero VI con unidades 4H

[0103] Poli(2-metil-1,3-propileno adipato) telequímico (peso molecular medio  $M_n = 2,0$  kD, grupos terminales hidroxilo, 5,55 g) fue segregado tres veces con tolueno y disuelto en el tolueno (25 mL) junto con UPy2 (1,31 g) y algunas gotas de dilaurato de dibutilestaño. La mezcla fue calentada a 80°C y agitada durante 16 horas bajo una atmósfera de argón. Posteriormente se verificó con FT-IR si las funciones de isocianato habían desaparecido, y el polímero fue aislado por precipitación de una solución de cloroformo/metanol en el éter y secado del sólido.  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.1 9.8, 5.0-4.6, 4.3-3.8, 3.4-2.8, 2.5-2.0, 1.9-1.6, 1.4-0.8. SEC (THF, PS-estándares):  $M_n = 15.5$  kD,  $D = 1.7$ . Seg (THF, PS-estándares):  $M_n = 15.5$  kD,  $D = 1.7$ .

60

**Ejemplo 13: Polímero VII con unidades 4H**

5 [0104] Una mezcla de poli(2-metil-1,3-propileno adipato) hidroxilado terminado telequímico con un peso molecular medio de 2,0 kD (2,39 g) y policaprolactona hidroxilada terminada telequímica con un peso molecular medio de 2,0 kD (2,39 g), fue segregada tres veces con tolueno y disuelta en el cloroformo (25 mL) junto con un monómero UPy2 (1, 18 g) y algunas gotas de dilaurato de dibutilestano. La mezcla fue agitada durante toda la noche a 60°C, seguido de la confirmación de la ausencia de funciones de isocianato con espectroscopia FT-IR, UPy3 (0,35 g) fueron añadidos y la solución diluida con 20 mL de cloroformo y puesta a reflujo durante otra noche. Nuevamente, se verificó con FT-IR si las funciones de isocianato habían desaparecido, y el polímero fue aislado por precipitación de una solución de cloroformo/etanol en el hexano y secado del sólido. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.2-12.8, 12.1-11.8, 10.2-9.8, 5.8, 5.2-4.5, 4.4-3.6, 3.4-2.6, 2.6-2.0, 2.0-0.6. SEC (THF, PS-estándares): M<sub>n</sub> = 12.2 kD, D = 2.0.

**Ejemplo 14: Polímero VIII con unidades 4H**

15 [0105] Diol de policaprolactona hidroxilada-terminada (M<sub>n</sub> = 2,1 kg/mol; obtenido mediante polimerización por apertura de anillo iniciada por dietilenglicol; comprada de Acros) fue disuelta en tolueno, después de lo cual el tolueno fue quitado bajo presión reducida para covaporizar el agua. Este procedimiento fue repetido dos veces. Este prepolímero (25,0 g; 12,5 mmol) fue disuelto en cloroformo seco (750 mL) después de lo cual se añadió UPy1 (8,8 g). Después de la adición de dos gotas de dilaurato de dibutilestano, la solución fue refluída durante 16 horas. La integridad de la reacción fue comprobada con <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C RMN. Para la presencia de grupos terminales OH. Luego se añadieron 5 gramos de sílice kieselgel 60 y dos gotas de dilaurato de dibutilestano y la mezcla fue refluída durante 16 horas. Con IR se comprobó la ausencia de UPy1 en la solución. Después de la dilución de la mezcla con cloroformo, el sílice fue quitado mediante filtración usando hyflo. La solución fue concentrada bajo presión reducida. El material fue precipitado a partir de cloroformo (500 mL) en hexano (4,0 L) y filtrado. El material resultante fue secado durante 24 horas al vacío dando como resultado 24,4 g de unidades 4H con policaprolactona telequímica como material blanco esponjoso. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>): δ 13.1, 11.9, 10.1, 5.9, 4.9, 4.2, 4.1, 3.7, 3.2, 2.3, 2.2, 1.6, 1.5, 1.4. FT-IR: ν = 2941, 2865, 1729, 1699, 1669, 1587, 1527, 1461, 1418, 1359, 1251, 1162, 1105 cm<sup>-1</sup>.

**Ejemplo 15: Polímero IX con unidades 4H**

35 [0106] Policaprolactona hidroxilada terminada telequímica con un peso molecular medio de 1250 Dalton (10,94 g) fue calentada al vacío en un matraz de 3 bocas a 120°C durante 30 minutos, seguido de la adición de 8 gotas de dilaurato de dibutilestano y UPy1 (5,13 g). Esta mezcla reactiva heterogénea fue posteriormente agitada con un agitador mecánico bajo una atmósfera de argón y calentada a 145°C. Después de 50 minutos de agitación a 145°C se obtuvo una pasta viscosa homogénea que tras el enfriamiento fue aislada como un material blanco duro. La espectroscopia IR confirmó que el producto ya no contenía isocianatos. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.2, 11.9, 10.2, 5.8, 4.9, 4.3, 4.1, 3.7, 3.4-3.1, 2.4-2.2, 3.1, 1.8-1.2. FT-IR (puro): ν (cm<sup>-1</sup>) 2882, 1698, 1663, 1588, 1527, 1466, 1342, 1100, 962, 841. SEC (THF, PS-estándares): M<sub>n</sub> = 2.1 kD, D = 1.4

**Ejemplo 16: Polímero con unidades 4H**

45 [0107] Policaprolactona hidroxilada terminada telequímica con un peso molecular de 2,0 kD (9,73 g), UPy2 (2,5 g) y unas gotas de dilaurato de dibutilestano fueron disueltas en cloroformo (100 mL) y agitadas durante toda la noche a una temperatura de baño de aceite de 60 °C. Al día siguiente el cloroformo fue evaporado, se añadieron tolueno (100 mL) y piridina (20 mL), así como una segunda parte de UPy2 (0,5 g). La mezcla fue calentada a una temperatura de baño de aceite de 120 °C durante otra noche, y el producto polimérico fue aislado por evaporación de la piridina, precipitación de cloroformo/metanol 10:1 en metanol y secado del sólido. En reposo el material evoluciona en un polímero elástico/blanco (semicristalino). <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.1, 12.0, 10.1, 4.5-3.8, 3.0, 2.6-2.2, 2.0-0.8. SEC (THF, PS-estándares): M<sub>n</sub> = 38.5 kD, D = 2.0.

**Ejemplo 17: Polímero XI con unidades 4H**

60 [0108] PEO-1500 telequímico (5,83 g) fue disgregado tres veces con tolueno y fue luego disuelto en tolueno (30 mL). UPy2 (2,39 g) fue añadido en tolueno (14 mL) así como unas gotas de dilaurato de dibutilestano y la solución fue calentada durante toda la noche bajo argón (temperatura de baño de aceite de 120 °C). El polímero fue aislado mediante precipitación en el dietileter. El material es blanco (semicristalino), elástico y resistente. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub> /CD<sub>3</sub>

OD):  $\delta$  4.1, 3.6, 2.8, 2.2, 1.8-1.4, 1.2-0.8. SEC (THF, PS-estándares): PM = 7.0 kD.

### Ejemplos de componentes bioactivos (b)

5

#### Ejemplo 18: UPy-GRGDS

[0109] Un péptido GRGDS fue sintetizado según técnicas convencionales de síntesis peptídica de fase sólida (SPPS) usando química de acoplamiento Fmoc estándar en una resina de Wang (la carga de la resina de Wang con Fmoc-Ser(tBu)-OH fue 0,63 mmole/g; Bachem). En cualquier caso, los grupos protectores de Fmoc fueron desprotegidos con 20% de piperidina en DMF. Los aminoácidos protegidos (si fuera necesario) (3 eq.; (Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH y Fmoc-Gly-OH; Bachem) fueron disueltos en DMF. Como reactivos de acoplamiento se usaron 1-hidroxibenzotriazola de reactivos de acoplamiento (3,6 eq.) y diisopropilcarbodiimida (3.3 eq.) en DMF. El acoplamiento de la unidad 4H a la amina libre del último aminoácido (Gly) del péptido GRGDS protegido fue realizado en el soporte sólido usando UPy3 (5 eq.) en DMF seco (secado en tamices moleculares) bajo una atmósfera de argón durante 16 horas a 50°C. Esto resultó en el UPy-GRGDS protegido en la resina. El exceso de UPy3 fue eliminado con agua ácida. El péptido fue desprotegido y escindido del soporte sólido con un 95% de ácido trifluoroacético (TFA) y un 5% de agua. Fue precipitado en dietiléter (frío), centrifugado y lavado tres veces con dietiléter. Posteriormente, el péptido fue liofilizado tres veces de agua con 10-20 % de acetonitrilo que resultó en un polvo blanco esponjoso. UPy-GRGDS fue purificado usando cromatografía líquida en fase inversa (RPLC) de preparación si es necesario. El compuesto fue caracterizado con técnicas de RMN, espectrometría IR, RPLC y de masas.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}/\text{ACN-d}_3$ )  $\delta$  5.98 (1H), 4.78 (1H), 4.48 (1H), 4.32 (1H), 3.98-3.84 (2H), 3.15 (2H), 2.90-2.78 (2H), 2.23 (3H), 1.85-1.61 (4H). La atribución del espectro RMN  $^1\text{H}$  se confirma por espectroscopia 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY.  $^{19}\text{F}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}/\text{ACN-d}_3$ ), con fosfato de hexafluoro de potasio como estándar interno mostró que la muestra contenía menos de un 0,1 % en peso de TFA. FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3280, 3182, 3073, 2948, 2542, 1701, 1642, 1528, 1413, 1224, 1180, 1135, 1076, 1046. RPLC-MS: un valor máximo en el cromatograma con m/Z: Calcd. 641,3 g/mol. Obsd.  $[\text{M} + \text{H}]^+$  = 642,2 g/mol y  $[\text{M} + \text{H}]^{2+}$  = 321,7 g/mol.

#### Ejemplo 19: UPy-PHSRN.

[0110] El péptido PHSRN fue sintetizado según síntesis péptida de fase sólida (SPPS) convencional usando química de acoplamiento Fmoc estándar en una resina Wang (la carga de la resina Wang con Fmoc-Asn(Trt)-OH fue 0,43 mmoles/g; Bachem). En cualquier caso, los grupos de protección de Fmoc fueron desprotegidos con 20% de piperidina en DMF. Los aminoácidos protegidos (si es necesario) (3 eq.; Fmoc-Arg(Pmc)-oh, Fmoc-Ser(tBu)-oh, Fmoc-His(Trt)-OH y Fmoc Pro-OH para PHSRN); Bachem) fueron disueltos en DMF. Como reactivos de acoplamiento se usaron 1-hidroxibenzotriazola (3,6 eq.) y diisopropilcarbodiimida (3,3 eq.) en DMF. El acoplamiento de la unidad 4H a la amina libre del último aminoácido (Pro) del péptido PHSRN protegido fue realizada en el soporte sólido usando UPy1 (8 eq.) en el cloroformo seco (tamices moleculares) durante 16 horas a 21°C. Esto resultó en el UPy-PHSRN protegido en la resina. El exceso de UPy1 fue eliminado con agua ácida. El péptido fue desprotegido y escindido del soporte sólido con un 95% de ácido trifluoroacético (TFA) y un 5% de agua. Fue precipitado en dietiléter (frío), centrifugado y lavado tres veces con dietiléter. Posteriormente, el péptido fue liofilizado tres veces a partir de agua con 10-20% de acetonitrilo lo que resultó en un polvo blanco esponjoso. UPy- PHSRN fue purificado usando cromatografía líquida en fase inversa (RPLC) de preparación si es necesario.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}/\text{ACN-d}_3$ ):  $\delta$  8.58 (1H), 7.27 (1H), 5.92 (1H), 4.73 (1H), 4.66 (1H), 4.36 (1H), 4.15 (1H), 3.86 (2H), 3.40-3.05 (2H), 2.82-2.73 (2H), 2.21 (3H), 2.15 (1H), 2.03-2.00 (3H), 1.94-1.62 (4H); 1.54-1.46.(4H), 1.34-1.27 (8H). La atribución del espectro RMN  $^1\text{H}$  se confirma por espectroscopia 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY.  $^{19}\text{F}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}/\text{ACN-d}_3$ ), con fosfato de hexafluoro de potasio como estándar interno mostró que la muestra contenía menos de un 1 % en peso de TFA. FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3263, 2943, 1657, 1542, 1441, 1361, 1317, 1252, 1201, 1133, 1078. RPLC-MS: un valor máximo en el cromatograma con m/Z: Calcd. 902,4 g/mol. Obsd.  $[\text{M} + \text{H}]^+$  = 903,3 g/mol,  $[\text{M} + \text{H}]^{2+}$  = 452,3 g/mol y  $[\text{M} + \text{H}]^{3+}$  = 301,9 g/mol.

#### Ejemplo 20: UPy-fluoresceína

[0111] Se añadió UPy4 (0,51 g) a una solución de hexanodiamina (2,03 g) en el cloroformo a temperatura ambiente. La mezcla fue agitada durante toda la noche. Agua básico (5 g de NaOH en 20 mL agua) se añadió a esta mezcla, y después centrifugado (5 min. a 4300 r.p.m.) un estrato de agua claro separado y fue posteriormente aislado. El estrato de agua básico fue llevado a pH = 6 con 3 M HCl en agua. La unidad 4H amino funcional fue aislada mientras un precipitado blanco se formaba, que fue extraído con cloroformo. El estrato de cloroformo fue secado con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y evaporado.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.25 (1H), 11.91 (1H), 10.21 (1H), 5.82 (1H), 3.27 (2H), 2.66 (2H), 2.31 (1H), 1.69-1.28

60

(16H), 0.90 (6H). FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3064, 2956, 2856, 2927, 2856, 1939, 1664, 1594, 1558, 1520, 1428, 1265, 1178, 1117, 1073, 950, 840, 814, 773, 756, 728, 697. Análisis elemental: C61.34; H9.64 N19.82, calculado (C61.51; H9.46, N19.92). RPLC-MS:  $[\text{M} + \text{H}]^+ = 352.2$  (calculado: 351.41);  $[\text{isocitosina} + \text{H}]^+ = 210.2$  (calculado: 209.29);  $[\text{UPy-C6 UPy} + \text{H}]^+ = 587.3$  (calculado: 586.78) g/mol.

5

[0112] Esta unidad 4H amino funcional (123 mg) se añadió a fluoresceína-isotiocianato (132 mg) en una mezcla 2:1 de metanol y cloroformo y agitada a temperatura ambiente durante 2 días. Los solventes fueron eliminados bajo presión reducida. El precipitado de naranja restante fue disuelto en 5 mL 0,2 M de solución de NaOH. Con la adición de 1,5 mL 1 M HCl solución se formó un precipitado naranja turbio. Este fue aislado por centrifugado. Posteriormente, el estrato de agua amarillo claro fue vertido fuera. El producto fue purificado usando una columna de Sephadex LH 20 (1:1 diclorometano: metanol). El producto fue disuelto en THF:agua (1:1) y enjuagado sobre una pequeña columna de sílice. Fue posteriormente liofilizado.  $^1\text{H}$  RMN (DMSO):  $\delta$  8.19 (1H), 7.91 (1H), 6.89 (1H), 6.81 (1H), 6.58 (4H), 6.46 (2H), 5.72 (1H), 3.51 (2H), 3.18 (2H), 2.18 (1H), 1.57-1.10 (16H), 0.74 (6H). LC-MS (inyección directa):  $[\text{M} + \text{H}]^+ = 741.2$  (calculado: 740.30);  $[2\text{M} + \text{H}]^+ = 1481.1$   $[\text{M}_{\text{fragmento}} + \text{H}]^+ = 210.2$   $[\text{M}_{\text{fragmento}} + \text{H}]^+ = 352.3$   $[\text{M}_{\text{fragmento}} + \text{H}]^+ = 390.3$   $[\text{M}_{\text{fragmento}} + \text{H}]^+ = 707,3$  g/mol.

15

### Ejemplo 21: UPy-biotina.

[0113] A una solución de N-(+)-biotinil-3-aminopropilamonio trifluoroacetato (165 mg, obtenido de Sigma-Aldrich) en DMF (1,0 mL), se le añadió Upy4 (124 mg) y diisopropiletilamina (DIPEA; 133 mg). La mezcla fue agitada a 60°C durante 7 horas. El DMF fue eliminado bajo presión reducida y todo fue disuelto en cloroformo. Las siguientes extracciones fueron realizadas; 3 veces con salmuera y 3 veces con 1 M HCl. Las capas orgánicas combinadas fueron secadas con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y concentradas a 1,5 mL. Esto fue precipitado en acetona fría y centrifugada. La acetona fue vertida fuera y el producto fue secado bajo presión reducida a 40°C durante 2 horas. Esto dio como resultado un polvo blanco en un rendimiento de 65%.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.32 (1H), 11.82 (1H), 10.07 (1H), 5.92 (1H), 4.51 (1H), 4.36 (1H), 3.37 (4H), 3.13 (1H), 2.90 (1H), 2.73 (1H), 2.39 (1H), 2.23 (2H), 1.81-1.19 (16H), 0.89 (6H). FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3217, 3038, 2929, 2860, 1699, 1641, 1583, 1526, 1460, 1439, 1381, 1306, 1251, 1145, 1075, 1009, 951, 850, 796, 763, 739, 686. MALDI-TOF: 536.14 (calculado 535,71 g/mol), 301.07, 334.23 g/mol.

30

### Ejemplo 22: complejo UPy-Gd(III)-DTPA

[0114] A una solución incolora de UPy4 (0,376 g, 1,24 mmol) en el diclorometano (5 mL) fue lentamente adicionada una solución de *t*-butil-6-amino-2-{{bis[2-{{bis[2-{{bis-(*t*-butoxicarbonilmetil)amino}}-etil}}-amino}}]hexanoato (0,713 g, compuesto obtenido como es descrito por: Anelli, P.L. et al. Bioconjugate Chem. 1999, 10, p. 137, compuesto 7). La solución fue energicamente agitada durante 12 h a 20 °C. La solución amarillenta fue lavada con 1 M  $\text{KHSO}_3$  (aq) pH 1.95 (2 x 10 mL). Posteriormente, el estrato orgánico fue lavado con 1 M  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (aq) pH 10 (3 x 10 mL) y salmuera (3 x 10 mL). El estrato de agua combinado fue extraído con DCM (2 x 10 mL) y el estrato orgánico fue secado sobre  $\text{MgSO}_4$ . La mezcla reactiva fue concentrada bajo presión reducida, produciendo un líquido amarillento (0,84 g). El producto bruto (0,730 g) fue purificado por cromatografía en columna usando EtOAc, produciendo el análogo protegido de DTPA con SupraB en 0,51 g (Rf = 0,5 (EtOAc)).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.3 (1H), 11.9 (1H), 10.2 (1H), 5.8 (1H), 3.5 (8H), 3.3-3.2 (3H), 3.0-2.6 (8H), 2.3 (1H), 2.0-1.2 (14H), 0.94 (6H). La cesión del espectro 1H de NMR fue confirmado por 1H.1H-COSY. FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 2975, 2932, 1724, 1698, 1658, 1646, 1586, 1526, 1367, 1253, 1219, 1148. ESI-QTOF-MS: m/Z  $[\text{C}_{50}\text{H}_{89}\text{N}_7\text{O}_{12} + \text{H}]^+$  Calcd. 980.67 Da, Obsd. 980.71 Da;  $[\text{C}_{50}\text{H}_{89}\text{N}_7\text{O}_{12} + \text{Na}]^+$  Calcd. 1002.65 Da, Obsd. 1002.65 Da.

45

[0115] Este análogo protegido de DTPA con UPy fue posteriormente disuelto en el diclorometano (0,39 g) y se añadió TFA (2 mL), seguido de una agitación de la mezcla reactiva durante 16 h a temperatura ambiente. Después de la evaporación del solvente una segunda parte de TFA (2 mL) y diclorometano seco (5 mL) fue añadido y se continuó con la agitación durante toda la noche. La solución fue concentrada al vacío dando como resultado la sal de TFA del producto desprotegido que fue adicionalmente purificada por diálisis a 60 °C (100Da de membrana de MWCO) seguida de liofilización, produciendo el penta ácido como un polvo blanco higroscópico (0,266 g).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 348 K):  $\delta$  6.2 (1H), 4.1 (8H), 3.6 (1H), 3.4 (4H), 3.3-3.1 (6H), 2.6 (1H), 2.0-1.2 (14H), 0.79 (6H). La atribución del espectro 1H de NMR fue confirmado por 1H.1H-COSY. Espectroscopia  $^{19}\text{F}$ -RMN confirmó la eliminación exitosa de TFA mediante la ausencia de una señal a -75,6 ppm. FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3215, 2933, 2531, 1700, 1630, 1551, 1431, 1389, 1333, 1202. ESI-QTOF-MS: m/Z  $[\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{N}_7\text{O}_{12} + \text{H}]^+$  Calcd. 700.35 Da, Obsd. 700.40 Da;  $[\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{N}_7\text{O}_{12} + \text{Na}]^+$  Calcd. 722.33 Da, Obsd. 722.40 Da.

55

[0116] El complejo de Gd(III) deseado fue preparado añadiendo una cantidad estequiométrica de  $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (4,97 mg) en el agua desmineralizado (3 mL) a una solución de penta ácido (9,16 mg) en 0,3 M tampón de citrato a pH 5.8. La

60

solución tamponada fue enérgicamente agitado durante 2 h a temperatura ambiente. La solución acuosa fue extensivamente dializada (100 membrana de MWCO Da) y liofilizada. El complejo de Gd(III) resultante se obtuvo como un polvo blanco higroscópico (10,7 mg). FT-IR (puro):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3384, 2932, 1696, 1579, 1407, 1183, 1135, 1083. ESI-MS: m/Z [C30H46N7O12Gd + H]<sup>+</sup> Calcd. 855.25 Da, Obsd. 855.27 Da; [C30H45N7O12NaGd + H]<sup>+</sup> Calcd. 877.23 Da, Obsd. 877.27 Da. [C30H44N7O12Na2Gd + H]<sup>+</sup> Calcd. 899.22 Da, Obsd. 899.27 Da. ICP-AES (Gd(III)): Calcd. 50.0  $\mu\text{m}$ , Obsd. 33.9  $\mu\text{m}$ .

### Ejemplo 23: UPy-cisteína

[0117] Un péptido CGGKG fue sintetizado según técnicas convencionales de síntesis peptídica en fase sólida (SPPS) usando química de acoplamiento de Fmoc en una resina Wang (la carga de la resina Wang con Fmoc-Gly-OH fue de 0,75 mmol/g; Bachem). En cualquier caso, los grupos de protección de Fmoc fueron desprotegidos con un 20% de piperidina en DMF. Los aminoácidos protegidos (si necesario) (3 eq.; (fmoc-Lys(Mtt)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Gly-OH y Fmoc-Cys(Trt)-oh; Bachem) fueron disueltos en DMF. Como reactivos de acoplamiento de 1-hidroxibenzotriazola (3.6 eq.) y diisopropilcarbodiimida (3.3 eq.) en DMF fueron usados.

[0118] La unidad 4H fue acoplada a la Lys en la resina cuando la Cys todavía estaba protegida. La Lys fue primero desprotegido selectivamente en una mezcla de 90% de DCM / 5% de TFA / 5% de triisopropilsilane durante 15 minutos.

La resina fue lavada durante 2 veces con DCM y durante 4 veces con DCM suplementado con un 5% de DIPEA. El acoplamiento de la unidad 4H a la amina resultante libre en la Lys fue realizada en el soporte sólido usando UPy1 (8 eq.) en el cloroformo seco (secado en tamices moleculares) en una mesa agitadora a 21°C. Esto dio como resultado el péptido protegido CGGK(UPy)G en la resina. El exceso de UPy1 fue eliminado con agua ácida. El grupo de Fmoc en la Cys fue quitado con un 20% de piperidina en DMF. El péptido fue desprotegido y escindido del soporte sólido con un 95% de ácido acético de trifluoro (TFA), 2,5% de agua y 2,5% de Tis. Fue precipitado en dietiléter (frío), centrifugado y lavado tres veces con dietiléter. Posteriormente, el péptido fue liofilizado tres veces de agua con un 10-20 % de acetonitrilo que dio como resultado un polvo blanco esponjoso. El compuesto fue caracterizado con <sup>1</sup>H RMN y espectrometría de masas. RPLC-MS: un valor máximo en el cromatograma con m/Z: Calcd. 713,8 g/mol. Obsd. [M + H]<sup>+</sup> = 714,3 g/mol y una impureza de [M + H]<sup>+</sup> = 820,3 g/mol y [M+H]<sup>2+</sup> = 410,8 g/mol. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, D<sub>2</sub>O/ACN-d<sub>3</sub>):  $\delta$  6.34 (1H), 4.79 (1H), 4.74 (1H), 4.41 (2H), 4.32 (4H), 3.60 (2H), 3.44 (6H), 2.62 (3H), 2.31-2.04 (2H), 1.92-1.84-1.72 (12H).

### Ejemplo 24: UPy-heparina

[0119] Sal de sodio de heparina (1,0 g, M<sub>n</sub> = 12000, actividad = 195 IU/mg, mucosa intestinal porcina, obtenida de Merck Biosciences, Alemania) fue disuelta en el agua y pasada a través de una columna Dowex 50X8 (H<sup>+</sup>), seguido de diálisis (PM cortado = 12000 - 14000) contra el agua y liofilización para obtener heparina (0,95 g). Los grupos de ácido carboxílico de heparina fueron activados añadiendo N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) a un 2% de solución en peso de heparina liofilizada en 0,05 M de tampón de ácido sulfónico 2-morfolinoetano (tampón de MES, pH = 5.60), en una proporción molar de NHS:EDC:heparina-CO<sub>2</sub> H de 0.24:0.40:1.0. Después 10 minutos de preactivación, UPy5 (64 mg) fue disuelto en el tampón de MES (3 mL, pH = 5.60) y añadido a la solución de NHS/EDC de heparina activada (25 mL), dando como resultado una proporción molar de 6 a 1 (UPy5 a heparina). Después de 3h, la mezcla reactiva fue dializada una vez contra tampón de MES (pH = 5.60), seguido de diálisis extensiva contra el agua, seguido de liofilización para obtener heparina funcional con aproximadamente seis unidades 4H.

### Ejemplo 25: UPy-heparina

[0120] Sal de sodio de heparina (1,0 g, M<sub>n</sub> = 12000, actividad = 195 IU/mg, mucosa intestinal porcina, obtenida de Merck Biosciences, Alemania) fue disuelta en el agua y pasada a través de una columna Dowex 50X8 (H<sup>+</sup>), seguido de diálisis (corte de PM = 12000 - 14000) contra el agua y liofilización para obtener heparina (0,95 g). El extremo reductor de heparina fue oxidado con yoduro (0,2 g) en un 20% de solución acuosa de metanol (25 mL) durante 6h a temperatura ambiente. La solución de reacción se añadió al etanol con un 4% en peso de hidróxido potásico (50 mL). El precipitado de blanco resultante fue filtrado, disuelto en agua y dializado (corte de PM = 12000-14000). Heparina oxidada se obtuvo después de la liofilización de la heparina oxidada fue posteriormente disuelta en agua y pasada a través de una columna Dowex 50X8 (H<sup>+</sup>) seguida de criodesecación para obtener la heparina de lactona (0,74 g). Un exceso molar de 10 veces de UPy5 (45 mg) fue disuelto en DMF (2 mL) y posteriormente añadido a heparina de lactona (200 mg) disuelta en DMF (10 mL). La reacción fue agitada durante 16h a 80°C. La mezcla reactiva fue concentrada al vacío seguida de disolución en el agua. La mezcla de reacción diluida fue posteriormente pasada a través de una columna Dowex 50X8 (H<sup>+</sup>). El

eluato fue extensivamente dializado contra el agua, seguido de liofilización dando como resultado heparina terminalmente funcional con una unidad 4H.

## 5 Ejemplos de procesamiento del material biorreabsorbible supramolecular

### Ejemplo 26

10 [0121] El polímero del ejemplo 14 fue procesado mediante diferentes técnicas en diferentes soportes que se puede expedir para ingeniería de tejidos. Se produjeron películas mediante el moldeado de solvente a partir de solución de THF o mediante moldeado de compresión (a aproximadamente 20°C sobre la temperatura de fusión). Hilatura por fusión (a una temperatura de 90°C) y electrohilatura (a partir de solución de cloroformo) fueron usadas para hacer fibras y mallas. Rejillas con una anchura fibrosa hasta aproximadamente 220 µm fueron producidas mediante modelado por deposición fundida (FDM) a temperaturas justo por debajo de los 75°C

### Ejemplo 27

20 [0122] Un hidrogel bioactivo se obtuvo disolviendo los polímeros del ejemplo 7 (4,3 g) y del ejemplo 14 (1,0 g) en THF (70 mL), seguidos de la adición suave de 82 mL de agua desionizada a la solución de polímero agitada. A esta mezcla se le añadió rodamina B (100 mg). Esta mezcla fue concentrada en un rotavapor hasta que todo THF fue eliminado y se obtuvo un hidrogel rosa brumoso que mostró fluorescencia naranja. El hidrogel resultante tenía propiedades elásticas y mostró un comportamiento viscoelástico.

### Ejemplo 28

30 [0123] Materiales bioactivos fueron obtenidos produciendo tres soluciones de péptido diferentes disolviendo: (a) un 4 % molar del oligopéptido del ejemplo 18; (b) un 4 % molar del oligopéptido del ejemplo 19; y (c) ambos oligopéptidos de los ejemplos 18 y 19 juntos (un 4 % molar de cada péptido) en THF con un 10-30% de agua. Posteriormente, el polímero del ejemplo 8 fue disuelto en THF. Mezclas bioactivas fueron producidas mediante la mezcla de las soluciones peptídicas y la solución polimérica. Las mezclas resultantes fueron echadas a gotas en el cubreobjetos de vidrio (diámetro = 1,5 cm;  $1 \cdot 10^{-4}$  mmol de péptido en el caso de un 4 % molar de péptido y  $2,4 \cdot 10^{-3}$  mmol de polímero por cada cubreobjetos) dando como resultado tres películas diferentes cargadas de oligopéptido: 28a, 28b, y 28c. La mayor parte de las veces, un precipitado ligero era visible. Las mezclas en la cubre objetos de vidrio fueron secadas al vacío durante 2-3 días a 35-40°C. Esto dio como resultado películas bioactivas.

### Ejemplo 29

40 [0124] Materiales bioactivos fueron obtenidos echando la primera gota del polímero del ejemplo 14 de THF en el cubre objetos de vidrio (diámetro = 1,5 cm). Posteriormente, tres soluciones diferentes fueron producidas mediante disolución: (a) el oligopéptido del ejemplo 18; (b) el oligopéptido del ejemplo 19; y (c) ambos oligopéptidos de los ejemplos 18 y 19 juntos en THF con un 10-30 % de agua. Concentraciones peptídicas de un 1, 2, 4 u 8 % molar fueron usadas. Estas soluciones fueron echadas en gotas en la película de polímero secada. La mayor parte de las veces, un precipitado ligero fue visible. Típicamente, en un cubreobjetos  $1 \cdot 10^{-4}$  mmol de péptido en el caso de un 4 % molar de péptido y  $2,4 \cdot 10^{-3}$  mmol de polímero fueron cargados. Las mezclas en el portaobjetos de vidrio fueron secadas al vacío durante 2-3 días a 35-40°C, dando como resultado tres películas diferentes cargadas de oligopéptido: 29a, 29b, y 29c, que contenían todas cargas diferentes de los oligopéptidos. Las muestras fueron esterilizadas bajo UV durante al menos 3 horas, antes de su uso en la adhesión celular y experimentos de difusión o en los experimentos de extracción *in vitro*.

### Ejemplo 30

55 [0125] Un material bioactivo que consiste en el polímero del ejemplo 14 y la UPy-biotina del ejemplo 21 fue producido mediante el siguiente método. El polímero de ejemplo 8 (0,80 g) fue disuelto en THF (2 mL). El polvo blanco obtenido en el ejemplo 21 (34 mg) se añadió a la solución de THF que fue posteriormente agitada durante unos minutos y recubiertas por centrifugado (3500 r.p.m., 15 s) o depositadas por goteo en portaobjetos de vidrio limpiados (diámetro = 1,5-2,2 cm). Las muestras fueron secadas durante 1 hora al vacío a temperatura ambiente. Esto dio como resultado UPy-biotina con películas bioactivas.

**Ejemplo 31**

5 [0126] Un polietilenglicol con unidades 4H fue preparado como se describe en el ejemplo 9 (12 g), pero entonces después de 10 minutos de agitación a 140°C, se añadió ácido L-ascórbico (0,66g) a la fusión polimérica mientras se agita la mezcla. Después de 5 minutos de agitación a 140°C, la fusión polimérica fue vertida en un molde y enfriada hasta temperatura ambiente. El ácido ascórbico resultante con polietilenglicol supramolecular se obtuvo como un material blanco duro que lentamente liberó el ácido ascórbico al sumergir el material en el agua tamponada a pH = 7.2 con HEPES (50 mM).

**Ejemplo 32**

15 [0127] Policaprolactona telequímica con terminación hidroxilo con un peso molecular de 1250 D (3,04 g) y PEO-3000 telequímico con terminación hidroxilo (5,67 g) fueron calentados juntos al vacío en un matraz de 3 bocas a 120°C durante 30 minutos, seguido de la adición de 5 gotas de dilaurato de dibutilestano y UPy1 (2,54 g). Esta mezcla reactiva heterogénea fue posteriormente agitada con un agitador mecánico bajo una atmósfera de argón y calentada a 150°C. Después de 20 minutos de agitación a 150°C, 4-acetaminofenol finamente molido (309 mg) fue añadido y se continuó con la agitación durante 5 minutos a 140°C. Tras el enfriamiento, se obtuvo un material blanco duro y semiflexible que contenía un 2,7% por masa del 4-acetaminofenol bioactivo. La inmersión del material en el agua tamponada a pH = 7.2 con HEPES (50 mM) dio como resultado una liberación lenta del compuesto bioactivo.

**25 Ejemplos de biocompatibilidad, biodegradabilidad y bioactividad de material supramolecular biorreabsorbible****Ejemplo 33**

30 [0128] Cultivo celular *in vitro*: fibroblastos de ratón 3T3 fueron cultivados en una mezcla 1:1 de Ham F-12 y medio del águila modificado de Dulbecco con un 10% de suero fetal bovino (FBS). Estos fueron cultivados en una incubadora humedecida a 37°C y un 5% de CO<sub>2</sub>. Antes de sembrar las células en los materiales, fueron lavadas dos veces con solución de PBS. Luego fueron tripsinizadas con una solución de tripsina-EDTA (se comprobó con medidas de FACS que las células contuvieran el  $\alpha 5\beta 1$  integrinas sin tener en cuenta el tratamiento de las células con solución de tripsina-EDTA o con solución de EDTA), lavadas con PBS y contadas después de la coloración en azul de tripán en un cámara de recuento de Neubauer. Las células fueron sembradas en el medio de cultivo (con o sin FBS suplementado, como se ha indicado) en las películas. El paso de las células fue siempre de entre 10 y 80 y la viabilidad de las células fue siempre por encima del 97%.

40 [0129] La adhesión celular y experimentos de extensión celular: fibroblastos de ratón 3T3 ( $5 \cdot 10^4$  células/cm<sup>2</sup>) fueron sembrados en los portaobjetos con los materiales supramoleculares bioactivos del ejemplo 29 (29a, 29b y 29c) y en el portaobjetos con el polímero del ejemplo 14, en el fondo de un plato de cultivo de poliestireno y en vidrio en de 200  $\mu$ L de medio (con o sin FBS, como se ha indicado). Fueron incubados durante 5 minutos a temperatura ambiente, después de lo cual se añadió 1 mL de medio (con o sin FBS, como indicado). Durante 1 o 2 días de cultivo en una incubadora humidificada a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>, fueron estudiados con microscopio óptico.

45 [0130] Cuando los fibroblastos de ratón 3T3 fueron cultivados en las diferentes mezclas bioactivas (29a, 29b, 29c; en todos los casos se mezcló un 4 % molar de péptido con la solución polimérica antes de preparar las películas) y en el polímero del ejemplo 14 durante 2 días en ausencia de FBS (suero fetal bovino) para evitar la adhesión celular mediante proteínas séricas absorbidas, adhesión específica, pero casi ninguna propagación celular era ya visible después de 3 horas en todas las muestras. No obstante, después de 1 día se observó una propagación celular adicional y el grado de máximo de adhesión celular para células sembradas en la mezcla 29c que puede indicar el posible efecto sinérgico de los dos UPy-péptidos. En la película de 29a algunas células adheridas y propagadas después de 1 día, pero menos eficaces que en la mezcla 29c. También menos células se ropagan en la mezcla 29b después de 1 día. Este se presenta debido al hecho de que el PHSRN es una secuencia sinérgica. Estos hallazgos para las diferentes películas permanecieron sin cambios incluso después de 2 días, como se ilustra en la Figura 1.

**Ejemplo 34**

60 [0131] Experimentos de inhibición como un estudio comparativo: fibroblastos de ratón 3T3 ( $4 \cdot 10^5$  células/ml de medio sin

FBS) fueron incubados a temperatura ambiente durante 15 minutos con péptidos GRGDS soluble (0,3 mM en el medio sin FBS). Después de este paso de incubación, las células ( $6 \cdot 10^4$  células/cm<sup>2</sup>) fueron sembradas en el material bioactivo 28c (con 4 % molar de cada peptídico) en 250  $\mu$ L de medio sin FBS. En el caso del control las células ( $6 \cdot 10^4$  células/cm<sup>2</sup>) no fueron preincubadas con estos péptidos GRGDS solubles. Después de la siembra de las células, éstas fueron incubadas durante 5 minutos a temperatura ambiente. Luego 1 mL de medio sin FBS fue añadido. Después de 1 día de cultivo en una incubadora humidificada a 37°C y un 5% de CO<sub>2</sub>, ellos fueron estudiadas con microscopio óptico que mostró que sin la incubación de las células con péptidos GRGDS solubles, las células se adherían y propagaban en la película 28c después de 1 día. No obstante, tras la incubación de las células con los péptidos GRGDS solubles difícilmente apenas se podría detectar adhesión y extensión alguna en la película 24c después de 1 día. Esto indica que la unión celular puede ser mediada por integrina.

### Ejemplo 35

[0132] Resistencia de la unión celular y experimentos de reversibilidad de extensión celular: se realizaron experimentos de tripsina después de 1 día de cultivo de los fibroblastos de ratón 3T3 ( $5 \cdot 10^4$  células/cm<sup>2</sup>) a 37°C y un 5% de CO<sub>2</sub> en tres sistemas diferentes: en la película 28c (con un 4 % molar de cada péptido) sin FBS adicionado, en la película 28c (también con un 4 % molar de cada péptido) en presencia de FBS, y en el fondo del plato de cultivo de poliestireno en presencia de FBS (PS + FBS). Todos fueron todos incubados en una solución de tripsina-EDTA a temperatura ambiente durante 30 segundos y 30 minutos. Después de la eliminación de la solución de tripsina-EDTA las células fueron lavadas dos veces con solución de PBS. Las células que permanecieron después de estos lavados fueron incubadas nuevamente en una incubadora humidificada a 37°C y un 5% de CO<sub>2</sub> durante 1 día en el medio de cultivo celular sin FBS. Durante el proceso entero las células fueron seguidas con microscopio óptico.

[0133] Las células cultivadas en la mezcla 28c sin FBS tenían un aspecto similar a las células cultivadas en la mezcla 28c o en el fondo de una placa de cultivo de poliestireno (PS) en presencia de FBS después de 1 día de incubación. Estos resultados indican que los péptidos facilitan la adhesión celular y la propagación de una manera comparable a las proteínas de matriz extracelular (ECM) que están presentes en el FBS. No obstante, se pueden encontrar diferencias en experimentos de resistencia de unión celular usando tripsina-EDTA. Después de 30 segundos de incubación con tripsina-EDTA, las células en la mezcla 28c con FBS y en el PS con FBS fueron completamente separadas. Estas células fueron posteriormente eliminadas de las placas dejando algunas células flotantes. Al contrario, incluso después de 30 minutos de incubación con tripsina-EDTA las células en la mezcla 28c en ausencia de FBS fueron todavía adheridas y apenas se observaron células flotantes. Después de la eliminación de tripsina-EDTA y del lavado de los fibroblastos, pudieron propagarse otra vez en la mezcla 28c sin FBS cuando se incubaron durante 1 día adicional, sugiriendo que los péptidos UPy pueden actuar de forma reversible. Estos experimentos de tripsina indican que el nuevo método de materiales supramoleculares proporciona una unión fuerte, pero que el mecanismo de unión es sensible para proteínas ECM competitivas.

### Ejemplo 36

[0134] Implantes *in vivo*: cuatro películas fundidas de solución diferentes fueron preparadas: una película bioactiva con un 4 % molar del péptido del ejemplo 18 y el polímero del ejemplo 14 (es decir, el ejemplo 36a), una película bioactiva con un 4 % molar del péptido del ejemplo 18 y un 4 % molar del péptido del ejemplo 19 y el polímero del ejemplo 14 (es decir, el ejemplo 36b), una película de polímero puro que consiste en el polímero del ejemplo 14 (es decir, el ejemplo 36c) y una película de polímero puro que consiste en el polímero de ejemplo 8 (es decir, ejemplo 36d) En este caso las películas no fueron echadas en gotas el portaobjetos, sino en placas de petri. Las películas poliméricas resultantes tenían un diámetro de 6 mm y aproximadamente 0,4 mm de grosor. Todas fueron implantadas subcutáneamente por duplicado en ratas Oxford albinas (AO) macho. Los implantes con el tejido circundante fueron explantados después de 2, 5, 10, 21 y 42 días de implantación y fueron introducidos en plástico (resina de polimerización fría Technovit 7100 rbasada en hidroxietilmetacrilato (HEMA), Kulzer Histo-Technik). Las muestras fueron teñidas con azul de toluidina para realizar un examen histológico con microscopio óptico.

[0135] Las diferencias observadas después de la implantación *in vivo* entre ambos materiales supramoleculares son sorprendentes. EL día 5 la infiltración celular fue muy moderada para polímeros de los ejemplos 14 y 8 y una pequeña cápsula fibrosa se había formado reflejando las características adhesivas e inertes de los materiales. No obstante, en el caso de las mezclas 36a e 36b se observó una vascularización e infiltración de macrófagos, que puede deberse a la presencia de los péptidos que podrían adquirir células a través de la unión de integrina. Otra diferencia destacable fue el hecho de que en el caso de la mezcla 36a y 36b ya después de 5 días se injertaron grandes células gigantes en el material de la interfaz, lo que indica que los péptidos UPy- GRGDS y probablemente los péptidos UPy-PHSRN pueden no sólo desempeñar una parte en la señalización e infiltración de macrófagos, sino también en su fusión en células

gigantes.

[0136] No se detectaron células gigantes en los polímeros puros y la respuesta celular fue insignificante hasta los 42 días. No obstante, la respuesta tisular para ambas mezclas bioactivas 36a y 36b se volvió incluso más activa después de 10 días y la degradación del polímero fue mostrada mediante la actividad fagocítica de las células gigantes presentes en el tejido circundante. Las células gigantes en la interfaz no mostraron todavía ningún comportamiento fagocítico hasta los 42 días, aunque la degradación en marcha se observó después de 42 días. Los resultados después de 21 días de implantación son visibles en la figura 2. Las diferencias entre las mezclas bioactivas y los polímeros puros son obvias. Los polímeros puros de los ejemplos 8 y 14 también se comportan diferente. Después de 42 días el polímero del ejemplo 8 se degrada y apenas podía encontrarse de nuevo en el animal, esto en contraste con el polímero del ejemplo 14 que apenas se degradó. También la cápsula fibrosa en el caso del polímero del ejemplo 8 es mucho más delgada que en el caso del polímero del ejemplo 14.

### 15 Ejemplo 37

[0137] Estudios de degradación *in vitro*: el comportamiento de degradación de películas del polímero del ejemplo 14 fue estudiado en el tampón en presencia de enzimas de lipasa, mediante mediciones de masa (la masa seca de las muestras fue medida en una microbalanza Sartorius), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) después de aclarar las muestras tres veces con agua y secarlas a 40°C durante 1,5 horas.

[0138] Películas del polímero de ejemplo 14 fueron hechas mediante depósito por goteo de la solución de cloroformo y secado al vacío a 35-40°C durante 2-3 días antes de su uso. Muestras fueron agitadas en una lipasa (de *Thermomyces lanuginosus*, Aldrich) que contiene solución que fue diluida 1000 veces con solución de PBS suplementada con azida de sodio (0,05%) a 37°C durante 23 días. Durante la degradación enzimática del polímero 14 con la lipasa de *Thermomyces lanuginosus* se demostró la escisión de cadena con técnicas de cromatografía de permeación en gel. Después de 15 días ya se observó un 90% de pérdida de masa.

### 30 Ejemplo 38

[0139] La extracción del péptido del ejemplo 18 y el péptido GRGDS sin una unidad de UPy fuera de películas del ejemplo 29a fue investigada con mediciones LC-MS. La cantidad de péptido que fue mezclada en los materiales poliméricos es en ambos casos un 4 % molar. La calibración fue realizada mediante cuantificación de un fragmento del ión progenitor ( $MS^2$ ) de los péptidos usando concentraciones diferentes de los péptidos. El área de superficie del valor máximo correspondiente (en la cuenta de ión total) fue calculada con el algoritmo ICIS. Los experimentos de extracción fueron realizados de la siguiente manera: la película fue incubada a 37°C durante 5 minutos en 1 mL de agua, luego el agua fue eliminada y la concentración de péptido fue medida con el procedimiento LC-MS descrito (punto de tiempo: 5 minutos); otro 1 mL de agua se añadió a la película que fue posteriormente incubada nuevamente durante 5 minutos a 37°C seguido de la eliminación del agua que fue analizada con el método LC-MS (punto de tiempo: 10 minutos); otro 1 mL agua se añadió a la película y la muestra fue incubada durante 10 minutos a 37°C seguida de la eliminación del agua que fue analizada con el método LC-MS (punto de tiempo: 20 minutos); incubación a 37°C en otro 1 mL agua durante 20 minutos, seguido de la eliminación del agua que fue analizada con el método LC-MS (punto de tiempo: 40 minutos); e incubación a 37°C en otro 1 mL de agua durante 40 minutos, seguido de la eliminación del agua que fue analizada con el método LC-MS (punto de tiempo: 80 minutos).

[0140] Estos experimentos de extracción muestran que la disolución de GRGDS sin una fracción de UPy avanza extremadamente rápido en el agua a 37°C; en 5 minutos casi todos los péptidos son disueltos (Tabla 1). Después de 80 minutos de incubación a 37°C en un volumen total de 5 mL de agua la cantidad entera de péptido GRGDS (105%) es disuelta. Cuando una película con un 4 % molar de GRGDS se incubaba durante 2 horas a 37°C en 1 mL agua también la cantidad entera de péptido GRGDS (101%) es disuelta. La extracción de UPy-GRGDS con agua de la película de ejemplo 29a es un proceso más lento. Tras la incubación a 37°C de la película del ejemplo 29a con 4 % molar de UPy-GRGDS durante 80 minutos en un volumen total de 5 mL de agua en última instancia un 76% del péptido UPy es disuelto (Tabla 1). No obstante, si esta película con un 4 % molar de UPy-GRGDS se incubaba durante 2 horas en 1 mL de agua a 37°C 64% del péptido UPy-GRGDS es disuelto. Esto indica que la unidad de UPy es importante para la unión ajustable pero dinámica del péptido al polímero.

[0141] **Tabla 1.** Experimentos de extracción en películas de polímero del ejemplo 14 con UPy-GRGDS (película 29a) o GRGDS: el péptido GRGDS es extraído mucho más rápido en el agua que el péptido UPy-GRGDS.

Tiempo (min)	extracción GRGDS (%)	extracción UPy-GRGDS (%)
5	91	39
10	97	60
20	100	76

### Ejemplo 39

5 [0142] Prueba de estabilidad en materiales bioactivos m: a prueba de la estabilidad de las películas bioactivas de ejemplos 29a, 29b y 29c en el medio de la adhesión de célula completa y experimento de extensión celular fue repetida de ejemplo 33, pero este tiempo las muestras fueron incubados en el medio sin FBS (1 mL) en una incubadora humedecida a 37°C y 5% CO<sub>2</sub> durante 3 horas, antes de sembrar de las células en los polímeros. Después este paso de incubación, las muestras fueron lavadas dos veces con PBS solución y las células fueron cultivadas en el medio sin FBS en estas películas en una incubadora humedecida a 37°C y 5% CO<sub>2</sub> durante 1 día. Las células fueron estudiadas con microscopio óptico. Esto dio como resultado patrones adhesión y propagación similares como se muestra anteriormente (cf. ejemplo de la figura 33).

### Ejemplo 40: Hidrogel supramolecular con heparina

15 [0143] Soluciones acuosas de acrilamida (1,3 mL; 40% p/v en agua) y bisacrilamida (0,6 mL; 2% p/v en agua) fueron mezcladas. Esta mezcla fue diluida con tampón de tris(hidroximetil)aminometano (Tris, 1,2 mL; 0,4 M Tris-HCl, pH 8.8) y agua (1,5 mL) seguido de la adición de la heparina funcionalizada con unidad 4H del ejemplo 25 (123 mg). Esta mezcla fue calentada a 80°C y posteriormente, se añadió UPy6 (48 mg) disuelto en la acrilamida (0.20 mL). La mezcla fue polimerizada después de la adición de persulfato de amonio (50 µL; concentración final 0,1%) y N,N,N',N'-tetrametiletlenodiamina (TEMED, 2.5 µL; concentración final 0,1%), dando como resultado un 12% de gel de acrilamida con funcional con unidades 4H y con 2% en peso del componente bioactivo según el ejemplo 24.

### Ejemplo 41: Recubrimiento supramolecular polimerizado UV:

25 [0144] Polímero XI (2.5 g) y UPy6 (1,5 g) fueron disueltos en el hidroxietil acrilato (HEA, 10 g) junto con tetraetileneglicol diacrilato (TEGDA, 1.0 g), Irgacure 907™ (150 mg, obtenido de Ciba, Suiza) a 80°C. Luego una película de 100 µm fue mecánicamente extraída en un sustrato de vidrio y polimerizada por UV bajo una atmósfera de nitrógeno con una bombilla Fusion F600 D (I<sub>0</sub> = 5 W/cm<sup>2</sup>) con una velocidad de cinta de 10,4 m/min, equivalente a un tiempo de radiación de 0,3 s. Se obtuvo un recubrimiento claro con buenas propiedades mecánicas.

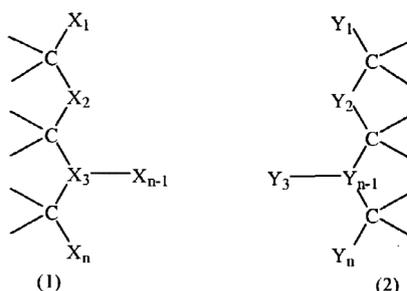
## REIVINDICACIONES

1. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico que comprende los componentes siguientes:

5 (a) un polímero que comprende al menos dos unidades 4H, siendo dicho polímero un polímero biorreabsorbible cuando el material supramolecular es biorreabsorbible; y

(b) un compuesto biológicamente activo;

10 donde la unidad 4H es representada por las fórmulas generales (1) o (2):



15 donde los enlaces C- $X_i$  y C- $Y_i$  representan cada uno un enlace único o doble, n es 4 o más, y  $X_i$  representa donantes o aceptores que forman puentes de hidrógeno con la unidad monomérica que forma puentes H conteniendo una forma general (2) correspondiente enlazada a éstos con  $X_i$  representando un donante e  $Y_i$  un aceptor y viceversa.

20 2. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según la reivindicación 1, donde el componente (a) comprende de tres a cincuenta unidades 4H.

3. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde el componente (a) tiene un  $M_n$  de 100 a 100.000.

25 4. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el componente (a) se deriva de polímeros con dos grupos hidroxilo terminales o dos grupos amino terminales primarios.

5. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según la reivindicación 4, donde los polímeros con dos grupos hidroxilo terminales o dos grupos amino terminales primarios tienen un  $M_n$  de 500 - 10000.

30 6. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico comprende un tercer componente (c), siendo dicho tercer componente (c) un polímero biorreabsorbible o biomédico.

35 7. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según la reivindicación 6, donde (c) comprende de una a cincuenta unidades 4H.

8. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el componente (b) comprende de una a cuatro unidades 4H.

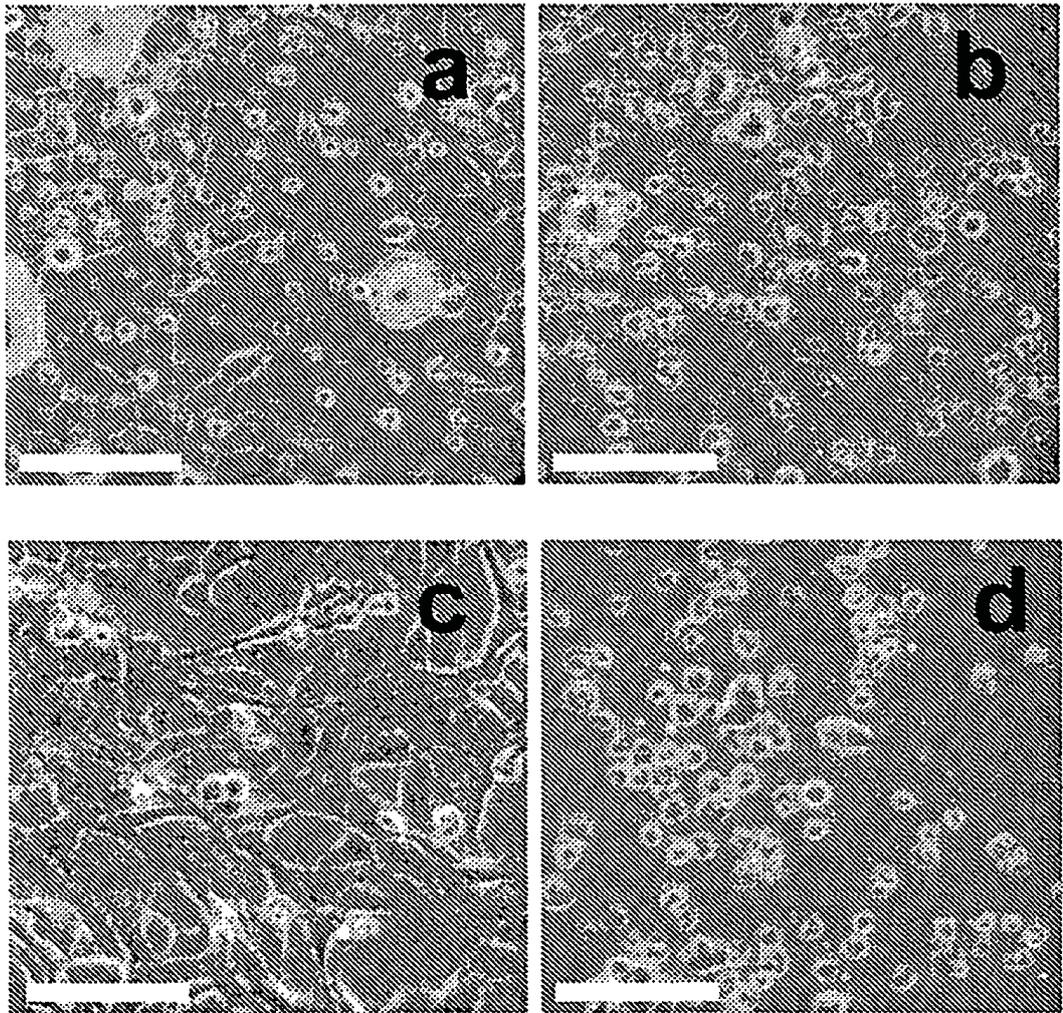
40 9. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el componente (b) es seleccionado del grupo que consiste en agentes antimicrobianos, agentes antivirales, agentes antitumorales, agentes antitrombogénicos, agentes anticoagulantes, agentes lubricantes, agentes de formación de imágenes, fármacos, medicinas, hormonas, agentes inmunogénicos, factores de crecimiento, citocinas, quimiocinas, colorantes (fluorescentes), agentes de contraste, ácidos nucleicos, lípidos, lipopolisacáridos, (poli)sacáridos, vitaminas, péptidos, oligopéptidos y proteínas.

45 10. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico comprende un 50,00 - 99,99 por ciento en peso del componente (a) y un 0,01 - 50,00 por ciento en peso del componente (b), basado en el peso total del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico.

50

- 5 11. Material supramolecular biorreabsorbible o biomédico según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el material supramolecular biorreabsorbible o biomédico comprende un 20,00 - 59,99 por ciento en peso del componente (a), un 0,01 - 40,0 por ciento en peso del componente (b) y un 0,01 - 40,00 por ciento en peso del componente (c), basado en el peso total del material supramolecular biorreabsorbible o biomédico.
12. Uso del material supramolecular biomédico según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 11 en implantes y composiciones de recubrimiento biomédicas y para la liberación controlada de fármacos.
- 10 13. Composición de recubrimiento biomédico que comprende un material supramolecular biomédico según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 11.

*Fig 1*



*Fig 2*

