

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 427 565**

51 Int. Cl.:

A61K 38/10 (2006.01)

A61P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.04.2006 E 06751519 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2013 EP 1879606**

54 Título: **Péptidos autoensambladores para promover la hemostasia**

30 Prioridad:

25.04.2005 US 674612 P

13.01.2006 US 758827 P

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

31.10.2013

73 Titular/es:

**MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY
(50.0%)**

**77 Massachusetts Avenue
Cambridge, MA 02142-1324, US y
VERSITECH LIMITED (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ELLIS-BEHNKE, RUTLEDGE;
ZHANG, SHUGUANG;
SCHNEIDER, GERALD;
SO, KWOK-FAI;
TAY, DAVID y
LIANG, YU-XIANG**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 427 565 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

Péptidos autoensambladores para promover la hemostasia

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 A pesar de la disponibilidad de productos sanguíneos, la pérdida de sangre es una causa importante de morbimortalidad. Hay muchas causas de tal pérdida, incluyendo lesión grave y estados clínicos tales como la ruptura de un aneurisma, úlceras esofágicas o gástricas, y varices esofágicas. Una pérdida de la integridad de una arteria importante puede conducir rápidamente a la muerte, particularmente si se produce en un marco en el que no hay ningún acceso rápido a cuidados médicos.

10 La hemorragia durante la cirugía es a menudo un problema importante. La pérdida de sangre puede provocar una miríada de problemas para el paciente, mientras que la presencia de sangre en localizaciones indeseables puede ser perjudicial al tejido normal o interferir con la capacidad del cirujano para ver el campo operativo. La cirugía se debe retrasar mientras que se elimina la sangre y se controla la hemorragia. La hemorragia puede ser problemática incluso durante cirugía mínimamente invasiva (*por ejemplo*, cirugía laparoscópica). En algunos casos, los cirujanos deben convertir estos procedimientos preferidos en cirugías abiertas tradicionales si la hemorragia no se puede controlar adecuadamente.

15 La hemorragia también puede ser problemática en procedimientos de diagnóstico y de intervención que implican la introducción percutánea de instrumentación en una arteria, vena o vaso más pequeño. Por ejemplo, los procedimientos tales como angioplastia coronaria, angiografía, aterectomía, y colocación de endoprótesis de arterias implican a menudo acceder a la vasculatura a través de un catéter colocado en un vaso sanguíneo, tal como la arteria femoral. Una vez que el procedimiento está terminado y se retira el catéter u otro instrumento, se debe de controlar la hemorragia desde el vaso punzado.

20 Las opciones para controlar la hemorragia en cualquiera de estos marcos son limitadas. Uno de los métodos más antiguos incluye aplicar presión, ya sea directamente a un vaso o al cuerpo externo al vaso. La presión se debe de mantener hasta que la hemorragia está bajo control. Este procedimiento consume tiempo y es inconveniente, y el paciente tiene riesgo de hematoma. Otros métodos físicos incluyen el uso de grapas, clips, tapones, esponjas, o similares. Estos dispositivos tienen una eficacia limitada, y pueden ser engorrosos a la hora de aplicarlos, particularmente si hay muchos vasos pequeños sangrando. El uso de calor para coagular la sangre y cauterizar vasos sangrantes se usa ampliamente durante la cirugía, pero es un proceso destructivo que puede dar como resultado daño a tejido colateral. Además, estos métodos requieren equipo y experiencia, y de este modo no son adecuados para uso fuera de los marcos médicos. Además del calor y los dispositivos mecánicos, se ha usado una variedad de compuestos para promover la hemostasia, pero ninguno de estos son ideales.

25 Ellis-Behnke et al. describen un armazón de nanofibra de péptido autoensamblador (SAP) que puede proporcionar una cubierta transparente para el campo quirúrgico y crear una biobarrera (Ellis-Behnke RG, Tay DKC, Liang YX, Zhang S, Schneider GE, So KF (Septiembre 2005) Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 1:243-281, Abstract 67, p. 269-270).

30 Por lo tanto, es un objeto de la presente invención proporcionar métodos y composiciones para controlar mejor las fugas de fluidos corporales tales como sangre, fluido intersticial, y fluido cerebroespinal.

Se describen adicionalmente composiciones formuladas de muchas maneras, incluyendo como una venda, pulverización, revestimiento, o polvo.

40 Se describe aún más una composición que se puede usar para controlar la fuga de fluidos corporales, pero es suficientemente transparente de manera que un médico puede ver y trabajar a través del material.

SUMARIO DE LA INVENCION

45 Las composiciones que incluyen péptidos que tienen una longitud en el intervalo de 8 a 200 restos de aminoácidos con monómeros alternos hidrófilos e hidrófobos que les permiten autoensamblarse en condiciones fisiológicas se formulan para la aplicación a heridas. La concentración de los péptidos autoensambladores en cualquier formulación dada puede variar, y puede estar entre aproximadamente 0,1% (1 mg/ml) y 10% (100 mg/ml), inclusive. Por ejemplo, la concentración de los péptidos autoensambladores (*por ejemplo*, en una formulación líquida) puede ser aproximadamente 0,1-3,0% (1-30 mg/ml) (*por ejemplo*, 0,1-1,0%; 1,0-2,0%; 2,0-3,0% o 1,0-3,0%). La concentración de péptidos autoensambladores puede ser mayor en disoluciones madre y en formulaciones sólidas (*por ejemplo*, en polvo). Las preparaciones sólidas pueden tener una concentración de péptidos autoensambladores que se aproxima al 100% (*por ejemplo*, la concentración de los péptidos autoensambladores puede ser 95, 96, 97, 98, 99% o más (*por ejemplo*, 99,99%) de la composición). Ya sea que estén en forma líquida o sólida, los péptidos se pueden llevar hasta la concentración deseada antes del uso mediante adición de un diluyente (*por ejemplo*, agua (*por ejemplo*, agua desionizada)), cargas, o aceite.

Las formulaciones incluyen un vehículo farmacéuticamente aceptable, o se proporcionan como parte de un dispositivo o revestimiento médico. Las formulaciones también pueden incluir otros agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico. Estos pueden ser antiinflamatorios, agentes vasoactivos, antiinfecciosos, anestésicos, factores de crecimiento, y/o células. Se pueden añadir metales como queladores, o para disminuir la adhesión. La formulación se puede proporcionar como un polvo seco o liofilizado que se puede administrar directamente como polvo o un comprimido, disco, u oblea, que se hidrata en el sitio de aplicación, o se puede suspender o disolver en un líquido, lo más preferible acuoso, y se puede aplicar como una pulverización, pintura, o inyección o un hidrogel que incluye un material tal como quitina, colágeno, alginato, o polímero sintético. El material se puede proporcionar en combinación con un aceite, y forma un laminado. La formulación se puede proporcionar como un revestimiento sobre un dispositivo, por ejemplo una endoprótesis o un catéter, que se puede aplicar disolviendo los péptidos autoensambladores en una disolución acuosa y secando el dispositivo, o se puede mezclar con un vehículo polimérico y se puede aplicar al dispositivo.

La formulación también se puede proporcionar en una venda, espuma o matriz, en la que los péptidos se pueden dispersar o absorber. La formulación también podría estar en forma de suturas, cinta, o adhesivo, o se podría aplicar a un material, tal como una gasa estéril quirúrgica, para evitar la contaminación. El material también es útil para aislar tejido, por ejemplo durante la retirada de un tejido o tumor específico, en el ojo o pulmón para evitar hemorragia (como respuesta a fiebre hemorrágica), para conservar el tejido para el trasplante o recolocación subsiguiente, y como agente para dar cuerpo, estabilizante o hidratante. Como se señala, el material se puede usar para facilitar la eliminación de un tumor, incluyendo un tumor que es difícil de extirpar debido a, por ejemplo, su tamaño (como puede ocurrir con los hepatomas), consistencia, o localización (*por ejemplo*, un neuroma acústico). Los métodos pueden incluir identificar un paciente (*por ejemplo*, un paciente humano) que necesite tratamiento y proporcionar una composición que incluya péptidos autoensambladores en la vecindad del tumor. La cantidad de la composición usada, y la concentración de los péptidos en ella, será suficiente para permitir que la composición forme un gel o revestimiento o cubierta semisólida alrededor del tumor, una porción del mismo, o células del mismo. El cirujano disecciona entonces a través del gel que rodea al tumor (o una porción identificada del mismo) y retira el gel que cubre el tumor, la porción del mismo, o células tumorales.

El material puede ser útil en un estabilizado de la sangre, puesto que no destruye la sangre e inhibe la agregación plaquetaria. Los materiales, a concentraciones insuficientes para el autoensamblaje, se pueden usar para conservar sangre.

Una o más de las composiciones descritas aquí se pueden ensamblar en kits, junto con instrucciones para uso. Por ejemplo, los kits pueden incluir una composición biocompatible que incluye péptidos autoensambladores (o una formulación en disolución concentrada o en polvo de los mismos, junto con un diluyente) y un vasoconstrictor, un agente colorante, y/o un analgésico o anestésico, e instrucciones para su combinación (si no están ya combinados) y su uso (*por ejemplo*, dilución y administración). Los kits pueden incluir además uno o más de los agentes adicionales descritos aquí. Estos agentes pueden estar presentes en una composición a base de péptidos o se pueden envasar separadamente, y pueden incluir uno o más tipos de células biológicas, un antimicrobiano (*por ejemplo*, antibiótico) u otra sustancia terapéutica, colágeno, un agente antiinflamatorio, un factor de crecimiento, o un nutriente. El kit también puede incluir uno o más de una jeringuilla, una aguja, gasa, esponjas, algodón, torundas, una venda, un tapón para hemorragia nasal, un desinfectante, un tornillo quirúrgico, tijeras, un escalpelo, un fluido estéril, un bote de pulverización, incluyendo aquellos en los que se pulveriza una disolución líquida a través de una bomba manual simple, un recipiente estéril, o guantes desechables.

Excepto que el contexto dicte otra cosa, se pretende que los términos "composición o composiciones", "material o materiales", y "formulación o formulaciones" se usen de forma intercambiable.

Las formulaciones se pueden administrar según sea apropiado para el tratamiento de uno o más trastornos o afecciones. Por ejemplo, las formulaciones se pueden aplicar para reparar una lesión o durante cirugía, por ejemplo del pulmón, ojo o duramadre, o tras una punción epidural o espinal, para detener la fuga de sangre, fluido intersticial, o fluido cerebroespinal. La formulación se puede administrar a una quemadura o úlcera, especialmente cuando se formula con anestésicos, antiinflamatorios, factores de crecimiento, y antiinfecciosos, en forma de una espuma, matriz o venda, para detener la hemorragia (cualquiera de tales inhibiciones se puede caracterizar como una promoción de la hemostasia) o pérdida de fluido intersticial. La formulación puede incluirse en (*por ejemplo*, se puede dispersar en o revestir sobre) una sutura o adhesivo para la administración en el momento de o según se libere tras suturar o pegar una herida, limitando de ese modo la hemorragia, pérdida de fluidos tisulares, u otros fluidos tales como los producidos por tejidos parenquimatosos tales como el hígado, páncreas, y tubo digestivo. La formulación se puede aplicar a cualquier sitio de hemorragia en una venda, gasa, esponja, u otro material para el control inmediato de hemorragia, o se puede liberar más tarde para controlar la hemorragia si el tratamiento inicial, tal como la sutura o la presión, es insuficiente. El tejido seco, las espumas deshidratadas o hidrogeles, o las vendas que contienen la formulación pueden ser parte de kits de primeros auxilios para el tratamiento de lesiones, por ejemplo en la guerra, en sitios de accidentes, o en hospitales en los que se puede necesitar un tratamiento rápido y el espacio de almacenamiento es limitado. La venda o apósito puede incluir una primera capa de forma y tamaño suficientes para cubrir una herida o una porción sustancial de la misma (*por ejemplo*, la porción más lesionada del tejido, o el área que sangra más profusamente). La primera capa puede tener una superficie superior, una superficie inferior, y un perímetro que está, opcionalmente, cubierto total o parcialmente con un adhesivo. Una segunda capa

de la venda o apósito puede estar fija de forma despegable a la superficie inferior de la primera capa, excluyendo opcionalmente el perímetro o cualquier parte del perímetro que posea adhesivo, y puede incluir una composición líquida o no líquida (*por ejemplo*, un gel, pasta, espuma, crema, ungüento, composiciones en polvo y obleas o discos), que incluye péptidos autoensambladores. La composición entrará en contacto con la herida al aplicar la
 5 venda o apósito, y es transferible desde la venda o apósito al sitio de herida al retirar la primera capa o las capas primera y segunda. En configuraciones más simples, la composición que incluye moléculas autoensambladoras se puede asociar con la parte inferior de la primera capa (*por ejemplo*, interior al perímetro adhesivo), y se puede omitir la segunda capa. En cualquier caso, la primera y/o la segunda capa puede incluir una ventana transparente, a través de la cual se puede visualizar parte o toda la herida subyacente. La composición que incluye el agente o agentes
 10 autoensambladores se puede añadir a la venda antes de que se envase, o justo antes del uso. La formulación puede incluir una barrera física adicional, tal como una barrera de película de silicona, para evitar la pérdida de fluido por secado, después de que el flujo activo de fluidos se haya detenido por aplicación de la formulación. La formulación se puede aplicar como un hidrogel, laminado que incluye aceite, o pulverización.

Las formulaciones líquidas se pueden proporcionar en una jeringuilla o pipeta que tiene un barril que contiene una composición que incluye péptidos autoensambladores, y un medio para expeler la composición desde una punta abierta de la jeringuilla o pipeta (*por ejemplo*, un émbolo o bulbo). La jeringuilla puede consistir en uno o más
 15 compartimentos, de manera que se pueda producir el mezclamiento de los péptidos autoensambladores con uno o más agentes adicionales en el momento de la aplicación. Los compartimentos también pueden contener un excipiente, tal como un material que forma un hidrogel o adhesivo, en un compartimento, y los péptidos autoensambladores en el otro compartimento (respectivamente, compartimentos primero y segundo). Un compartimento (un primer compartimento) puede contener péptidos autoensambladores liofilizados o partículas de péptidos autoensambladores, y otro compartimento (un segundo compartimento) puede contener una disolución para disolver o hidratar los péptidos. La composición en el barril puede incluir además un agente terapéutico,
 20 profiláctico o de diagnóstico, o un agente colorante, o cualquier otro agente no fibroso descrito aquí. Los compartimentos de la jeringuilla se pueden unir en un extremo común mediante una unión en Y, para permitir dispensar y mezclar simultáneamente las composiciones, materiales o formulaciones en cada compartimento, y el émbolo u otro dispositivo usado para expeler las composiciones se puede configurar adecuadamente para adaptarse a los compartimentos. en el que los péptidos autoensambladores tienen una longitud en el intervalo de 8 a 200 restos de aminoácidos,

La presente invención engloba el uso de las composiciones, que incluyen péptidos autoensambladores, y composiciones a base de péptidos autoensambladores, independientemente de la forma, en el que los péptidos autoensambladores tienen una longitud en el intervalo de 8 a 200 restos de aminoácidos, para promover la hemostasia, proteger la piel o heridas de ella de la contaminación, e inhibir el movimiento de sustancias corporales distintas de la sangre (como se describe aquí).

35 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra la secuencia de un péptido autoensamblador representativo, RADA16-I, y un modelo de llenado de espacios que ilustra la estructura que se repite y la escala aproximada.

La Figura 2 es una gráfica que compara el tiempo requerido para lograr la hemostasia total después del tratamiento con la disolución peptídica (barra de la derecha; SAP (péptido autoensamblador)) frente al control de disolución salina (barra de la izquierda). El estudio se llevó a cabo como se describe en el Ejemplo 1. De forma breve, se anestesiaron roedores adultos, se retiró una porción del cráneo, y se cortó transversalmente una vena del seno sagital superior, y se trató entonces con disolución peptídica o con disolución salina.

La Figura 3 es una gráfica de la duración de la hemorragia en los controles tratados con disolución salina (barra de la izquierda) y en los casos tratados con péptido (derecha), medida desde el comienzo de la aplicación de la disolución peptídica hasta la terminación de la hemostasia tras el corte transversal de la arteria femoral, como se describe en el Ejemplo 2.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

I. Formulaciones

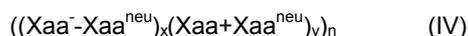
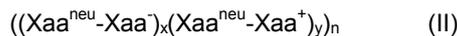
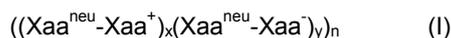
A. Péptidos autoensambladores

El término “péptido”, como se usa aquí, incluye “polipéptido”, “oligopéptido”, y “proteína”, y se refiere a una cadena de 8 a 200 restos de α -aminoácidos enlazados juntos mediante enlaces covalentes (*por ejemplo*, enlaces peptídicos). Dependiendo del contexto, “péptido” se puede referir a un péptido individual o a una colección de péptidos que tienen las mismas secuencias o diferentes, cualquiera de los cuales puede contener sólo restos de α -aminoácidos de origen natural, restos de α -aminoácidos de origen no natural, o ambos. En la técnica, también se conocen análogos de α -aminoácidos, y se pueden emplear como alternativa. En particular, se pueden usar restos de α -aminoácidos de la forma D. Además, uno o más de los restos de aminoácidos en un péptido autoensamblador se puede alterar o derivatizar mediante la adición de una entidad química tal como un grupo acilo, un grupo hidrato de
 55

carbono, una cadena de hidrato de carbono, un grupo fosfato, un grupo farnesilo, un grupo isofarnesilo, un grupo ácido graso, o un enlazador para conjugación o funcionalización. Los péptidos útiles también pueden ser ramificados, en cuyo caso contendrán polímeros de al menos dos aminoácidos, cada uno de los cuales consiste en al menos tres restos de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos. Los propios polímeros de dos aminoácidos están enlazados, pero no mediante un enlace peptídico.

Aunque las secuencias de los péptidos pueden variar, las secuencias útiles incluye aquellas que transmiten una naturaleza anfifílica a los péptidos (*por ejemplo*, los péptidos pueden incluir números aproximadamente iguales de restos de aminoácidos hidrófobos e hidrófilos), y los péptidos pueden ser complementarios y estructuralmente compatibles. Los péptidos complementarios tienen una capacidad para interactuar a través de enlaces iónicos o de hidrógeno que se forman entre los restos (*por ejemplo*, restos hidrófilos) en péptidos adyacentes en una estructura. Por ejemplo, un resto hidrófilo dado en un péptido puede enlazarse mediante hidrógeno o emparejarse iónicamente con un resto hidrófilo en un péptido adyacente. Los restos desemparejados se pueden exponer al disolvente. La interacción péptido-péptido también puede implicar fuerzas de van der Waals u otras fuerzas que no constituyen enlaces covalentes. Los péptidos son estructuralmente compatibles cuando son capaces de mantener una distancia intrapeptídica suficientemente constante para permitir el ensamblaje y la formación de la estructura. Aunque la distancia intrapeptídica puede variar, puede ser bastante pequeña (*por ejemplo*, menor que alrededor de 4, 3, 2, o 1 Å). Sin embargo, la distancia intrapeptídica (*por ejemplo*, una media de un número representativo de distancias) puede ser mayor que esto. Estas distancias se pueden calcular basándose en modelos moleculares o basándose en un procedimiento simplificado que se ha dado a conocer previamente (véase la patente U.S. número 5.670.483).

Más específicamente, los péptidos pueden tener, o pueden incluir, una secuencia de restos de aminoácidos que se ajusta a una o más de las Fórmulas I-IV:



en las que: Xaa^{neu} representa un resto de aminoácido que tiene una carga neutra; Xaa⁺ representa un resto de aminoácido que tiene una carga positiva; Xaa⁻ representa un resto de aminoácido que tiene una carga negativa; x e y son números enteros que tienen un valor de 1, 2 ó 4, independientemente; y n es un número entero que tiene un valor de 1-10 (*por ejemplo*, 1-8, 1-5, o 1-3).

Los péptidos autoensambladores pueden tener una secuencia de restos de aminoácidos en la que Xaa^{neu} representa alanina, valina, leucina, isoleucina, o glicina; Xaa⁺ representa arginina, lisina o histidina; y Xaa⁻ representa ácido aspártico o ácido glutámico. Por ejemplo, los péptidos autoensambladores pueden tener, o pueden incluir, la secuencia de aminoácidos RADARADARADA (SEC ID No: 31). Otros ejemplos incluyen ARADARADARAD (SEC ID NO: 70); AKADAKADAKAD (SEC ID NO: 71); AHADAHADAHAD (SEC ID NO: 72); ARAEARAEARAE (SEC ID NO: 73); AKAEAKAEAKAE (SEC ID NO: 74); y AHAEAHAEAHAE (SEC ID NO: 75).

Las estructuras descritas aquí se pueden formar a través del autoensamblaje de los péptidos descrito en las patentes U.S. n^{os} 5.670.483; 5.955.343; 6.548.630; y 6.800.481 y en Holmes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97:6728-6733 (2000); Zhang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:3334-3338 (1993); Zhang et al., Biomaterials, 16:1385-1393 (1995); Caplan et al., Biomaterials, 23:219-227 (2002); Leon et al., J. Biomater. Sci. Polym. Ed., 9:297-312 (1998); y Caplan et al., Biomacromolecules, 1:627-631 (2000). Los péptidos autoensambladores representativos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Péptidos autoensambladores representativos

Nombre	Secuencia (n-->c)	Módulo	
RADAR16-I	n-RADARADARADARADA-c	I	(SEC ID n ^o 1)
RGDA16-I	n-RADARGDARADARGDA-c	I	(SEC ID n ^o 2)
RADA8-I	n-RADARADA-c	I	(SEC ID n ^o 3)
RAD16-II	n-RARADADARARADADA-c	II	(SEC ID n ^o 4)
RAD8-II	n-RARADADA-c	II	(SEC ID n ^o 5)

ES 2 427 565 T3

Nombre	Secuencia (n-->c)	Módulo	
EAKA16-I	n-AEAKAEAKAEAKAEAK-c	I	(SEC ID nº 6)
EAKA8-I	n-AEAKAEAK-c	I	(SEC ID nº 7)
RAEA16-I	n-RAEARAEARAEARAEA-c	I	(SEC ID nº 8)
RAEA8-I	n-RAEARAEA-c	I	(SEC ID nº 9)
KADA16-I	n-KADAKADAKADAKADA-c	I	(SEC ID nº 10)
KADA8-I	n-KADAKADA-c	I	(SEC ID nº 11)
EAH16-II	n-AEAEAHAAHAEAEAHAAH-c	II	(SEC ID nº 12)
EAH8-II	n-AEAEAHAAH-c	II	(SEC ID nº 13)
EFK16-II	n-FEFEFKFKFEFEFKFK-c	II	(SEC ID nº 14)
EFK8-II	n-FEFKFEFK-c	I	(SEC ID nº 15)
ELK16-II	n-LELELKLKLELELKLK-c	II	(SEC ID nº 16)
ELK8-II	n-LELELKLK-c	II	(SEC ID nº 17)
EAK16-II	n-AEAEAKAKAEAEAKAK-c	II	(SEC ID nº 18)
EAK12	n-AEAEAEAEAKAK-c	IV/II	(SEC ID nº 19)
EAK8-II	n-AEAEAKAK-c	II	(SEC ID nº 20)
KAE16-IV	n-KAKAKAKAEAEAEAE-c	IV	(SEC ID nº 21)
EAK16-IV	n-AEAEAEAEAKAKAKAK-c	IV	(SEC ID nº 22)
RAD16-IV	n-RARARARADADADADA-c	IV	(SEC ID nº 23)
DAR16-IV	n-ADADADADARARARAR-c	IV	(SEC ID nº 24)
DAR16-IV *	n-DADADADARARARARA-c	IV	(SEC ID nº 25)
DAR32-IV	n-(ADADADADARARARAR)-c	IV	(SEC ID nº 26)
EHK16	n-HEHEHKHKHEHEHKHK-c	N/A	(SEC ID nº 27)
EHK8-I	n-HEHEHKHK-c	N/A	(SEC ID nº 28)
VE20*	n-VEVEVEVEVEVEVEVEVE-	N/A	(SEC ID nº 29)
RF20*	n-RFRFRFRFRFRFRFRFRF-c	N/A	(SEC ID nº 30)
RAD 12-I	n-RADARADARADA-c	I	(SEC ID nº <u>31</u>)
	n-AKAKAEAEAKAKAEAE-c		(SEC ID nº <u>32</u>)
	n-AKAEAKAEAKAEAKAE-c		(SEC ID nº <u>33</u>)
	n-EAKAEAKAEAKAEAKA-c		(SEC ID nº <u>34</u>)
	n-KAEAKAEAKAEAKAEA-c		(SEC ID nº <u>35</u>)
	n-ADADARARADADARAR-c		(SEC ID nº <u>36</u>)
	n-ARADARADARADARAD-c		(SEC ID nº <u>37</u>)
	n-DARADARADARADARA-c		(SEC ID nº <u>38</u>)
	n-ADARADARADARADAR-c		(SEC ID nº <u>39</u>)
	n-ARADAKAEARADAKAE-c		(SEC ID nº <u>40</u>)

Nombre	Secuencia (n-->c)	Módulo
	n-AKAEARADAKAEARAD-c	(SEC ID nº 41)
	n-ARAKADAEARAKADAE-c	(SEC ID nº 42)
	n-AKARAEADAKARADAE-c	(SEC ID nº 43)
	n-AQAQAQAQAQAQAQAQ-c	(SEC ID nº 44)
	n-VQVQVQVQVQVQVQ-c	(SEC ID nº 45)
	n-YQYQYQYQYQYQYQ-c	(SEC ID nº 46)
	n-HQHQHQHQHQHQHQH-c	(SEC ID nº 47)
	n-ANANANANANANANAN-c	(SEC ID nº 48)
	n-VNVNVNVNVNVNVNVN-c	(SEC ID nº 49)
	n-YNYNYNYNYNYNYN-c	(SEC ID nº 50)
	n-HNHNHNHNHNHNHN-c	(SEC ID nº 51)
	n-ANAQANAQANAQANAQ-c	(SEC ID nº 52)
	n-AQANAQANAQANAQAN-c	(SEC ID nº 53)
	n-VNVQVNVQVNVQVNVQ-c	(SEC ID nº 54)
	n-VQVNVQVNVQVNVQVN-c	(SEC ID nº 55)
	n-YNQYNYQYNYQYNYQ-c	(SEC ID nº 56)
	n-YQYNYQYNYQYNYQYN-c	(SEC ID nº 57)
	n-HNHQHNHQNHNHQNHN-c	(SEC ID nº 58)
	n-HQHNNHQNHNHQNHN-c	(SEC ID nº 59)
	n-AKAQADAKAQADAKAQAD-c	(SEC ID nº 60)
	n-VKVQVDVKVQVDVKVQVD-c	(SEC ID nº 61)
	n-YKYQYDYKYQYDYKYQYD-c	(SEC ID nº 62)
	n-HKHQHDHKKHQHDHKKHQHD-c	(SEC ID nº 63)
	n-VDVDVKVKVDVDVKVK-c	(SEC ID nº 64)
	n-KVKVKVKVKVKVKVKV-c	(SEC ID nº 65)
°	n-EVEVEVEVEVEVEVEV-c	(SEC ID nº 66)
	n-VDVDVDVDVDVDVDVD-c	(SEC ID nº 67)
	n-VRVRVDVDRVRVDVD-c	(SEC ID nº 68)
	n-VRVRVDVDRVRVDVD-c	(SEC ID nº 69)

N/A representa no aplicable

* Estos péptidos forman una lámina β cuando se incuban en una disolución que contiene NaCl; sin embargo, no se ha observado que se autoensamblen para formar estructuras macroscópicas.

Se pueden generar otros péptidos autoensambladores útiles, por ejemplo, que difieren de los ejemplificados mediante un único resto de aminoácido o mediante múltiples restos de aminoácidos (*por ejemplo*, mediante inclusión o exclusión de un cuarteto que se repite). Por ejemplo, se puede incorporar uno o más restos de cisteína en los péptidos, y estos restos se pueden enlazar entre sí mediante la formación de enlaces de disulfuro. Las estructuras

enlazadas de esta manera pueden tener una mayor resistencia mecánica con respecto a estructuras hechas de péptidos comparables que no incluyen restos de cisteína.

Los restos de aminoácidos en los péptidos autoensambladores pueden ser restos de aminoácidos de origen natural o de origen no natural. Los aminoácidos de origen natural pueden incluir restos de aminoácidos codificados por el código genético estándar así como aminoácidos no estándar (*por ejemplo*, aminoácidos que tienen la configuración D en lugar de la configuración L), así como aquellos aminoácidos que se pueden formar mediante modificaciones de aminoácidos estándar (*por ejemplo* pirrolisina o selenocisteína). Los aminoácidos de origen no natural no se han encontrado en la naturaleza, pero se pueden incorporar en una cadena peptídica. Estos incluyen D-aloisoleucina, ácido (2R,3S)-2-amino-3-metilpentanoico, L-ciclopentilglicina, ácido (S)-2-amino-2-ciclopentilacético. Para otros ejemplos, se pueden consultar los libros de texto o la web mundial (un sitio es mantenido por el California Institute of Technology, y presenta estructuras de aminoácidos no naturales que se han incorporado con éxito en proteínas funcionales). Se pueden usar restos de aminoácidos no naturales y los derivados de aminoácidos dados en la Solicitud U.S. nº 20040204561 (véase el párrafo 0042, por ejemplo). Los péptidos autoensambladores se pueden sintetizar químicamente o purificar a partir de fuentes naturales o producidas recombinantemente, mediante métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, los péptidos se pueden sintetizar usando química f-moc estándar, y se pueden purificar usando cromatografía de líquidos de altas presiones (HPLC).

Cuando se usan péptidos autoensambladores, se piensa que sus cadenas laterales (o grupos R) se dividen en dos caras, una cara polar con cadenas laterales iónicas positiva y/o negativamente cargadas, y una cara no polar con cadenas laterales que se consideran neutras o no cargadas a pH fisiológico (*por ejemplo*, la cadena lateral de un resto de alanina o restos que tienen otros grupos hidrófobos). Los restos de aminoácidos cargados positivamente y cargados negativamente en la cara polar de un péptido pueden formar pares iónicos complementarios con restos cargados opuestamente del otro péptido. Por lo tanto, estos péptidos se pueden denominar péptidos autocomplementarios, iónicos. Si los restos iónicos alternan con un resto cargado positivamente y un resto cargado negativamente en la cara polar (- + - + - +), los péptidos se pueden describir como "módulo I"; si los restos iónicos alternan con dos restos cargados positivamente y dos restos cargados negativamente (- - + + - -) en la cara polar, los péptidos se describen como "módulo II"; si el resto iónico alterna con tres restos cargados positivamente y tres restos cargados negativamente (+++---+++---) en la cara polar, los péptidos se describen como "módulo III"; si los restos iónicos alternan con cuatro restos cargados positivamente y cuatro restos cargados negativamente (++++---++++---) en la cara polar, se describen como "módulo IV". Un péptido que tiene cuatro unidades que se repiten de la secuencia EAKA se puede denominar EAKA16-I, y los péptidos que tienen otras secuencias se pueden describir mediante la misma convención.

Los péptidos autocomplementarios tales como EAKA16-1, RADA16-1, RAEA16-I, y KADA16-I se describen en la Tabla 1. Los péptidos con módulo I, es decir, péptidos que tienen grupos R alternos cargados positiva y negativamente en una cara (por ejemplo, la cara polar) de la lámina β , se describen mediante cada una de las Fórmulas I-IV, en las que x e y son 1. Los péptidos de módulo II, es decir, péptidos que tienen dos restos que poseen un tipo de carga (por ejemplo, una carga positiva) seguido de dos restos que poseen otro tipo de carga (por ejemplo, una carga negativa) se describen mediante las mismas fórmulas en las que tanto x como y son 2. También se han estudiado péptidos de módulo III, es decir, péptidos que tienen tres restos que poseen un tipo de carga (por ejemplo, una carga positiva) seguido de tres restos que poseen otro tipo de carga (por ejemplo, una carga negativa), tales como RARARADADADA (SEC ID NO:76).

También se han estudiado péptidos autocomplementarios iónicos de módulo IV que contienen 16 aminoácidos, tales como EAK16-IV, KAE16-IV, DAR16-IV, y RAD16-IV. Si los restos cargados en estos péptidos autoensambladores están sustituidos (*por ejemplo*, las lisinas cargadas positivamente se sustituyen por argininas cargadas positivamente, y los glutamatos cargados negativamente se sustituyen por aspartatos cargados negativamente), no hay esencialmente efectos significativos conocidos sobre el proceso de autoensamblaje. Sin embargo, si los restos positivamente cargados (lisina y arginina) se sustituyen por restos negativamente cargados (aspartato y glutamato), los péptidos ya no pueden autoensamblarse para formar estructuras macroscópicas. Sin embargo, todavía pueden formar una estructura de lámina beta en presencia de una sal. En los péptidos se puede incorporar otros restos hidrófilos que forman enlaces de hidrógeno, tales como asparagina y glutamina, en lugar de, o además de, restos cargados. Si los restos de alanina en los péptidos se cambian a restos más hidrófobos, tales como leucina, isoleucina, fenilalanina o tirosina, los péptidos resultantes tienen una mayor tendencia a autoensamblarse y formar matrices peptídicas con resistencia mejorada. Algunos péptidos que tienen composiciones y longitudes similares de aminoácidos como los péptidos descritos aquí forman hélices alfa y enrollamientos al azar en lugar de láminas beta, y no forman estructuras macroscópicas. De este modo, además de la autocomplementariedad, es probable que otros factores sean importantes para la formación de estructuras macroscópicas, tales como la longitud peptídica, el grado de interacción intermolecular, y la capacidad para formar conjuntos escalonados.

Las estructuras a base de péptidos se pueden formar de mezclas heterogéneas de péptidos (*es decir*, mezclas que contienen más de un tipo de péptido que se ajusta a una fórmula dada o a dos o más de las fórmulas). Cada uno de los tipos de péptidos en la mezcla puede ser capaz de autoensamblarse solo. Como alternativa, uno o más de cada tipo de péptido no se autoensamblaría solo, pero la combinación de péptidos heterogéneos se puede autoensamblar (*es decir*, los péptidos en la mezcla son complementarios y estructuralmente compatibles entre sí). De este modo, se puede usar una mezcla homogénea de péptidos autocomplementarios y autocompatibles de la misma secuencia o

que contienen la misma subunidad que se repite, o una mezcla heterogénea de diferentes péptidos que son complementarios y estructuralmente compatibles entre sí. Por ejemplo, se esperaría que mezclas de KAKAKAKAKAKAKAKA (SEC ID NO:65) y EAEAEAEAEAEAEAEA (SEC ID NO:66) o de KAKAKAKAKAKAKAKA (SEC ID NO: 65) y ADADADADADADADAD (SEC ID NO: 67) formen membranas, pero no ninguno de estos péptidos solos, debido a la falta de complementariedad.

Las composiciones descritas aquí (independientemente de la forma precisa (*por ejemplo*, ya sea en una forma líquida o moldeada) e independientemente de las composiciones globales (*por ejemplo*, tanto si se combinan con otro agente, están contenidas en un dispositivo, o envasadas en un kit) pueden incluir una mezcla de RADA16-I (SEC ID NO:1) o RADA12-I y EAKA16-I (SEC ID NO:6) o EAK16-II (SEC ID NO:18). Otras mezclas pueden incluir RAD16-II (SEC ID NO:4) o RAD12-II y EAKA16-I (SEC ID NO:6) o EAK16-II (SEC ID NO:18). Otras mezclas pueden incluir diversas longitudes de la misma secuencia peptídica o mezclas de péptidos de módulo I y módulo II. Por ejemplo, se podría usar una mezcla de RADA12-I y RADA12-II; de RADA16-I y RADA16-II; de RADA12-I y RADA16-I; de RADA12-II y RADA16-II; de EAKA12-I y EAKA12-II; de EAKA16-I y EAKA16-II; de EAKA12-I y EAKA16-II; o de EAKA12-II y EAKA16-II. El uso de una mezcla en lugar de un único péptido puede modular propiedades tales como la velocidad de ensamblaje y la rigidez del material ensamblado. En resumen, los péptidos útiles en la invención tienen una secuencia de 8 a 200 restos de aminoácidos hidrófobos e hidrófilos alternos que son complementarios y estructuralmente compatibles. Los péptidos que tienen una longitud menor que 100 restos de aminoácidos, más preferiblemente una longitud menor que aproximadamente 50 aminoácidos, se pueden ensamblar más fácilmente. Los restos de aminoácidos se pueden seleccionar de D-aminoácidos o L-aminoácidos, y los péptidos o mezclas de péptidos pueden incluir sus combinaciones. Los restos de aminoácidos hidrófobos de origen natural adecuados incluyen Ala, Val, Ile, Met, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr y Gly. Los restos de aminoácidos hidrófilos pueden ser aminoácidos básicos (*por ejemplo*, Lys, Arg, His, Orn); aminoácidos ácidos (*por ejemplo*, Glu, Asp); o aminoácidos que forman enlaces de hidrógeno (*por ejemplo*, Asn, Gln). Si en la estructura están presentes L-aminoácidos, la degradación produce aminoácidos que se pueden reusar por el tejido hospedante. El hecho de que restos de aminoácidos configurados L se produzcan de forma natural en el cuerpo distingue a esta clase de compuestos de otras numerosas sustancias biocompatibles, y puede ofrecer ventajas únicas.

Se puede modificar uno cualquiera o ambos extremos de un péptido dado. Por ejemplo, los grupos carboxilo y/o amino de los restos carboxil- y amino-terminales, respectivamente, se pueden proteger o no proteger. La carga en el término también se puede modificar. Por ejemplo, un grupo o radical tal como un grupo acilo (RCO-, en el que R es un grupo orgánico (*por ejemplo*, un grupo acetilo (CH₃CO-)) puede estar presente en el término N de un péptido para neutralizar una carga positiva "extra" que puede estar presente de otro modo (*por ejemplo*, una carga que no resulta de la cadena lateral del aminoácido N-terminal). De forma similar, se puede usar un grupo tal como un grupo amina (NH₂) para neutralizar una carga negativa "extra" que puede estar presente de otro modo en el término C (*por ejemplo*, una carga que no resulta de la cadena lateral del resto de aminoácido C-terminal). Cuando se usa una amina, el término C poseería una amida (-CONH₂). La neutralización de cargas en un término puede facilitar el autoensamblaje. Una persona de pericia normal en la técnica será capaz de seleccionar otros grupos adecuados.

Se pueden formar estructuras autoensambladas que tienen grados variables de rigidez o elasticidad. Las estructuras tienen típicamente un módulo elástico bajo (*por ejemplo*, un módulo en el intervalo de 1-10 kPa según se mide mediante métodos estándar, tales como en un reómetro de placa y cono estándar). Pueden ser preferibles valores bajos, ya que permiten la deformación de la estructura como resultado del movimiento, en respuesta a la presión, en el caso de contracción celular. Más específicamente, la rigidez se puede controlar de muchas maneras, incluyendo el cambio de la longitud, secuencia y/o concentración de las moléculas precursoras (*por ejemplo*, péptidos autoensambladores). También se pueden emplear otros métodos para aumentar la rigidez. Por ejemplo, se pueden unir, a los precursores, moléculas de biotina o cualesquiera otras moléculas que se puedan reticular subsiguientemente o enlazar de otro modo entre sí. Las moléculas (*por ejemplo*, biotina) se pueden incluir en un término N o C de un péptido, o se pueden unir a uno o más restos entre los términos. Cuando se usa biotina, la reticulación se puede lograr mediante adición subsiguiente de avidina. Los péptidos que contienen biotina, o los péptidos que contienen otras moléculas reticulables, están dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, los restos de aminoácidos con anillos aromáticos se pueden incorporar y reticular mediante exposición a luz ultravioleta. El grado de reticulación se puede controlar de forma precisa aplicando la radiación durante una longitud de tiempo predeterminada a péptidos de secuencia y concentración conocidos. El grado de reticulación se puede determinar mediante dispersión de la luz, filtración en gel, o microscopía electrónica de barrido usando métodos estándar. Además, la reticulación se puede examinar mediante análisis de HPLC o espectrometría de masas de la estructura tras la digestión con una proteasa, tal como metaloproteasas de la matriz. La resistencia del material se puede determinar antes y después de la reticulación. Independientemente de si se logra la reticulación mediante un agente químico o mediante energía luminosa, las moléculas se pueden reticular en el transcurso de la creación de un molde, o cuando se aplican disoluciones que contienen péptidos al organismo.

La semivida (*por ejemplo*, la semivida *in vivo*) de las estructuras también se puede modular incorporando sitios de escisión de proteasas o peptidasas en los precursores que forman subsiguientemente una estructura dada. Las proteasas o peptidasas que aparecen de forma natural *in vivo* o que se introducen (*por ejemplo*, por un cirujano) pueden promover entonces la degradación escindiendo sus sustratos relacionados. Se pueden hacer combinaciones de cualquiera de las modificaciones descritas aquí. Por ejemplo, se pueden utilizar péptidos autoensambladores que

incluyen un sitio de escisión de proteasas y un resto de cisteína y/o un agente de reticulación, kits y dispositivos que los contienen, y métodos para usarlos.

La Figura 1 muestra la secuencia de un péptido autoensamblador representativo, RADA16-I, y un modelo de llenado de espacio que muestra la estructura que se repite y la escala aproximada. Se observan nanofibras entrelazadas y nanofibras individuales con el examen microscópico de los materiales formados mediante el autoensamblaje peptídico. Las estructuras similares a gel, formadas tras el autoensamblaje peptídico, parecen transparentes y flexibles.

Las estructuras peptídicas formadas a partir de cualesquiera péptidos autoensambladores obtenidos mediante cualquier procedimiento se pueden caracterizar usando diversas técnicas biofísicas y ópticas, tales como difracción circular (CD), dispersión dinámica de la luz, infrarrojos con transformada de Fourier (FTIR), microscopía de fuerza atómica (tensión) (ATM), microscopía electrónica de barrido (SEM), y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Por ejemplo, los métodos biofísicos se pueden usar para determinar el grado de estructura secundaria de lámina beta en la estructura peptídica. El tamaño de filamentos y poros, el diámetro de las fibras, la longitud, elasticidad, y fracción volumétrica se pueden determinar usando análisis de imagen cuantitativo de micrografías electrónicas de barrido y/o de transmisión. Las estructuras también se pueden examinar usando varias técnicas de ensayo mecánicas estándar para medir el grado de hinchamiento, el efecto del pH y de la concentración iónica sobre la formación de la estructura, el nivel de hidratación en diversas condiciones, la resistencia a la tracción, así como la manera en la que diversas características cambian a lo largo del período de tiempo requerido para que las estructuras se formen y se degraden. Estos métodos permiten a un experto normal en la técnica determinar cuáles de las diversas alternativas y péptidos descritos aquí son los más adecuados para uso en los diversos métodos, y permiten la optimización de los diversos procedimientos.

B. Formación de materiales peptídicos autoensambladores

Antes del autoensamblaje, los péptidos pueden estar contenidos en (*por ejemplo*, disueltos en) una disolución que está sustancialmente libre de iones (*por ejemplo*, iones monovalentes) o que contiene una concentración suficientemente baja de iones para evitar el autoensamblaje significativo (*por ejemplo*, una concentración de iones menor que 10, 5, 1, o 0,1 mM). El autoensamblaje se puede iniciar o potenciar en cualquier momento subsiguiente mediante la adición de un soluto o diluyente iónico a una disolución peptídica, o mediante un cambio en el pH. Por ejemplo, NaCl a una concentración entre aproximadamente 5 mM y 5 M inducirá el ensamblaje de estructuras macroscópicas en un período de tiempo corto (*por ejemplo*, en unos pocos minutos). Menores concentraciones de NaCl también pueden inducir el ensamblaje, pero a una velocidad más lenta. Como alternativa, el autoensamblaje se puede iniciar o potenciar introduciendo los péptidos (ya sea secos, en un gel semisólido, o disueltos en una disolución líquida que esté sustancialmente libre de iones) en un fluido (*por ejemplo*, un fluido fisiológico tal como sangre o jugo gástrico) o un área (*por ejemplo*, una cavidad corporal tal como la nariz o boca, o una cavidad expuesta mediante un procedimiento quirúrgico) que comprende tales iones. Generalmente, se espera que el autoensamblaje se produzca al poner en contacto los péptidos con tal disolución de cualquier manera.

Se puede usar una amplia variedad de iones, incluyendo aniones y cationes (ya sea divalentes, monovalentes, o trivalentes). Por ejemplo, se puede promover una transición de fases mediante exposición a cationes monovalentes tales como Li^+ , Na^+ , K^+ , y Cs^+ , y la concentración de tales iones requerida para inducir o potenciar el autoensamblaje es típicamente al menos 5 mM (*por ejemplo*, al menos 10, 20, o 50 mM). Menores concentraciones también facilitan el ensamblaje, aunque a una velocidad reducida. Cuando se desee, los péptidos autoensambladores se pueden suministrar con un material hidrófobo (*por ejemplo* un aceite farmacéuticamente aceptable) en una concentración que permite el autoensamblaje, pero a una velocidad reducida. Cuando los péptidos autoensambladores se mezclan con un agente hidrófobo tal como un aceite o lípido, el ensamblaje del material forma estructuras diferentes. Las estructuras aparecerán como hielo en una capa de aceite, pero en algunos casos, cuando se añade otro material, el material se ensamblará en otras diversas estructuras tridimensionales que pueden ser adecuadas para la carga de fármaco u otros agentes terapéuticos relevantes. La parte hidrófila de la molécula se ensamblará de tal manera para minimizar la interacción hidrófoba-hidrófila, creando de ese modo una barrera entre los dos entornos. Varios experimentos han mostrado que los péptidos autoensambladores se alinearán en la superficie del aceite como hielo en agua, con la parte hidrófoba de la molécula hacia la superficie y la porción hidrófila de la molécula mirando alejadamente del aceite, o formarán estructuras semejantes a toroides con el material hidrófobo contenido en su interior. Este tipo de comportamiento permite el encapsulamiento de sustancias terapéuticas u otra molécula de interés para el suministro en el cuerpo.

Dependiendo de la formulación y propiedades deseadas de la estructura macroscópica (*por ejemplo*, la rigidez del armazón o la velocidad de su formación), la concentración de precursores (*por ejemplo*, péptidos autoensambladores) puede variar desde aproximadamente 0,01% p/v (0,1 mg/ml) hasta aproximadamente 99,99% p/v (999,9 mg/ml), inclusive. Por ejemplo, la concentración antes de la formación del armazón puede estar entre aproximadamente 0,1% (1 mg/ml) y 10% (100 mg/ml), inclusive (*por ejemplo*, alrededor de 0,1%-5%; 0,5%-5%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5%; 3,0%; o 4,0% o más). La concentración también puede ser menor que 0,1%. Los precursores (*por ejemplo*, péptidos autoensambladores) se pueden formular como polvos, y se pueden administrar en una forma de polvo o resuspendidos. Si están secos, los péptidos se pueden autoensamblar entonces tras el contacto con fluidos corporales (*por ejemplo*, en un sitio de lesión).

Las estructuras a base de péptidos se pueden formar en moldes regular o irregularmente conformados, que pueden incluir una cavidad corporal o una porción del cuerpo (*por ejemplo*, la luz de un vaso sanguíneo), o que pueden ser un material inerte tal como plástico o vidrio. Las estructuras o armazones se pueden obtener para adaptarse a una forma predeterminada, o pueden tener un volumen predeterminado. Para formar una estructura con una forma o volumen predeterminado (*por ejemplo*, una geometría o dimensión deseada, incluyendo láminas o películas delgadas), se coloca una disolución peptídica acuosa en un molde de colada con una forma previa, y se induce a los péptidos a autoensamblarse mediante adición de una pluralidad de iones. Como alternativa, los iones se pueden añadir a la disolución peptídica poco después de colocar la disolución en el molde, con la condición de que se tenga cuidado de colocar la disolución en el molde antes de que se produzca el ensamblaje sustancial. Cuando el molde es un tejido (*por ejemplo*, la luz de un vaso sanguíneo u otro compartimento, ya sea *in situ* o no), la adición de una disolución iónica puede no ser necesaria. Las características del material resultante, el tiempo requerido para el ensamblaje, y las dimensiones de la estructura macroscópica que forma están gobernados por la concentración y cantidad de disolución peptídica que se aplica, por la concentración de iones usada para inducir el ensamblaje de la estructura, y por las dimensiones del aparato de colada. El armazón puede lograr una forma semejante a gel o sustancialmente sólida a temperatura ambiente, y se puede aplicar calor para facilitar el moldeo (*por ejemplo*, se puede calentar una disolución usada en el proceso de moldeo (*por ejemplo*, una disolución que contiene precursor) hasta una temperatura que oscila hasta alrededor de la temperatura corporal (aproximadamente 37°C)). Una vez que el armazón ha alcanzado el grado deseado de firmeza, se puede retirar del molde y se puede usar para un fin descrito aquí.

Los materiales que se ensamblan y/o sufren una transición de fase (*por ejemplo*, una transición desde un estado líquido a un semisólido, gel, *etc.*) cuando entran en contacto con el cuerpo son útiles para prevenir el movimiento de sustancias corporales. En el caso de la piel, las composiciones se pueden administrar con una disolución iónica o aceite a fin de autoensamblarse, en ausencia de humedad o aceite en la piel. El autoensamblaje o transición de fase es disparado por los componentes encontrados en un cuerpo del sujeto (*por ejemplo*, iones) o por pH fisiológico, y está ayudado por temperaturas fisiológicas. El autoensamblaje o la transición de fase puede comenzar cuando las composiciones se exponen a o entran en contacto con el cuerpo del sujeto, y se puede facilitar por la aplicación local de calor al área en la que se ha depositado (o se depositará) la composición. El sujeto, para cualquier indicación descrita aquí, puede ser un ser humano. Basándose en estudios hasta la fecha, el autoensamblaje se produce rápidamente con el contacto con tejidos corporales internos, sin la aplicación de calor adicional. El tiempo requerido para el ensamblaje y/o transición de fase eficaz puede ser 60 segundos o menos tras el contacto con tejidos internos del sujeto o a condiciones similares a las encontradas en el cuerpo (*por ejemplo*, en 50, 40, 30, 20, o 10 segundos o menos). En algunas circunstancias, tales como cuando la concentración de agentes autoensambladores en la composición es baja, o cuando el movimiento de la sustancia corporal es sustancial, el autoensamblaje o transición de fase puede tomar más tiempo para lograr el efecto deseado, por ejemplo hasta un minuto, 5 minutos, 10 minutos, 30 minutos, una hora, o más. Por ejemplo, una disolución que contiene un péptido autoensamblador aplicado a sitios de corte transversal de vasos sanguíneos en el cerebro, hígado o músculo proporcionó hemostasia completa en tiempos tan cortos como 10 segundos tras la aplicación (véanse los Ejemplos 1-3). Las disoluciones que contienen iones pueden ser preferidas cuando las composiciones se usan para proteger un sujeto de la contaminación, ya que las transiciones de fase no se producen, o no se producen fácilmente, cuando las composiciones no iónicas entran en contacto con piel intacta.

Las composiciones pueden formar estructuras que son sustancialmente rígidas (*por ejemplo*, sólidas o casi sólidas) o que asumen una forma y volumen definidos (*por ejemplo*, estructuras que se adaptan a la forma y volumen de la localización a la que se administró una composición líquida, ya sea *in vivo* o *ex vivo*). El material solidificado puede ser en cierto modo deformable o compresible tras el ensamblaje o transición de fase, pero no fluirá sustancialmente desde un área a otra, como lo pueden hacer las composiciones en un punto diferente a lo largo del continuo líquido a sólido, lo que puede ser debido, al menos en parte, a su capacidad para sufrir transiciones de fase. Como resultado, las composiciones se pueden usar para prevenir el movimiento de una sustancia corporal en un sujeto que lo necesite. El autoensamblaje también se puede lograr *ex vivo* mediante exposición a condiciones en un cierto intervalo de valores fisiológicos (*por ejemplo*, condiciones apropiadas para el cultivo celular o tisular). Aunque las formulaciones líquidas se dispensan fácilmente, las composiciones administradas también pueden estar en una forma de gel, que se puede hacer más rígida al entrar en contacto con el cuerpo del sujeto.

La concentración de los péptidos autoensambladores en cualquier formulación dada puede variar, y puede estar entre aproximadamente 0,1% (1 mg/ml) y 10% (100 mg/ml), inclusive. Por ejemplo, la concentración de los péptidos autoensambladores (*por ejemplo*, en una formulación líquida) puede ser aproximadamente 0,1-3,0% (1-30 mg/ml) (*por ejemplo*, 0,1-1,0%; 1,0-2,0%; 2,0-3,0% o 1,0-3,0%). La concentración de péptidos autoensambladores puede ser mayor en disoluciones madre y en formulaciones sólidas (*por ejemplo*, en polvo). En preparaciones sólidas, la concentración de péptidos autoensambladores se puede aproximar al 100% (*por ejemplo*, la concentración de péptidos autoensambladores puede ser 95, 96, 97, 98, 99% o más (*por ejemplo*, 99,99%) de la composición). Ya sea que estén en forma líquida o sólida, los péptidos se pueden llevar hasta la concentración deseada antes del uso mediante adición de un diluyente (*por ejemplo*, agua desionizada), polvo, agente humectante, o un agente terapéutico, de diagnóstico o profiláctico).

Independientemente de la naturaleza precisa de los agentes autoensambladores, al exponerlos a las condiciones tales como las descritas aquí, los agentes pueden formar estructuras bi o tridimensionales membranosas, incluyendo

una matriz porosa macroscópica estable que tiene nanofibras entrelazadas ordenadas (*por ejemplo*, fibras de aproximadamente 10-20 nm de diámetro, con un tamaño de poros de alrededor de 50-100 nm en una dimensión lineal). Las matrices macroscópicas tridimensionales pueden tener dimensiones suficientemente grandes para ser visibles con aumentos bajos (*por ejemplo*, alrededor de 10 veces o menos), y las estructuras membranosas pueden ser visibles a simple vista, incluso si son transparentes. Aunque tridimensionales, las estructuras pueden ser extremadamente delgadas, incluyendo un número limitado de capas de moléculas (*por ejemplo*, 2, 3, o más capas de moléculas). Típicamente, cada dimensión de una estructura dada tendrá un tamaño de al menos 10 μm (*por ejemplo*, dos dimensiones de al menos 100-1000 μm de tamaño (*por ejemplo*, 1-10 mm, 10-100 mm, o más)). Las dimensiones relevantes se pueden expresar como longitud, anchura, profundidad, amplitud, altura, radio, diámetro, o circunferencia en el caso de estructuras que tienen una forma sustancialmente regular (*por ejemplo*, cuando la estructura es una esfera, cilindro, cubo, o similar), o una aproximación de cualquiera de los anteriores cuando las estructuras no tienen una forma regular.

Los péptidos autoensambladores pueden formar un material hidratado cuando se ponen en contacto con agua en condiciones tales como las descritas aquí (*por ejemplo*, en presencia de una concentración suficiente (*por ejemplo*, concentraciones fisiológicas) de iones (*por ejemplo*, cationes monovalentes)). Los materiales pueden tener un contenido elevado de agua (*por ejemplo*, aproximadamente 95% o más (*por ejemplo*, aproximadamente 97%, 98%, 99% o más)), y las composiciones pueden estar hidratadas pero no sustancialmente autoensambladas. Un valor dado puede ser "aproximado" en reconocimiento del hecho de que las medidas pueden variar dependiendo de, por ejemplo, las circunstancias en las que se hicieron y la pericia de la persona que realiza la medición. Generalmente, un primer valor es aproximadamente igual a un segundo cuando el primero cae en el 10% del segundo (ya sea mayor que o menor que), excepto que esté claro de otro modo a partir del contexto de que un valor no es aproximado, o cuando, por ejemplo, tal valor excediese el 100% de un posible valor.

Las propiedades y resistencia mecánica de las estructuras o armazones se pueden controlar según se requiera mediante la manipulación de los componentes en ellos. Por ejemplo, la rigidez de un gel ensamblado se puede incrementar al incrementar la concentración de agentes autoensambladores (*por ejemplo*, péptidos) en él. Las secuencias, características y propiedades de los péptidos, y las estructuras formadas por ellos al ensamblarse, se explican adicionalmente más abajo.

Las composiciones se pueden formular como lotes concentrados o en forma seca, y estos se pueden diluir o disolver para formar composiciones (*por ejemplo*, composiciones biocompatibles), que son sustancialmente no tóxicas a células biológicas *in vitro* o *in vivo*. Por ejemplo, las composiciones pueden contener materiales en cantidades que no provocan un efecto perjudicial significativo sobre el cuerpo del receptor (*por ejemplo*, una reacción inmunológica o inflamatoria prohibitivamente grave, o formación de tejido cicatrizal inaceptable).

Cuando se deposita una disolución que contiene péptidos no ensamblados sobre un tejido biológico, los péptidos que tienen proximidad suficiente al tejido se ensamblan, provocando que la disolución gelifique. Cualquier disolución que permanezca distante del tejido permanece líquida, ya que los péptidos autoensambladores no se han expuesto todavía a condiciones que promuevan su ensamblaje. A medida que el material se perturba (*por ejemplo*, llevando a cabo un procedimiento quirúrgico), el material líquido parece gelificar a medida que entra en contacto suficiente con el cuerpo. A veces, las composiciones pueden tomar características que oscilan desde un líquido hasta aquellas de un sólido, pareciendo similares a gel o a pomada, o como una suspensión.

B. Agentes terapéuticos, profilácticos y de diagnóstico adicionales

Las formulaciones incluyen típicamente un excipiente u otro vehículo farmacéuticamente aceptable, o se proporcionan como parte de un dispositivo médico o revestimiento. Las formulaciones también pueden incluir otros agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico. Estos agentes pueden ser antiinflamatorios, agentes vasoactivos, antiinfecciosos, anestésicos, factores de crecimiento, y/o células.

Estos agentes también pueden ser péptidos o proteínas, polisacáridos o sacáridos, ácidos nucleicos o nucleótidos, proteoglicanos, lípidos, hidratos de carbono, o una molécula pequeña, típicamente un compuesto orgánico que tiene múltiples enlaces carbono-carbono, que se puede aislar de la naturaleza o crear vía síntesis química. Las pequeñas moléculas tienen pesos moleculares relativamente bajos (*por ejemplo*, menores que alrededor de 1500 g/mol), y no son péptidos o ácidos nucleicos. La sustancia también puede ser una biomolécula, que incluye moléculas tales como un péptido, proteoglicano, lípido, hidrato de carbono, o ácido nucleico, cualquiera de los cuales puede tener características típicas de tales moléculas encontradas en organismos vivos. Al igual que las pequeñas moléculas, las biomoléculas pueden ser de origen natural o pueden ser artificiales (*es decir*, pueden ser moléculas que no se han encontrado en la naturaleza). Por ejemplo, una proteína que tiene una secuencia que no se ha encontrado en la naturaleza (*por ejemplo*, aquella que no aparece en una base de datos de secuencias públicamente disponible) o que tiene una secuencia conocida modificada de forma no natural por una mano humana (*por ejemplo*, una secuencia modificada alterando un proceso post-traducciona tal como la glucosilación) es una biomolécula artificial. Las moléculas de ácido nucleico que codifican tales proteínas (*por ejemplo*, un oligonucleótido, opcionalmente contenido en un vector de expresión) también son biomoléculas, y se pueden incorporar en las composiciones descritas aquí. Por ejemplo, una composición puede incluir una pluralidad de péptidos

autoensambladores y células que expresan, o que se manipulan mediante ingeniería para expresar, una biomolécula proteica (en virtud de contener una secuencia de ácido nucleico que codifica la biomolécula proteica).

En las formulaciones se pueden incorporar muchos agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico diferentes, o se pueden usar o combinar con las formulaciones (*por ejemplo*, administrados secuencial o simultáneamente). Los vasoconstrictores representativos, cualquiera de los cuales se puede formular con uno o más péptidos autoensambladores (*por ejemplo*, en una composición biocompatible en forma líquida, en polvo o gel), incluye epinefrina y fenilefrina; los agentes colorantes representativos incluyen arsenazo III, clorofosfonazo III, antipirilazo III, murexida, Eriochrome Black T, Eriochrome Blue SE, oxiacetazo I, carboxiazio III, tropolona, azul de metiltimol, y Mordant Black 32; los agentes anestésicos representativos incluyen benzocaína, bupivacaína, picrato de butambeno, cloroprocaína, cocaína, curare, dibucaína, diclonina, etidocaína, lidocaína, mepivacaína, pramoxina, prilocaína, procaína, propoxicaína, ropivacaína, tetracaína, o sus combinaciones. La aplicación local del agente anestésico puede ser todo lo que se requiere en algunas situaciones, por ejemplo para una quemadura u otra herida a la piel, incluyendo úlceras de decúbito, o para cirugías mínimamente invasivas. La combinación de anestésicos locales con los péptidos autoensambladores, ya sea combinados en virtud de estar presentes en la misma formulación o en virtud de la coadministración, puede ayudar a contener el anestésico en el cuerpo y reducir la cantidad que entra en la circulación. Se pueden incluir vasoconstrictores tales como fenilefrina para prolongar el efecto de la anestesia local (*por ejemplo*, 0,1-0,5% de fenilefrina). Agentes analgésicos distintos de un agente anestésico local, tales como esteroides, agentes antiinflamatorios no esteroideos como indometacina, inhibidores del factor activador de plaquetas (PAF) tales como lexipafant, CV 3988, y/o inhibidores del receptor de PAF, tales como SRI 63-441. Se puede incluir un agente antiinfeccioso o antimicrobiano (*por ejemplo*, un antibiótico, agente antibacteriano, antiviral, o antifúngico) para la administración sistémica o local. Los ejemplos incluyen antibióticos β -lactámicos tales como penicilinas y cefalosporinas, y otros inhibidores de la síntesis de la pared celular, tales como vancomicina, cloramfenicol, tetraciclinas, macrólidos, clindamicina, estreptograminas, aminoglucósidos, espectinomicina, sulfonamidas, trimetoprima, quinolonas, anfotericina B, flucitosina, azoles tales como quetoconazol, itraconazol, fluconazol, clotrimazol, y miconazol, griseofulvina, terbinafina, y nistatina. El antimicrobiano se puede administrar tópicamente (*por ejemplo*, para tratar infecciones de la piel o quemaduras), o para ayudar a evitar la infección en un sitio de inserción de catéter (*por ejemplo*, un catéter intravenoso), por ejemplo canamicina, neomicina, bacitracina, polimixina, sulfonamidas tóxicas tales como acetato de mafenida o sulfadiazina de plata, o sulfato de gentamicina. El antimicrobiano puede ser un agente de amplio espectro. Por ejemplo, se puede usar una cefalosporina de segunda, tercera o cuarta generación. Estos agentes pueden ser activos frente a un amplio intervalo de bacterias, incluyendo especies grampositivas y gramnegativas. Tales agentes antibacterianos pueden ser particularmente apropiados cuando los presentes armazones se usan para inhibir el movimiento de contenidos intestinales, tal como durante la extirpación intestinal u otra cirugía que perturbe intencionada o accidentalmente la integridad en la pared intestinal. La persona de pericia normal en la técnica será capaz de seleccionar agentes antimicrobianos apropiados considerando factores tales como la historia del paciente (*por ejemplo*, cualquier historia de reacción alérgica a tales agentes), la localización a la que se aplican los péptidos, el tipo de agente infeccioso que esté presente probablemente, etc.

Cualquiera de las composiciones descritas aquí, ya sea que contengan sólo precursores autoensambladores o precursores y una o más moléculas bioactivas (*por ejemplo*, un vasoconstrictor o un agente anestésico) (y ya sea que esté en una forma líquida, semisólida, o sólida), puede incluir un agente colorante. Los agentes colorantes adecuados incluyen colorantes alimentarios comercialmente disponibles, tintes naturales y sintéticos, y moléculas fluorescentes. Preferiblemente, el agente colorante no es tóxico, o está incluido a concentraciones tan bajas para minimizar cualquier efecto indeseable (*por ejemplo*, un efecto tóxico). El uso de un agente colorante permite la visualización mejorada de un área que está cubierta por una estructura o armazón, y puede facilitar la retirada, si tal retirada se desea. El agente colorante puede ser aquel que cambie de color cuando entra en contacto con un área contaminada (*por ejemplo*, un cambio de color puede ser accionado por la propia contaminación (*por ejemplo*, por la sangre o bacterias presentes en un sitio herido)). Por ejemplo, un producto metabólico de una bacteria puede disparar un cambio de color. También se pueden detectar condiciones tales como pH o estado redox inducidas por contaminantes. Los indicadores ejemplares incluyen arsenazo III, clorofosfonazo III, antipirilazo III, murexida, Eriochrome Black T y Eriochrome Blue SE para Mg^{2+} , oxiacetazo I, carboxiazio III, tropolona, azul de metiltimol, y Mordant Black 32. AlamarBlue, un indicador redox, y el rojo de fenol también son de uso en las composiciones y métodos.

En las composiciones pueden incluirse muchos otros agentes activos. Por ejemplo, se puede incluir un número de factores de crecimiento para acelerar uno o más aspectos de la curación (*por ejemplo*, angiogénesis, migración celular, extensión del proceso, y proliferación celular). Estos tipos de composiciones se pueden "incluir" como hacerse con otras, en virtud de la inclusión en las composiciones o en virtud de la coadministración en los presentes métodos. Los ejemplos incluyen factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), un factor de crecimiento transformante (TGF) tal como factor de crecimiento transformante β , un factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), un factor de crecimiento epidérmico (EGF), un factor de crecimiento de nervios (NGF), un factor de crecimiento semejante a insulina (*por ejemplo*, factor I de crecimiento semejante a insulina), un factor de crecimiento de gliocitos (GGF), un factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), etc. Se apreciará que en muchos casos estos términos se refieren a una variedad de diferentes especies moleculares. Por ejemplo, se conocen en la técnica varias especies de factor β de crecimiento transformante. Una persona de pericia normal en la técnica estará guiada

en la selección de un factor de crecimiento apropiado considerando, por ejemplo, el sitio en el que se va a administrar la composición. Por ejemplo, un EGF se puede incluir en las composiciones aplicadas a la piel; un NGF y/o GGF se puede incluir en composiciones aplicadas a nervios o al sistema nervioso; etc.

5 El factor de crecimiento u otro agente puede ser una sustancia quimiotáctica, que tiene la capacidad, *in vivo* o en un cultivo celular, de reclutar células hacia un sitio en el que está presente la sustancia. Las células reclutadas pueden tener el potencial para contribuir a la formación de nuevo tejido o reparar el tejido dañado existente (*por ejemplo*, contribuyendo estructural y/o funcionalmente al tejido (*por ejemplo*, proporcionando factores de crecimiento o contribuyendo a una respuesta inmunitaria deseable)). Ciertas sustancias quimiotácticas también pueden funcionar como agentes de proliferación (*por ejemplo*, factores neurotróficos tales como NGF o BDNF).

10 Las composiciones también se pueden usar en combinación con o en lugar de compuestos que incluyen, pero no se limitan a, cianoacrilatos, celulosa oxidada, sellantes de fibrina, gel de colágeno, polvo de trombina, polvos de polisacáridos microporosos, factores de coagulación (*por ejemplo*, Factor V, Factor VIII, fibrinógeno, o protrombina) y polvos de zeolita.

15 Se entenderá que las moléculas terapéuticas se administran generalmente en una cantidad eficaz a fin de lograr un resultado clínicamente significativo, y las dosis y concentraciones eficaces son conocidas en la técnica. Estas dosis y concentraciones pueden guiar la selección de dosis y concentraciones en el presente contexto. Las moléculas bioactivas se pueden proporcionar en una variedad de concentraciones adecuadas y en cantidades adecuadas (*por ejemplo*, en el intervalo de microgramos o miligramos, o mayor). Para una guía, se pueden consultar textos tales como Goodman y Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10^a Ed., y Katzung, Basic and Clinical Pharmacology.

20 Células

Cuando las células se suministran a un paciente (*por ejemplo*, para promover la curación del tejido), se pueden usar células autólogas. Las células podrían ser el uso de células hematopoyéticas del paciente, dispersas en el material e implantadas, o las células pueden ser glóbulos rojos de la médula espinal.

25 Los amazones moldeados como se describen anteriormente, las composiciones líquidas, geles, los sólidos (por ejemplo polvos) o semisólidos pueden incluir una o más sustancias adicionales tales como moléculas bioactivas o células. En algunos casos, la célula puede segregar la molécula bioactiva ya sea de forma natural o tras la manipulación mediante ingeniería genética (*por ejemplo*, para expresar y/o segregar una proteína recombinante). Las estructuras (*por ejemplo*, estructuras a base de péptidos) descritas aquí son capaces de apoyar la adhesión, viabilidad y crecimiento celulares; estos se han observado cuando las células se cultivan en la superficie de una estructura a base de péptidos, o cuando las células crecen en el material (*por ejemplo*, cuando se encapsulan). Además, las estructuras son capaces de servir como sustratos para el crecimiento de neuritas y la formación de sinapsis cuando las neuronas se hacen crecer sobre o en ellas. De este modo, las moléculas bioactivas y las células se pueden encapsular en las estructuras peptídicas y mantener la función y viabilidad sustanciales cuando se encapsulan así (*véanse, por ejemplo*, U.S.S.N. 09/778.200, US 2002/0160471 y 10/196,942) US 2004/0011201.

35 C. Excipientes, vehículos y dispositivos

Las formulaciones incluyen un vehículo farmacéuticamente aceptable, o se proporcionan como parte de un dispositivo médico o revestimiento. Las formulaciones también pueden incluir otros agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico.

40 La formulación se puede proporcionar como un polvo seco o liofilizado que se puede administrar directamente como un polvo que se hidrata en el sitio de aplicación, o suspendido o disuelto en un líquido, muy preferiblemente acuoso, y que se puede aplicar como una pulverización, pintura, o inyección, o un hidrogel tal como quitina, colágeno, alginato, o polímero sintético. Para formar la "nanogasa" descrita más abajo, se puede usar cualquier formulación adecuada para la aplicación a la piel (*por ejemplo*, un líquido, que se puede aplicar como una pulverización, o un polvo). La formulación también se puede proporcionar como un revestimiento sobre un dispositivo, por ejemplo una endoprótesis o un catéter, que se puede disolver en una disolución acuosa y se puede secar en el dispositivo, o se puede mezclar con un vehículo polimérico y aplicar al dispositivo. Como alternativa, la formulación se proporciona en una venda, espuma o matriz, en la que los péptidos se pueden dispersar o absorber. La formulación también podría estar en forma de suturas, cinta, o adhesivo.

50 Convencionalmente, los anestésicos locales se suministran mediante administración tópica (*por ejemplo*, formulados como un ungüento, crema, o disolución), o se inyectan en un área en la que residen las fibras nerviosas que se desean bloquear. La formulación se puede administrar a una quemadura o úlcera, especialmente cuando se formula con anestésicos, antiinflamatorios, factores de crecimiento, y antiinfecciosos, en forma de una espuma, matriz o venda, para detener hemorragia o pérdida de fluido intersticial.

55 Una o más de las composiciones descritas aquí se pueden ensamblar en kits, junto con instrucciones para el uso. Por ejemplo, los kits pueden incluir una composición biocompatible que incluye péptidos autoensambladores (o una disolución concentrada o formulación en polvo de los mismos, junto con un diluyente) y un vasoconstrictor, un

agente colorante, o un agente analgésico o anestésico, e instrucciones para su combinación (si no están ya combinados) y su uso (*por ejemplo*, dilución y administración). Los kits pueden incluir además uno o más de los agentes adicionales descritos aquí. Estos agentes pueden estar presentes en una composición a base de péptidos o se pueden envasar separadamente, y pueden incluir uno o más tipos de células biológicas, un antibiótico u otro agente terapéutico, colágeno, un agente antiinflamatorio, un factor de crecimiento, o un nutriente. El kit también puede incluir uno o más de una jeringuilla (*por ejemplo*, una jeringuilla de barril o una jeringuilla de bulbo), una aguja, una pipeta, gasa, esponjas, algodón o similar, torundas, una venda, un tapón para hemorragia nasal, un desinfectante, tornillo quirúrgico, tijeras, un escalpelo, un fluido estéril, un bote de pulverización, incluyendo aquellos en los que se pulveriza una disolución líquida a través de una bomba manual simple, un recipiente estéril, o guantes desechables.

La formulación se puede administrar según sea apropiado para el tratamiento de uno o más trastornos. Por ejemplo, la formulación se puede aplicar para reparar una lesión o cirugía de sanación del pulmón o duramadre, o tras una punción epidural o espinal, para detener la fuga de fluido cerebroespinal. La formulación se puede dispersar en una sutura o adhesivo para la administración en el momento de, o según se libere tras suturar o pegar una herida, limitando de ese modo la hemorragia, pérdida de fluidos tisulares, u otros tejidos tales como los producidos por tejidos parenquimatosos tales como el hígado, páncreas, y tubo digestivo. La formulación se puede aplicar a cualquier sitio de hemorragia, en una venda, gasa, esponja, u otro material, para el control inmediato de hemorragia, o se puede liberar más tarde para controlar la hemorragia si el tratamiento inicial, tal como la sutura o presión, es insuficiente. El tejido seco, espumas deshidratadas o hidrogeles, o las vendas que contienen la formulación pueden ser parte de kits de primeros auxilios para el tratamiento de lesiones, por ejemplo en guerra, en sitios de accidentes, o en hospitales en los que se puede necesitar un tratamiento rápido y el espacio de almacenamiento es limitado.

Las composiciones que incluyen agentes autoensambladores se pueden asociar con esponjas quirúrgicas. Por ejemplo, las composiciones líquidas se pueden preparar en esponjas comercialmente disponibles antes de o durante su uso. Los estudios indican que la hemostasia se puede lograr satisfactoriamente sin esponjas tradicionales, pero puede haber casos en los que puede ser beneficioso incluir composiciones que contienen un agente autoensamblador (*por ejemplo*, en los que un paciente experimenta una hemorragia profunda, o en los que el objetivo del tratamiento es la estabilización temporal). Las composiciones empleadas pueden incluir cualquiera de los agentes no fibrosos descritos aquí. Las esponjas pueden ser cualquiera conocida en la técnica, incluyendo esponjas tejidas y no tejidas, y las diseñadas específicamente para cirugías dentales u oftálmicas. Véanse, *por ejemplo*, las patentes U.S. n^{os} 4.098.728; 4.211.227; 4.636.208; 5.180.375; y 6.711.879.

Con respecto a las vendas o vendajes, la venda o vendaje puede incluir una primera capa de forma y tamaño suficientes para cubrir una herida o una porción sustancial de la misma (*por ejemplo*, la porción más lesionada del tejido, o el área que sangra más profusamente). La primera capa puede tener una superficie superior, una superficie inferior, y un perímetro que está, opcionalmente, completa o parcialmente cubierto con un adhesivo. Una segunda capa de la venda o vendaje puede estar fija de forma despegable a la superficie inferior de la primera capa, excluyendo opcionalmente el perímetro o cualquier parte del perímetro que posea adhesivo, y puede incluir una composición líquida o no líquida (*por ejemplo*, un gel, pasta, espuma, crema, ungüento, o composición en polvo) que incluye péptidos autoensambladores. La composición entrará en contacto con la herida al aplicar la venda o vendaje, y es transferible desde la venda o vendaje al sitio de la herida al retirar la primera capa o las capas primera y segunda. En configuraciones más simples, la composición que comprende agentes autoensambladores (*por ejemplo*, péptidos) se puede asociar con el fondo de la primera capa (*por ejemplo*, interior al perímetro adhesivo), y la segunda capa se puede omitir. En cualquier caso, las capas primera y/o segunda pueden incluir una ventana transparente, a través de la cual se puede visualizar parte o toda la herida subyacente. La composición que incluye el agente o agentes autoensambladores se puede añadir a la venda antes de que se envase, o justo antes del uso. Como alternativa, la formulación puede incluir una barrera física adicional, tal como una capa de película de silicona, para evitar la pérdida de fluido por secado, después de que el flujo activo de fluidos se ha detenido mediante la aplicación de la formulación.

Las formulaciones también se pueden administrar como formulaciones de liberación inmediata o controlada. Una forma de dosificación de liberación retrasada es aquella que retrasa un fármaco (o fármacos) a un momento distinto de poco después de la administración. Una forma de dosificación de liberación prolongada es aquella que permite al menos una reducción de dos veces en la frecuencia de dosificación en comparación con el fármaco presentado como una forma de dosificación convencional (por ejemplo, como una disolución o forma de dosificación sólida convencional que libera rápidamente el fármaco). Una forma de dosificación de liberación modificada es aquella para la cual las características de liberación del fármaco de tiempo, duración y/o localización se escogen para lograr objetivos terapéuticos o de conveniencia no ofrecidos por formas de dosificación convencionales tales como disoluciones, ungüentos, o formas de dosificación que se disuelven rápidamente. Las formas de dosificación de liberación retrasada y de liberación prolongada, y sus combinaciones, son tipos de formas de dosificación de liberación modificada.

Los materiales que forman matrices son materiales que forman geles viscosos resistentes con la hidratación, y proporcionan control de la difusión y liberación del fármaco. En sistemas de matrices hidrófilas, los materiales que forman matrices se incorporan uniformemente a lo largo del comprimido. Al contacto con el agua, la capa exterior del comprimido se hidrata parcialmente, formando una capa de gel. La velocidad de difusión del fármaco o fármacos

hacia fuera de la capa de gel, y la velocidad de erosión de la capa de gel, determinan las velocidades de disolución global del comprimido y de suministro del fármaco. Los ejemplos de materiales formadores de matrices incluyen éteres de celulosa que son solubles en agua, tales como metilcelulosa, etilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa.

5 Las formulaciones se preparan usando un “vehículo” farmacéuticamente aceptable compuesto de materiales que son considerados seguros y eficaces y se pueden administrar a un individuo sin provocar efectos secundarios biológicos indeseables o interacciones indeseadas. El “vehículo” son todos los componentes presentes en la formulación farmacéutica distintos del ingrediente o ingredientes activos. El término “vehículo” incluye, pero no se limita a, diluyentes, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, cargas, composiciones formadoras de matrices y composiciones de revestimiento.

10 “Vehículo” también incluye todos los componentes de la composición de revestimiento que pueden incluir plastificantes, pigmentos, colorantes, agentes estabilizantes, y agentes de deslizamiento. Las formulaciones de dosificación de liberación retrasada se pueden preparar como se describe en referencias tales como “Pharmaceutical dosage form tablets”, eds. Liberman et. al. (Nueva York, Marcel Dekker, Inc., 1989), “Remington—
15 The science and practice of pharmacy”, 20ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md., 2000, y “Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems”, 6ª Edition, Ansel et. al., (Media, Pa.: Williams and Wilkins, 1995), que proporcionan información sobre vehículos, materiales, equipos y procedimientos para preparar comprimidos y cápsulas y formas de dosificación de liberación retrasada de comprimidos, cápsulas, y gránulos.

20 Los ejemplos de materiales de revestimiento adecuados incluyen, pero no se limitan a, polímeros de celulosa tales como acetato-ftalato de celulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y acetato-succinato de hidroxipropilmetilcelulosa; poliacetato-ftalato de vinilo, polímeros y copolímeros de ácido acrílico, y resinas metacrílicas que están comercialmente disponibles con el nombre Eudragit™, (Roth Pharma, Westerstadt, Alemania), zeína, goma laca, y polisacáridos. Adicionalmente, el material de revestimiento puede contener vehículos convencionales tales como plastificantes, pigmentos, colorantes, agentes de deslizamiento, agentes de estabilización, formadores de poros y tensioactivos. Los excipientes opcionales farmacéuticamente
25 aceptables presentes en comprimidos, perlas, gránulos o partículas que contienen el fármaco incluyen, pero no se limitan a, diluyentes, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, colorantes, estabilizantes, y tensioactivos.

30 Los diluyentes, también denominados “cargas”, son típicamente necesarios para incrementar el volumen de una forma de dosificación sólida de manera que se proporciona un tamaño práctico para la compresión de comprimidos o formación de perlas y gránulos. Los diluyentes adecuados incluyen, pero no se limitan a, fosfato dicálcico dihidratado, sulfato de calcio, lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, celulosa microcristalina, caolín, cloruro de sodio, almidón seco, almidones hidrolizados, almidones pregelatinizados, dióxido de silicio, óxido de titanio, silicato de aluminio y magnesio, y azúcar en polvo.

35 Los aglutinantes se usan para proporcionar cualidades cohesivas a una formulación de dosificación sólida, y de este modo aseguran que un comprimido o perla o gránulo permanece intacto después de la formación de las formas de dosificación. Los materiales aglutinantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, almidón, almidón pregelatinizado, gelatina, azúcares (incluyendo sacarosa, glucosa, dextrosa, lactosa y sorbitol), polietilenglicol, ceras, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, goma de tragacanto, alginato de sodio, celulosa, incluyendo hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etilcelulosa, y veegum, y polímeros sintéticos tales como copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, poliácido acrílico/poliácido metacrílico y polivinilpirrolidona. Algunos de los materiales que son adecuados como aglutinantes también se pueden usar como materiales formadores de matrices, tales como hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa y celulosa microcristalina.

45 Los lubricantes se usan para facilitar la fabricación de comprimidos u obleas. Los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, behenato de glicerol, polietilenglicol, talco, y aceite mineral.

Los disgregantes se usan para facilitar la disgregación o “ruptura” de la forma de dosificación tras la administración, y generalmente incluyen, pero no se limitan a, almidón, glicolato de almidón sódico, carboximetilalmidón sódico, carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilcelulosa, almidón pregelatinizado, arcillas, celulosa, alginina, gomas o polímeros reticulados, tales como PVP reticulada (Polyplasdone™ XL de GAF Chemical Corp).

50 Los estabilizantes se usan para inhibir o retrasar reacciones de descomposición del fármaco, que incluyen, a título de ejemplo, reacciones oxidativas.

55 Los tensioactivos pueden ser agentes tensioactivos aniónicos, catiónicos, anfóteros o no iónicos. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, aquellos que contienen iones carboxilato, sulfonato y sulfato. Los ejemplos de tensioactivos aniónicos incluyen sales de sodio, de potasio, de amonio de alquilsulfonatos y alquilarilsulfonatos de cadena larga, tales como dodecilbencenosulfonato de sodio; dialquilsulfosuccinatos de sodio, tales como dodecilbencenosulfonato de sodio; dialquilsulfosuccinatos de sodio, tales como bis-(2-etiltioxil)-sulfosuccinato de sodio; y alquilsulfatos tales como laurilsulfato de sodio. Los tensioactivos catiónicos incluyen, pero no se limitan a, compuestos de amonio cuaternario tales como cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio,

bromuro de cetrimonio, cloruro de estearildimetilbencilamonio, polioxietileno y amina de coco. Los ejemplos de tensioactivos no iónicos incluyen monoestearato de etilenglicol, miristato de propilenglicol, monoestearato de glicerilo, estearato de glicerilo, oleato de poliglicerilo-4, acilato de sorbitán, acilato de sacarosa, laurato de PEG-150, monolaurato de PEG-400, monolaurato de polioxietileno, polisorbatos, polioxietilenoctilfeniléter, éter cetílico de PEG-1000, éter tridecílico de polioxietileno, éter butílico de polipropilenglicol, Poloxamer™ 401, estearoil monoisopropanolamida, y amida de sebo hidrogenada polioxietilenada. Los ejemplos de tensioactivos anfóteros incluyen N-dodecil-β-alanina sódica, N-lauril-β-iminodipropionato sódico, miristoanfoacetato, laurilbetaína y laurilsulfobetaína.

Si se desea, los comprimidos, perlas, gránulos o partículas también pueden contener una cantidad minoritaria de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes o emulsionantes, tintes, agentes tamponantes del pH, y conservantes.

Las formulaciones de liberación prolongada se preparan generalmente como sistemas de difusión u osmóticos, por ejemplo como se describe en "Remington--The science and practice of pharmacy" (20ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000). Un sistema de difusión consiste en dos tipos de dispositivos, un depósito y una matriz, y es bien conocido y descrito en la técnica. Los dispositivos de matriz se preparan generalmente comprimiendo el fármaco con un vehículo polimérico de disolución lenta en una forma de comprimido. Los tres tipos principales de materiales usados en la preparación de dispositivos de matriz son plásticos insolubles, polímeros hidrófilos, y compuestos grasos. Las matrices plásticas incluyen acrilato de metilo-metacrilato de metilo, policloruro de vinilo, y polietileno. Los polímeros hidrófilos incluyen polímeros celulósicos tales como metil y etilcelulosa, hidroxialquilcelulosas tales como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y Carbopol™ 934, polióxidos de etileno y sus mezclas. Los compuestos grasos incluyen, pero no se limitan a, diversas ceras tales como cera de carnaúba y triestearato de glicerilo, y sustancias de tipo céreo que incluyen aceite de ricino hidrogenado o aceite vegetal hidrogenado, o sus mezclas. El material plástico puede ser un polímero acrílico farmacéuticamente aceptable, incluyendo, pero sin limitarse a, copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de metilo, metacrilatos de etoxietilo, metacrilato de cianotilo, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de alquilamina con ácido metacrílico, poli(metacrilato de metilo), poli(anhídrido)(ácido metacrílico), polimetacrilato, poliacrilamida, poli(anhídrido de ácido metacrílico), y copolímeros de metacrilato de glicidilo. Los polímeros acrílicos pueden comprender uno o más copolímeros de metacrilato de amonio. Los copolímeros de metacrilato de amonio son bien conocidos en la técnica, y se describen en NF XVII como copolímeros totalmente polimerizados de ésteres de ácido acrílico y metacrílico con un contenido bajo de grupos amonio cuaternario.

Como alternativa, las formulaciones de liberación prolongada se pueden preparar usando sistemas osmóticos o aplicando un revestimiento semipermeable a la forma de dosificación. En este último caso, el perfil deseado de liberación del fármaco se puede lograr combinando materiales de revestimiento poco permeables y muy permeables en una proporción adecuada.

Se puede añadir una porción de liberación inmediata al sistema de liberación prolongada por medio de la aplicación de una capa de liberación inmediata encima del núcleo de liberación prolongada, usando un procedimiento de revestimiento de compresión o en un sistema de múltiples unidades, tal como una cápsula que contiene perlas de liberación prolongada y de liberación inmediata. Los comprimidos de liberación prolongada que contienen polímeros hidrófilos se preparan mediante técnicas conocidas habitualmente en la técnica, tales como compresión directa, granulación en húmedo, o granulación en seco. Sus formulaciones incorporan habitualmente polímeros, diluyentes, aglutinantes, y lubricantes, así como el ingrediente farmacéutico activo. Los diluyentes habituales incluyen sustancias en polvo inertes tales como almidones, celulosa en polvo, especialmente celulosa cristalina y microcristalina, azúcares tales como fructosa, manitol y sacarosa, harinas de granos y polvos comestibles similares. Los diluyentes típicos incluyen, por ejemplo, diversos tipos de almidón, lactosa, manitol, caolín, fosfato o sulfato de calcio, sales inorgánicas tales como cloruro de sodio y azúcar en polvo. También son útiles los derivados de celulosa en polvo. Los aglutinantes típicos de comprimidos incluyen sustancias tales como almidón, gelatina y azúcares, tales como lactosa, fructosa, y glucosa. También se pueden usar gomas naturales y sintéticas, incluyendo goma arábica, alginatos, metilcelulosa, y polivinilpirrolidona. También sirven como aglutinantes polietilenglicol, polímeros hidrófilos, etilcelulosa y ceras. En una formulación de comprimido es necesario un lubricante para evitar que el comprimido y los punzones se peguen en la boquilla extrusora. El lubricante se escoge de sólidos deslizantes tales como talco, estearato de magnesio y de calcio, ácido esteárico y aceites vegetales hidrogenados. Los comprimidos de liberación prolongada que contienen materiales céreos se preparan generalmente usando métodos conocidos en la técnica, tales como un método de amasado directo, un método de coagulación, y un método de dispersión acuosa. En el método de coagulación, el fármaco se mezcla con un material céreo y se coagula por pulverización o se coagula y se tamiza y procesa.

Los pesos de revestimiento preferidos para materiales de revestimiento particulares se pueden determinar fácilmente por aquellos expertos en la técnica evaluando perfiles de liberación individuales para comprimidos, perlas y gránulos preparados con diferentes cantidades de diversos materiales de revestimiento. Es la combinación de materiales, método y forma de aplicación la que produce las características de liberación deseadas, que cualquiera puede determinar solamente a partir de los estudios clínicos. La composición de revestimiento puede incluir aditivos convencionales, tales como plastificantes, pigmentos, colorantes, agentes estabilizantes, agentes de deslizamiento,

etc. Normalmente está presente un plastificante para reducir la fragilidad del revestimiento, y generalmente representará alrededor de 10% en peso a 50% en peso con respecto al peso seco del polímero. Los ejemplos de plastificantes típicos incluyen polietilenglicol, propilenglicol, triazetina, ftalato de dimetilo, ftalato de dietilo, ftalato de dibutilo, sebacato de dibutilo, citrato de trietilo, citrato de tributilo, acetilcitrato de trietilo, aceite de ricino y monoglicéridos acetilados. Preferiblemente se usa un agente estabilizante para estabilizar las partículas en la dispersión. Los agentes estabilizantes típicos son emulsionantes no iónicos tales como ésteres de sorbitán, polisorbatos y polivinilpirrolidona. Se recomiendan agentes de deslizamiento para reducir los efectos de la pegajosidad durante la formación de la película y el secado, y generalmente representarán aproximadamente 25% en peso a 100% en peso del peso del polímero en la disolución de revestimiento. Un agente de deslizamiento eficaz es talco. También se pueden usar otros agentes de deslizamiento, tales como estearato de magnesio y monoestearatos de glicerol. También se pueden usar pigmentos tales como dióxido de titanio. También se pueden añadir a la composición de revestimiento pequeñas cantidades de un agente antiespumante, tal como una silicona (por ejemplo, simeticona).

Matrices poliméricas

Se pueden usar tanto matrices no biodegradables como biodegradables para el suministro de los péptidos autoensambladores, aunque se prefieren matrices biodegradables. Éstas pueden ser polímeros naturales o sintéticos, aunque se prefieren polímeros sintéticos debido a la mejor caracterización de los perfiles de degradación y de liberación. El polímero se selecciona en base al periodo durante el cual se desea la liberación. En algunos casos, la liberación lineal puede ser muy útil, aunque en otros una liberación de pulso o "liberación voluminosa" puede proporcionar resultados más eficaces. El polímero puede estar en forma de un hidrogel (típicamente absorbiendo hasta alrededor de 90% en peso de agua), y puede estar opcionalmente reticulado con iones multivalentes o polímeros.

Los polímeros sintéticos representativos que se pueden usar para el suministro incluyen poliamidas, policarbonatos, polialquilenos, polialquilenglicoles, polióxidos de alquileno, politereftalatos de alquileno, polialcoholes vinílicos, poliéteres vinílicos, poliésteres vinílicos, polihaluros de vinilo, polivinilpirrolidona, poliglicolidas, polisiloxanos, poliuretanos y copolímeros de los mismos, alquilcelulosa, hidroxialquilcelulosas, éteres de celulosa, ésteres de celulosa, nitrocelulosas, polímeros de ésteres acrílicos y metacrílicos, metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxibutilmetilcelulosa, acetato de celulosa, propionato de celulosa, acetato-butilato de celulosa, acetato-ftalato de celulosa, carboxietilcelulosa, triacetato de celulosa, sal sódica de sulfato de celulosa, poli(metacrilato de metilo), poli(metacrilato de etilo), poli(metacrilato de butilo), poli(metacrilato de isobutilo), poli(metacrilato de hexilo), poli(metacrilato de isodecilo), poli(metacrilato de laurilo), poli(metacrilato de fenilo), poli(acrilato de metilo), poli(acrilato de isopropilo), poli(acrilato de isobutilo), poli(acrilato de octadecilo), polietileno, polipropileno, poli(etilenglicol), poli(óxido de etileno), poli(tereftalato de etileno), poli(alcoholes vinílicos), poli(acetato de vinilo), poli(cloruro de vinilo), poliestireno y polivinilpirrolidona.

Los ejemplos de polímeros no biodegradables incluyen etileno-acetato de vinilo, poliácido(met)acrílico, poliamidas, copolímeros y sus mezclas. Los ejemplos de polímeros biodegradables incluyen polímeros sintéticos tales como polímeros de ácido láctico y ácido glicólico, polianhídridos, poli(orto)ésteres, poliuretanos, poli(ácido bórico), poli(ácido valérico), y poli(lactida-co-caprolactona), y polímeros naturales tales como alginato y otros polisacáridos, incluyendo dextrano y celulosa, colágeno, sus derivados químicos (sustituciones, adiciones de grupos químicos, por ejemplo alquilo, alquileno, hidroxilaciones, oxidaciones, y otras modificaciones realizadas normalmente por los expertos en la técnica), albúmina y otras proteínas hidrófilas, zeína y otras prolaminas y proteínas hidrófobas, copolímeros y sus mezclas. En general, estos materiales se degradan mediante hidrólisis enzimática o mediante exposición a agua *in vivo*, mediante erosión superficial o voluminosa.

Los polímeros bioadhesivos de interés particular incluyen hidrogeles bioerosionables descritos por H. S. Sawhney, C. P. Pathak y J. A. Hubell en *Macromolecules*, 1993, 26, 581-587, poliácidos hialurónicos, caseína, gelatina, glutina, polianhídridos, poliácido acrílico, alginato, quitosano, poli(metacrilatos de metilo), poli(metacrilatos de etilo), poli(metacrilato de butilo), poli(metacrilato de isobutilo), poli(metacrilato de hexilo), poli(metacrilato de isodecilo), poli(metacrilato de laurilo), poli(metacrilato de fenilo), poli(acrilato de metilo), poli(acrilato de isopropilo), poli(acrilato de isobutilo), y poli(acrilato de octadecilo).

La matriz puede estar en forma de micropartículas tales como microesferas, en las que los péptidos se dispersan en una matriz polimérica sólida, o microcápsulas, en las que el núcleo es de un material diferente a la corteza polimérica, y el péptido se dispersa o suspende en el núcleo, que puede tener naturaleza líquida o sólida. Excepto que se defina específicamente aquí, micropartículas, microesferas y microcápsulas se usan de forma intercambiable. Como alternativa, el polímero se puede colar como un bloque o película, oscilando desde nanómetros hasta cuatro centímetros, un polvo producido triturando u otras técnicas estándar, o incluso un gel tal como un hidrogel. El polímero también puede estar en forma de un revestimiento o parte de una endoprótesis o catéter, injerto vascular, u otro dispositivo protésico.

Las matrices se pueden formar mediante evaporación del disolvente, secado por pulverización, extracción del disolvente y otros métodos conocidos por los expertos en la técnica. Las microesferas bioerosionables se pueden preparar usando cualquiera de los métodos desarrollados para obtener microesferas para el suministro de fármacos,

por ejemplo como se describe por Mathiowitz y Langer, J. *Controlled Release* 5:3-22 (1987); Mathiowitz et al., *Reactive Polymers* 6:275-283 (1987); y Mathiowitz et al., *J. Appl. Polym. Sci.* 35:755-774 (1988). La selección del método depende de la selección del polímero, el tamaño, la morfología externa, y cristalinidad que se desee, como se describe, por ejemplo, por Mathiowitz et al., *Scanning Microscopy* 4:329-340 (1990); Mathiowitz et al., *J. Appl. Polymer Sci.* 45:125-134 (1992); y Benita et al., *J. Pharm. Sci.* 73:1721-1724 (1984). En la evaporación del disolvente, descrita por ejemplo en Mathiowitz et al., (1990), Benita et al. (1984), y en la patente U.S. n° 4.272.398 de Jaffe, el polímero se disuelve en un disolvente orgánico volátil. El péptido, ya sea en forma soluble o disperso como partículas finas, se añade a la disolución polimérica, y la mezcla se suspende en una fase acuosa que contiene un agente tensioactivo tal como poli(alcohol vinílico). La emulsión resultante se agita hasta que la mayoría del disolvente orgánico se evapora, dejando microesferas sólidas. En general, el polímero se puede disolver en cloruro de metileno. Se pueden obtener mediante este método microesferas con diferentes tamaños (1-1000 micrómetros) y morfologías, lo que es útil para polímeros relativamente estables tales como poliésteres y poliestireno. Sin embargo, los polímeros lábiles tales como polianhídridos se pueden degradar debido a la exposición al agua. Para estos polímeros, se puede preferir el encapsulamiento en estado fundido caliente y la eliminación del disolvente.

En el encapsulamiento en estado fundido caliente, el polímero se funde en primer lugar y después se mezcla con las partículas sólidas de péptidos. La mezcla se suspende en un disolvente no miscible tal como aceite de silicona y, con agitación continua, se calienta hasta 5°C por encima del punto de fusión del polímero. Una vez que se estabiliza la emulsión, se enfría hasta que las partículas poliméricas solidifican. Las microesferas resultantes se lavan mediante decantación con éter de petróleo para dar un polvo que fluye libremente. Con este método, se pueden obtener microesferas con diámetros entre uno y 1000 micrómetros. La superficie externa de las esferas preparadas con esta técnica es habitualmente lisa y densa. Este procedimiento es útil con polímeros lábiles al agua, pero está limitado al uso con polímeros con pesos moleculares entre 1000 y 50000. La eliminación del disolvente se diseñó principalmente para uso con polianhídridos. En este método, el fármaco se dispersa o disuelve en una disolución de un polímero seleccionado en un disolvente orgánico volátil como cloruro de metileno. La mezcla se suspende entonces en aceite, tal como aceite de silicona, mediante agitación, para formar una emulsión. En 24 horas, el disolvente se difunde en la fase oleosa, y las gotitas de la emulsión se endurecen en microesferas poliméricas sólidas. A diferencia de la evaporación del disolvente, este método se puede usar para obtener microesferas a partir de polímeros con puntos de fusión elevados y un amplio intervalo de pesos moleculares. Con este procedimiento, se pueden obtener microesferas que tienen un diámetro entre uno y 300 micrómetros. La morfología externa de las esferas depende mucho del tipo de polímero usado. En el secado por pulverización, el polímero se disuelve en cloruro de metileno (0,04 g/ml). Una cantidad conocida de fármaco activo se suspende (si es insoluble) o se codisuelve (si es soluble) en la disolución polimérica. La disolución o la dispersión se seca entonces por pulverización. Las microesferas de doble pared se pueden preparar según la patente U.S. n° 4.861.627 de Mathiowitz.

Las microesferas de hidrogel obtenidas de polímeros de tipo gel, tales como alginato o polifosfazinas u otros polímeros dicarboxílicos, se pueden preparar disolviendo el polímero en una disolución acuosa, suspendiendo el material a incorporar en la mezcla, y extruyendo la mezcla polimérica a través de un dispositivo formador de microgotitas, equipado con un chorro de gas nitrógeno. Las microesferas resultantes caen en un baño de endurecimiento iónico, de agitación lenta, como se describe, por ejemplo, por Salib et al., *Pharmazeutische Industrie* 40-11A, 1230 (1978). Las microesferas de quitosano se pueden preparar disolviendo el polímero en disolución ácida y reticulando con tripolifosfato. Por ejemplo, microesferas de carboximetilcelulosa (CMC) se pueden preparar disolviendo el polímero en una disolución ácida y precipitando las microesferas con iones de plomo. Alginato/polietilenimida (PEI) se pueden preparar para reducir la cantidad de grupos carboxilo en las microcápsulas de alginato.

Otros sistemas de suministro que incluyen películas, revestimientos, peletes, bloques, y dispositivos, se pueden fabricar usando disolvente y colada en estado fundido, y extrusión, así como métodos estándar para obtener materiales compuestos. El polímero se puede producir mezclando en primer lugar monómeros y péptidos como se describe por Sawhney et al., y polimerizando los monómeros con luz ultravioleta. La polimerización se puede llevar a cabo *in vitro* así como *in vivo*.

D. Dispositivos para administración

Las formulaciones líquidas se pueden proporcionar en una jeringuilla o pipeta que tiene un barril que contiene una composición que incluye péptidos autoensambladores, y un medio para expeler la composición desde una punta abierta de la jeringuilla o pipeta (*por ejemplo*, un émbolo o bulbo). La jeringuilla puede consistir en uno o más compartimentos (*por ejemplo*, creados mediante un separador que corre simétrica o no simétricamente a lo largo de un eje longitudinal del barril de la jeringuilla), de manera que el mezclamiento de los péptidos autoensambladores con uno o más agentes adicionales se produce en el momento de la aplicación. Los compartimentos también pueden contener excipiente, tal como un material que forma un hidrogel o adhesivo, en un primer compartimento, y los péptidos autoensambladores en un segundo compartimento. Un primer compartimento puede contener péptidos autoensambladores liofilizados o partículas de péptidos autoensambladores, y un segundo compartimento puede contener una disolución para disolver o hidratar los péptidos o polvos para la aplicación en seco. La composición en el barril puede incluir además cualquiera de los agentes no fibrosos descritos aquí (*por ejemplo*, uno o más de un

vasoconstrictor, un agente colorante, un agente anestésico o analgésico, un antimicrobiano (*por ejemplo*, agente antibiótico, antiviral, o antifúngico) u otro agente terapéutico, colágeno, un agente antiinflamatorio, un factor de crecimiento, o un nutriente). El material se puede gelificar y se puede aplicar con un instrumento, tal como una espátula.

5 II. Métodos de administración

Cualquiera de los agentes descritos aquí, incluyendo células, compuestos terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico tales como antibióticos y factores de crecimiento se puede introducir en la disolución peptídica antes del autoensamblaje *in vitro* o *in vivo*, y las estructuras premoldeadas pueden incluir uno o más de estos agentes, opcionalmente envasados en material estéril y/o provistos de instrucciones para uso. El material se puede usar
10 profilácticamente o como un tratamiento en ausencia de agentes adicionales. Los agentes bioactivos pueden distribuirse aproximadamente de manera uniforme a lo largo del armazón, o se pueden concentrar en un área u otra (*por ejemplo*, en o cerca de la superficie, en un área del núcleo, se pueden graduar a lo largo del armazón o una región del mismo, o se pueden estratificar en él (*por ejemplo*, concentrados en capas o distribuidos uniformemente o de manera no uniforme)). Para lograr una distribución aproximadamente uniforme de la sustancia en la estructura,
15 se puede mezclar la disolución que contiene el precursor y la sus, que también puede estar en disolución, antes de iniciar el autoensamblaje.

A. Sitios de administración

El material se puede aplicar a una variedad de diferentes superficies para prevenir o controlar el paso de fluido (*por ejemplo*, para promover la hemostasia) o para funcionar como una barrera (*por ejemplo*, para reducir la contaminación). La cantidad de agente autoensamblador está determinada en parte por la función del material en el control del flujo de fluido, así como las propiedades de cualesquiera otros materiales o estructuras asociados con los péptidos autoensambladores, solos o en combinación con otros materiales bioactivos.
20

En una primera realización, el material se usa para prevenir o controlar la hemorragia. El material se puede aplicar como un líquido, un gel, o como parte de un sustrato tal como una venda o membrana. De este modo, las formulaciones se pueden aplicar a un vaso sanguíneo, ya sea en la luz, por ejemplo en el momento de la angioplastia, se pueden administrar mediante o como un revestimiento sobre una endoprótesis o catéter, o pueden ser exteriores al vaso, típicamente en el sitio de la anastomosis. El material se puede aplicar a tejidos antes, durante
25 o después de la cirugía, para prevenir la hemorragia, que es especialmente problemática con tejido tal como hígado, riñón o bazo, u otras cirugías en las que hay un gran riesgo de que se indicará una transfusión, o para sellar y proteger un tejido (*por ejemplo*, un tejido seleccionado o cosechado de transplante, o un tejido adecuado para la recolocación (*por ejemplo*, un dedo dañado)).
30

El material también es particularmente muy adecuado para uso en el ojo, para prevenir hemorragia o sangrado en el humor vítreo (*es decir*, para promover hemostasia). Otras cirugías en las que el material sería beneficioso incluyen trasplantes de córnea, cirugía conjutival y cirugía de glaucoma. El material es particularmente ventajoso durante la cirugía, puesto que es transparente y el cirujano es capaz de ver a través del material a medida que está operando.
35

El material se puede usar para detener o impedir el flujo de fluidos distintos de sangre. El material se puede aplicar a quemaduras, para detener o impedir la fuga de fluido intersticial. El material se puede aplicar a la duramadre o al pulmón como sellante dórico o pulmonar.

El material también se puede utilizar en general en cirugía oral, periodoncia, y en odontología en general, tanto como una barrera como para controlar o prevenir la hemorragia.
40

El uso del material en individuos con coagulación alterada (hemofilia, von Willebrands, deficiencia de vitamina K, de proteína S o de proteína C, hepatitis fulminante, coagulación intravascular diseminada ("DIC"), síndrome urémico hemolítico ("HUS") es también una utilidad importante puesto que el mecanismo de acción depende de la ruta de coagulación normal.

En otra realización, el material se aplica al exterior de un tejido, tal como un tumor, para prevenir la ruptura o metástasis en el momento de la cirugía. Uno de los beneficios del material es que se puede inyectar y gelificar en el sitio, de manera que el material se puede aplicar y volver a aplicar durante la cirugía, según sea necesario.
45

En todavía otra realización, el material es particularmente muy adecuado para funcionar como una barrera para prevenir o reducir la contaminación, ya sea al tejido o desde un tejido a otro, por ejemplo, durante la cirugía intestinal. El material se puede aplicar para preparar un sitio interno antes de o durante la cirugía, especialmente sitios tales como las cavidades sinusales, y para cirugías tales como cirugía transuretral y transvaginal, y como un profiláctico y/o terapéutico. El material debería ser también particularmente útil en cirugía cardiovascular, en la que ambas propiedades de barrera y de hemostasia pueden ser valiosas, por ejemplo, para pacientes con válvula cardíaca que tienen tendencia a consecuencias adversas tales como abscesos del anillo de la válvula (revestir válvula, añadir antibiótico), endocarditis (revestir válvula), disección de la raíz aórtica (proporcionar hemostasia inmediata).
50
55

El material en combinación con un metal, tal como plata, tiene propiedades antiadhesivas y puede inhibir la angiogénesis. En consecuencia, puede ser útil disminuyendo la cicatrización y las adhesiones, incluyendo aquellas que tienden a producirse tras un procedimiento quirúrgico. El material se puede aplicar tras la cirugía, o a una lesión tal como una quemadura, para disminuir la cicatrización y/o pérdida de fluido, y para limitar la infección o el riesgo de infección. Esto tiene una aplicación adicional en cirugía plástica, especialmente para la protección de áreas limpiadas y libres de desechos antes del cierre o trasplante de la piel, por ejemplo en abdominoplastia, estiramientos faciales, sitios dadores de colgajos, latissimus dorsi para reconstrucción de mama.

En todavía otra realización, el material se administra como una suspensión que se puede beber por un paciente para reducir la hemorragia estomacal, por ejemplo de una úlcera, o para disminuir la acidez, o para limitar la hemorragia de varices esofágicas. Como alternativa, el material se puede proporcionar como un enema para tratar hemorroides o para llenar divertículos.

En todavía otra realización, el material se puede usar para el tratamiento de fertilidad, conservación de óvulos, y para reparar trompas de falopio con cicatrices.

El material también se puede usar como estabilizador de la sangre o como un material para conservar órganos.

Puesto que el ensamblaje no es irreversible, se pueden liberar sustancias contenidas. Por ejemplo, las moléculas o células se pueden liberar de las estructuras *in vivo* (por ejemplo, pequeñas moléculas que se pueden difundir, y moléculas más grandes y células que se pueden liberar a medida que las estructuras se degradan).

El material, que incluye formulaciones que contienen agentes no fibrosos y/o terapéuticos o células, se usa como un neuroprotector para minimizar el daño y cicatrización tras lesión neuronal. Las estructuras a base de péptidos promueven la reparación y regeneración del tejido neuronal (por ejemplo, cuando se aplican péptidos autoensambladores a una lesión en el cerebro como se describe en los documentos U.S.S.N. 10/968.790 US 2005/0287186). El pequeño tamaño de las fibras en los armazones y/o la estructura de "onda" abierta de los materiales permite la extensión de procesos celulares y permite la difusión adecuada de nutrientes y productos de desecho de una manera que proporciona ventajas únicas para la regeneración de tejido neuronal.

Las estructuras a base de péptidos, incluyendo aquellas que contienen agentes no fibrosos y/o terapéuticos o células, son capaces de potenciar la reparación de tejidos no neuronales (por ejemplo, tejidos epiteliales tales como piel) cuando se aplican a un área de daño (véase el Ejemplo 5). En consecuencia, las composiciones se pueden aplicar fuera del sistema nervioso central; fuera del cerebro; o a tejidos fuera de la cavidad craneal o médula espinal o columna. La reparación puede constituir una restauración anatómica o funcional del tejido a un estado que se asemeja al del tejido antes de la lesión o deterioro (por ejemplo, deterioro asociado a enfermedad). La reparación debería ser superior a la que se podría esperar en ausencia de tratamiento con una composición presente. Por ejemplo, la reparación puede incluir la restauración de continuidad física entre dos porciones de un tejido que se separaron mediante lesión, deterioro, u otro daño. Preferiblemente, la conexión física restaurada incluirá la reuxtaposición o reconexión de las porciones de tejido sin separación apreciable por tejido heterogéneo, tal como tejido cicatrizal.

En el transcurso de la promoción de la reparación de heridas, las composiciones pueden no sólo mejorar el resultado final (por ejemplo, formación reducida de cicatriz que da como resultado un resultado que se asemeja muchísimo al tejido original), sino también reducen el tiempo requerido para la curación. Estos resultados no se podrían haber predicho en base a los resultados logrados tras la aplicación al sistema nervioso central lesionado, dadas las diferencias sustanciales entre tejidos neuronales y no neuronales.

B. Dosis eficaces

En general, la cantidad de material requerido variará dependiendo de diversos factores tales como el tamaño o grado de una lesión (que, a su vez, se puede expresar en términos de la longitud de una incisión, el calibre o número de vasos sanguíneos dañados, el grado de una quemadura, el tamaño y profundidad de una úlcera, abrasión, u otra lesión). La cantidad puede variar, por ejemplo, desde unos pocos microlitros hasta varios mililitros o más, por ejemplo decenas o cientos de mililitros. El dispositivo usado para suministrar el material variará según la cantidad. Por ejemplo, se puede usar convenientemente una jeringuilla para suministrar cantidades más pequeñas, mientras que un tubo o una botella estrujable sería más adecuada para cantidades más grandes. Una cantidad eficaz (ya sea en referencia a un armazón, sus precursores, u otra molécula bioactiva presente en la formulación) significa la cantidad necesaria para provocar una respuesta biológica mejorada o deseada.

Como apreciarán aquellos de pericia normal en esta técnica, la cantidad eficaz de un agente puede variar dependiendo de factores tales como el punto final biológico deseado, el agente a suministrar, la naturaleza del sitio al que se suministra el agente, y la naturaleza de la afección para la que se administra el agente. Por ejemplo, una cantidad eficaz de una composición para acelerar hemostasia puede ser una cantidad suficiente para disminuir la cantidad de sangre perdida entre el tiempo en el que comienza la hemorragia y el tiempo en el que termina la hemorragia en al menos 25% con respecto a la cantidad de sangre perdida después del tratamiento con disolución salina fría o sin tratamiento. Una cantidad eficaz de una composición para acelerar la hemostasia también puede ser una cantidad suficiente para disminuir el tiempo requerido para lograr el cese de hemorragia visible en al menos

25% con respecto al tiempo requerido tras el tratamiento con disolución salina fría o sin tratamiento. Una cantidad eficaz de una composición para promover la curación de heridas puede ser una cantidad suficiente para disminuir el tiempo requerido para lograr un porcentaje predeterminado de reducción en el tamaño de una lesión en al menos 25% con respecto al tiempo requerido en ausencia de tal tratamiento.

- 5 La cantidad de la composición proporcionada puede variar dependiendo de la gravedad de la afección del sujeto, y debería ser suficiente para inhibir el movimiento indeseado hasta un grado que beneficie al sujeto. La sustancia corporal puede ser sangre, fluido cerebroespinal, pus, exudado seroso, bilis, jugo pancreático, o una sustancia normalmente contenida en el tubo digestivo (*por ejemplo*, el estómago o intestino), o aparato urinario.

C. Cómo se administra

- 10 La composición se puede proporcionar sobre la superficie del cuerpo del sujeto y/o se puede proporcionar en una cavidad generada por la fuerza (*por ejemplo*, por trauma inesperado o un procedimiento quirúrgico). De esta manera, el movimiento indeseado de sustancias corporales se puede inhibir en el contexto de un amplio intervalo de situaciones, incluyendo lesión traumática, una afección médica (*por ejemplo*, una afección médica crónica o prolongada asociada con hemorragia), o procedimientos quirúrgicos (*por ejemplo*, cirugía ortopédica, cirugía dental, 15 cirugía cardíaca, cirugía oftálmica, o cirugía plástica o reconstructiva). Por ejemplo, cuando el movimiento indeseado de la sustancia corporal es el resultado de trauma, el sujeto puede tener una parte corporal parcial o completamente dañada, una laceración, una abrasión, una herida de punción, o una quemadura. Cuando las composiciones se aplican a una superficie del cuerpo, pueden inhibir no sólo el movimiento indeseado de una sustancia corporal, sino también pueden ayudar a proteger al sujeto de la contaminación. Por ejemplo, aplicando un agente autoensamblador a la piel, se impedirá el movimiento de una sustancia extraña indeseada en la piel o pelo en una 20 herida. Cuando el movimiento indeseado de la sustancia corporal resulta de una afección médica crónica, el sujeto puede estar experimentando hemorragia recurrente. Por ejemplo, el sujeto puede estar experimentando hemorragia en relación con venas varicosas, incluyendo telangiectasia, hemorroides, hemorragia en los pulmones (debido, por ejemplo, a cáncer pulmonar, bronquitis, o una enfermedad bacteriana o vírica, incluyendo neumonía o gripe), o 25 varices esofágicas. Las afecciones médicas asociadas con hemorragia recurrente se pueden tratar con las composiciones descritas aquí, incluyendo aquellas que contienen péptidos autoensambladores y un vasoconstrictor (*por ejemplo*, fenilefrina, que puede constituir alrededor de 0,25-0,5% de la composición). Cuando la hemorragia se produce en la orofaringe o pulmones, las composiciones se pueden administrar mediante un inhalador de dosis medida. Si la afección del paciente se ha deteriorado hasta el punto en el que se requiere ventilación artificial, las 30 composiciones se pueden administrar a través de un respirador o mediante sonda nasogástrica.

- El movimiento indeseado de la sustancia corporal también puede tener lugar durante un procedimiento quirúrgico, y ese procedimiento puede implicar una incisión en el sistema nervioso del sujeto, ojo, oído, nariz, boca, faringe, sistema respiratorio, sistema cardiovascular, sistema digestivo, sistema urinario, sistema reproductor, sistema musculoesquelético, hígado, o integumento. Los métodos se pueden llevar a cabo independientemente de si el 35 movimiento de la sustancia corporal fue intencionado o no. Las composiciones descritas aquí se pueden aplicar antes o después de que se produzca el movimiento indeseado (*por ejemplo*, durante un procedimiento quirúrgico antes del corte transversal intencionado de un vaso sanguíneo, o después de un corte transversal no intencionado de un vaso sanguíneo). Por ejemplo, el procedimiento quirúrgico se puede llevar a cabo con la intención de reparar un aneurisma, impedir la hemorragia en el cerebro, para tratar varices esofágicas, para tratar una úlcera o para 40 inhibir la pérdida de contenidos gástricos o contenidos intestinales (*por ejemplo*, desde un apéndice hinchado o roto). El procedimiento quirúrgico puede implicar extirpar una porción del intestino del sujeto. Otros procedimientos que se pueden llevar a cabo con la ayuda de las composiciones que incluyen agentes autoensambladores incluyen arteriografía, cateterización cardíaca, inserción de una endoprótesis, ayuda con un parto natural o parto por cesárea, histerectomía, trasplante de órganos, sustitución de articulaciones, o corte de (u otra manipulación de) un disco 45 intervertebral. Estos procedimientos son representativos. El procedimiento quirúrgico se puede llevar a cabo con la ayuda de un endoscopio o laparoscopio, y las composiciones se pueden suministrar independientemente o a partir de una cámara situada en estos dispositivos y conectada a un extremo distal mediante un paso para la liberación en los tejidos del sujeto. Cuando el paciente tiene una úlcera, esa úlcera puede ser una úlcera esofágica, gástrica, duodenal, diabética, o de decúbito. Más generalmente, las composiciones se pueden aplicar a cualquier área interrumpida de la piel, y cualquiera de los métodos descritos aquí puede incluir una etapa de identificar un paciente 50 que necesite tratamiento.

- Un armazón de nanofibra de péptido autoensamblador (SAPNS) puede proporcionar un entorno transparente para el campo quirúrgico, a la vez que también crea un líquido ópticamente claro que permite la operación a través de la 55 mezcla de líquido y gel resultante. El campo quirúrgico se oscurece a menudo con sangre y desechos durante una operación. Además, el aclaramiento de los desechos a partir del campo quirúrgico requiere habitualmente irrigar el sitio con disolución salina. La disolución salina es sólo una solución temporal y necesita ser aplicada continuamente para mantener un campo quirúrgico transparente. Esto plantea varios aspectos: cualquier contaminación que exista se extenderá fácilmente; una pequeña abertura requerirá alterar entre irrigación y operación; y durante operaciones intestinales, el uso de disolución salina puede dar como resultado una infección masiva que conduzca a complicaciones post-operatorias. El uso del SAPNS para el confinamiento biológico reducirá complicaciones post-operatorias en procedimientos endoscópicos y de cirugía abierta. Se ha demostrado eficacia en el cerebro, médula 60 espinal, tubo digestivo, hígado, músculo, arterias y venas.

Por ejemplo, una resección parcial se realiza actualmente según lo siguiente. El cirujano realiza una resección parcial del intestino para eliminar un área precancerosa. Se realiza la incisión, y los intestinos se elevan levemente fuera de la cavidad intraperitoneal y se colocan en la mesa próxima al paciente. El área dañina se reseca, y los dos extremos del intestino se ligan entonces juntos. Antes de que los intestinos se coloquen nuevamente en el cuerpo, hay una bolsa colostómica conectada al extremo superior del intestino, y el área de la operación se desinfecta. Los intestinos se recolocan en el abdomen y se cosen nuevamente. Se coloca un drenaje en el abdomen para asegurarse de que no hay fuga o hemorragia. Por el contrario, usando el material de péptido autoensamblador, se realiza una resección parcial según lo siguiente. El doctor abre el abdomen y encuentra la parte agresora del intestino. Se aísla con líquido adicional que se vierte en la cavidad intraperitoneal para aislarlo del resto de la cavidad intraperitoneal. El cirujano pasa a través del gel que se formó por el líquido, y reseca el intestino. Los dos extremos se ligan juntos y el área se comprueba para determinar cualquier cambio de color (el gel puede tener también un tinte indicador que cambia de color (*por ejemplo*, a azul) si hay cualquier fuga de fluidos gástricos o bacterias). El material coloreado se retira (*por ejemplo*, con succión). Se puede pulverizar un poco más de material alrededor del área de la reparación antes de que se cosa el abdomen. En resumen, el material de péptido autoensamblador se puede usar para crear un entorno local más limpio para llevar a cabo la cirugía; aislar estructuras e impedir la migración de contaminantes; inflar estructuras para procedimientos quirúrgicos (*por ejemplo*, intestino); rodear estructuras que están siendo retiradas y que pueden tener fugas (*por ejemplo*, apéndice); parchear orificios en un cuerpo; permitir un mejor resultado quirúrgico en entornos sucios; facilitar procedimientos telescópicos para rodear el órgano antes de la operación para contener cualquier fuga; crear una barrera para prevenir o impedir adhesiones mientras se lleva a cabo la cirugía abdominal; y se puede usar para formar un tapón entre el telescopio y el punto de inserción del telescopio. Los beneficios pueden incluir uno o más de los siguientes: el material es ópticamente transparente, tiene un período de caducidad prolongado a temperatura ambiente, se puede operar a su través, acorta el tiempo de preparación, elimina el recuento de las esponjas, aísla cada estructura en el campo quirúrgico, acorta el tiempo de limpieza de la sala de operaciones, acorta el tiempo quirúrgico, reduce o elimina la contaminación cruzada provocada por otros irrigantes. Además, el material es biocompatible, y los productos de ruptura pueden ser naturales y se pueden absorber por el cuerpo. El material es fácil también de manipular, se puede inyectar en la localización necesaria, reduce las infecciones estafilocócicas o el riesgo de infección, puede ser capaz de reducir el coste de materiales desechables de la sala de operaciones tales como papel, y puede reducir bolsas de riesgo biológico puesto que el material se puede hervir para esterilizarlo después del procedimiento para producir vapor. Puesto que el material es transparente, debería permitir al cirujano operar de manera más rápida, debido a que el campo de operación está libre de sangre. La eliminación del empaquetamiento de heridas para controlar la hemorragia podría reducir el tiempo de operación tanto como 50% en un caso complicado. La infección post-operatoria, debido a infección secundaria, se puede reducir mediante el uso del material puesto que puede revestir a la herida durante y después de la cirugía, reduciendo así la contaminación de cuerpos extraños. En el cuidado post-operatorio, se puede usar el material para reducir la infección debida a drenaje indeseable al ralentizar la extensión de material en partículas en el abdomen o en la cavidad torácica.

Aunque las composiciones se pueden eliminar de un sitio de aplicación (*por ejemplo*, un vaso sangrante) en cualquier momento, el médico puede desear que permanezcan en el sitio incluso después de que se ha logrado el objetivo inicial de promover la hemostasia (*por ejemplo*, a fin de promover la curación de heridas).

Las composiciones incluyen péptidos autoensambladores, péptidos los cuales pueden incluir restos de aminoácidos que son de origen natural y que se pueden absorber por el cuerpo, como se señala, las composiciones no son difíciles de manipular, y se pueden dispensar fácilmente según se vayan necesitando. Sus características (*por ejemplo*, rigidez) se pueden alterar fácilmente alterando las concentraciones de los componentes en ellas (*por ejemplo*, alterando la concentración de péptidos autoensambladores en una composición dada). Puesto que la estructura ensamblada resultante no altera significativamente la vista de una persona de un tejido subyacente, y no tiene que ser retirada antes o después de que se lleve a cabo un procedimiento, se puede evaluar una herida a través del material. Por ejemplo, un médico puede evaluar una quemadura u otro trauma superficial que se ha tratado en el campo con una composición descrita aquí. En la sala de operaciones, un cirujano puede hacer una incisión inicial a través del material y puede continuar operando con equipo estándar, tal como escalpelos y abrazaderas, o medios más modernos, tales como láseres, en un campo interno al que también se han aplicado las composiciones. Puesto que las composiciones se pueden aplicar alrededor del sitio de una incisión y formar un revestimiento para proteger frente a agentes infecciosos, hay menos necesidad de afeitar la piel del paciente, aplicar gasas, y aplicar desinfectantes.

Dada la integridad estructural de los armazones ensamblados, si se desea, se pueden retirar de un área en la que se han formado. De este modo, un armazón ensamblado se puede retirar, por ejemplo, por succión, o elevándolo con un instrumento tal como fórceps, o por frotamiento con una torunda o gasa. Por ejemplo, el armazón se puede retirar después de que se logra la hemostasia o en el curso de la limpieza de una herida. Basándose en estudios hasta la fecha, el armazón o una mayoría del mismo se puede retirar sin dañar el tejido subyacente. Cuando los armazones ensamblados se forman *ex vivo*, se pueden retirar de un molde y se pueden usar subsiguientemente (*por ejemplo*, se pueden implantar en un tejido o un vacío tisular). Las composiciones deberían reducir la cantidad de material que requiere el desecho o la limpieza posterior (*por ejemplo*, gasas quirúrgicas, esponjas, y otros materiales biológicamente peligrosos). Se pueden usar "nanogasas" para sustituir gasas tradicionales de papel o de tela, limitando la infección tras la aplicación directamente al paciente, por ejemplo mediante pulverización o revistiendo de

otro modo el paciente o el área alrededor de la incisión quirúrgica. Actualmente un paciente se prepara para la cirugía mediante afeitado, frotamiento, desinfección y vendado tras la colocación en la mesa quirúrgica. Después, se aplica un bactericida y una cinta al área en la que la cirugía se va a llevar a cabo. Se puede aplicar una composición autoensambladora en lugar de las gasas pulverizando una formulación líquida (que se puede calentar) sobre el cuerpo en el que se ensambla en un revestimiento delgado (o “segunda piel”). Preferiblemente, el material tendrá un tamaño de poros (o tamaño medio de poros) que es menor que cualquier bacteria (*por ejemplo, Staphylococcus aureus*). El tamaño de poros impedirá que los contaminantes, incluyendo contaminantes transportados por el aire, alcancen la piel del paciente o una herida. El revestimiento o segunda piel puede tener al menos o aproximadamente un milímetro de grosor, y el material puede contener un agente antimicrobiano (*por ejemplo, un antibactericida suave*). Siempre que se aplique a la piel, el material también puede incluir un componente hidratante para la piel, de manera que no se seque.

Un armazón (*por ejemplo, un material de estructura de nanoescala*) se puede proporcionar introduciendo, a un sujeto (*por ejemplo, un paciente humano*), un precursor del armazón en una localización, o en la vecindad de una localización, en la que se desea el armazón (*por ejemplo, para controlar el movimiento o fuga de una sustancia corporal, para proteger una herida, o para promover la reparación tisular*). Se proporcionan precursores (*por ejemplo, péptidos autoensambladores*) en la vecindad de una localización cuando se proporcionan en una posición que está suficientemente próxima al área seleccionada como diana (*por ejemplo, un vaso sangrante, una sección enferma del tubo digestivo, o un área de piel quemada*) que alcanzan el área seleccionada como diana en una cantidad eficaz. Los precursores, que pueden ser homogéneos o heterogéneos (*por ejemplo, se puede aplicar un único tipo de péptido autoensamblador o una mezcla de dos o más de tales tipos diferentes*), pueden estar contenidos en una composición y, al contacto con condiciones fisiológicas se ensamblan para formar el armazón (*por ejemplo, un material de estructura de nanoescala*). De este modo, los precursores se ensamblan *in situ* (es decir, en el cuerpo de un sujeto en la vecindad de la administración).

El material de estructura de nanoescala puede incluir, o su ensamblaje puede implicar, componentes adicionales presentes *in situ* (*por ejemplo, iones*). De este modo, los precursores tales como péptidos autoensambladores se pueden aplicar en una disolución que está sustancialmente libre de iones (*por ejemplo, sustancialmente libre de cationes monovalentes*) y se autoensamblan para formar una estructura macroscópica cuando entran en contacto con tales iones en el cuerpo (*por ejemplo, en una sustancia corporal tal como sangre, contenidos gastrointestinales, y similares*). Por ejemplo, se puede aplicar una disolución que contiene precursores en, o en la vecindad de, un sitio de perforación gástrica o intestinal, o en un sitio en el que se ha realizado o se realizará una incisión quirúrgica.

El armazón también se puede proporcionar en forma de un gel, ya que los precursores (*por ejemplo, péptidos autoensambladores*) se pueden ensamblar antes de introducir una composición a un área seleccionada como diana (*por ejemplo, el sitio en el que se hará una incisión para un procedimiento quirúrgico*). La estructura ensamblada puede tomar cualquier forma conveniente.

El armazón también se puede proporcionar proporcionando precursores en forma de un polvo seco. Un polvo “seco” tendrá un contenido de líquido relativamente bajo (*por ejemplo, suficientemente bajo de manera que las partículas en él sean fácilmente dispersables*). Los péptidos autoensambladores proporcionados en forma de un polvo seco se ensamblarán cuando entren en contacto con un fluido corporal que contiene cationes monovalentes, y se puede añadir, si se desea, una disolución que contiene tales iones para alterar la velocidad a la que el armazón se forma o se hace rígido. Los péptidos autoensambladores se pueden proporcionar como emulsiones o, como se describe anteriormente, se pueden moldear en formas preformadas que se pueden insertar en una cavidad corporal o sitio de herida de manera similar a la manera que se usan actualmente las esponjas quirúrgicas. Si se desea, se puede añadir un aglutinante a un polvo seco, el cual se conforma entonces en una forma deseada. Independientemente de la manera precisa en la que se ensamble el armazón (*por ejemplo, ya sea poniendo en contacto una formulación líquida que contiene precursores con el cuerpo, o poniendo en contacto un polvo seco con una disolución que contiene iones ex vivo*), los armazones formados pueden asumir una forma deseada. Cuando el tamaño y la forma es tal que el armazón llena la luz de un vaso sanguíneo, el armazón se puede usar como tapón vascular.

Se puede llevar a cabo una medida preventiva antes de que un sujeto experimente un suceso indeseado (*por ejemplo, antes de que se produzca una lesión o antes de que comience la hemorragia*). De este modo, el sitio de administración puede ser un sitio de movimiento potencial o de fuga potencial, y la aplicación se puede realizar para prevenir o minimizar de que ocurra tal movimiento o fuga. Cuando se usan en el contexto de un procedimiento o tratamiento terapéutico, las composiciones pueden invertir, aliviar, o inhibir el progreso de una afección (*por ejemplo, un estado, síndrome, enfermedad, o un signo, síntoma o manifestación de tales*). Los métodos para tratar un sujeto se llevan a cabo generalmente una vez que el sujeto se reconoce que tiene una afección susceptible al tratamiento, y cualquiera de los métodos descritos aquí, ya sea mejor descritos como profilácticos o terapéuticos, puede incluir una etapa de identificar un sujeto susceptible (*por ejemplo, un sujeto considerado que necesita el tratamiento o procedimiento prescrito y llevado a cabo subsiguientemente (por ejemplo, un paciente que está sangrando o que tiene programado un procedimiento quirúrgico)*).

Puesto que las composiciones descritas aquí se pueden usar para inhibir el movimiento de una sustancia corporal en un sujeto, incluyendo el movimiento en o desde la epidermis, las composiciones se pueden emplear en el contexto de llevar a cabo cirugía, y se pueden describir como nuevos métodos para llevar a cabo cirugía o generar

un campo quirúrgico. Los métodos, ya sea llevados a cabo en el contexto de cirugía o no, pueden incluir una etapa de identificar un sujeto que necesite tratamiento, y una etapa de proporcionar un material de estructura de nanoescala, o un precursor del mismo, en la vecindad de un sitio en el que se ha producido un movimiento indeseado o se espera que ocurra. La cantidad de la composición administrada y la concentración de los péptidos autoensambladores en ella puede ser suficiente para inhibir el movimiento indeseado de una sustancia corporal. Por ejemplo, se puede identificar un paciente que va a sufrir un procedimiento quirúrgico, y se puede proporcionar una composición biocompatible que comprende péptidos autoensambladores y un vasoconstrictor, un agente colorante, o un agente anestésico local a un sitio en el que se hará o se ha hecho una incisión u otra maniobra invasiva. La sustancia corporal que se ve afectada puede ser un fluido tal como sangre o un producto sanguíneo, exudado seroso (un exudado asociado a la inflamación compuesto principalmente de plasma, que aparece típicamente como un fluido claro o de color ámbar), pus, jugo gástrico, orina, bilis, fluido cerebroespinal (CSF), jugo pancreático, y similar. La sustancia corporal puede ser viscosa, semejante a un lodo, o semisólida, pero generalmente mostrará una capacidad para fluir o moverse. Las sustancias de esta naturaleza incluyen los contenidos del tubo digestivo. La composición se puede eliminar después de la aplicación (*por ejemplo*, después de que se ha logrado la hemostasia, o se termina una operación en el intestino), o se puede dejar en el sitio. Por ejemplo, las composiciones se pueden aplicar para acelerar la hemostasia o inhibir el movimiento de los contenidos intestinales durante la cirugía, y parte o todo el armazón se puede dejar en el sitio cuando la operación está terminada. Esto proporciona una ventaja sustancial con respecto al uso de esponjas y otros materiales que se deben retirar antes del cierre. Las composiciones se pueden eliminar de muchas maneras (*por ejemplo*, frotando o mediante succión).

Las composiciones también se pueden aplicar para proteger un área subyacente (*por ejemplo*, un área de piel quemada o de otro modo lesionada, u otro tejido), y por lo tanto pueden ayudar a prevenir que los contaminantes (*por ejemplo*, sustancias extrañas) entren en contacto con el área (*es decir*, las composiciones se pueden usar como una barrera o protección). Un médico u otro personal de la salud puede examinar una herida a través del material, y un cirujano puede operar a través de él, mientras está en el sitio. Las sustancias contaminantes que han aterrizado sobre el material durante el procedimiento se podrían entonces eliminar en virtud de la eliminación del material.

Las composiciones se pueden administrar para estabilizar una herida antes del tratamiento definitivo (*por ejemplo*, mientras que la víctima está esperando el transporte a un hospital o durante el tránsito). Las composiciones son útiles de forma similar cuando se realizan operaciones en condiciones de esterilidad menor que óptima (*por ejemplo*, en hospitales de campaña o en áreas del mundo en las que el acceso a salas de operaciones estériles está limitado). Las composiciones y métodos tienen el potencial para reducir significativamente la probabilidad de contaminación en casos tales como estos.

El material de péptido autoensamblador también se puede aplicar localmente en combinación con anestésico en el área local en el que va a tener lugar un procedimiento, y se puede aplicar a una concentración mayor para reducir el movimiento de órganos durante la cirugía. Esto puede reducir los déficit cognitivos a pacientes ancianos al reducir la carga de anestesia general. Se puede pulverizar una capa fina sobre el tejido o piel en el que está operando el cirujano. Se puede aplicar separadamente o junta, administrando anestésico específico para órganos específicos. La piel tiene receptores diferentes de los intestinos, y es necesario un anestésico específico para cada uno de los órganos. Los intestinos necesitan detener el movimiento durante la cirugía, mientras que la sangre y la contracción de los vasos sanguíneos tienen que permanecer constantes.

Tratamiento y prevención de una hemorragia: Un individuo que tiene un mayor riesgo de sufrir hemorragia indeseable, que puede ser o no excesiva o potencialmente mortal de forma inmediata, se puede tratar con las composiciones descritas aquí. Estos individuos incluyen aquellos con trastornos de la coagulación de la sangre, tales como hemofilia, pacientes que están recibiendo terapia anticoagulante, pacientes que sufren hemorragias nasales recurrentes, e individuos que sufren cirugía, particularmente cirugía importante o procedimientos que implican acceder a una arteria. Sin limitación, la cirugía o procedimiento puede ser una operación en el sistema nervioso, ojo, oído, nariz, boca, faringe, sistema respiratorio, sistema cardiovascular, sistema digestivo, sistema urinario, sistema musculoesquelético, sistema integumentario (piel), o sistema reproductor. Como se señala, las composiciones también se pueden aplicar a tejidos exclusivos de aquellos que definen el sistema nervioso central (*es decir*, el cerebro y la médula espinal). Los ejemplos específicos de cirugías y procedimientos en los que se pueden usar las composiciones incluyen arteriografía, angiocardiografía, cateterización cardíaca, reparación de laceración obstétrica, eliminación de obstrucción de la arteria coronaria, inserción de endoprótesis, sección de cesárea, histerectomía, reducción de fractura, injerto de bypass de arteria coronaria, colecistectomía, trasplante de órganos, sustitución total de articulación (*por ejemplo*, rodilla, cadera, tobillo, hombro), apendicectomía, extirpación o destrucción de disco intervertebral, extirpación parcial del intestino grueso, mastectomía, o prostatectomía. El procedimiento quirúrgico puede implicar el corte transversal intencionado o no intencionado de un vaso sanguíneo, o puede provocar la liberación de una sustancia corporal distinta de la sangre.

Las víctimas de accidentes, las personas implicadas en un combate, y las mujeres que dan a luz también están en riesgo de experimentar una pérdida significativa de sangre. Las composiciones se pueden aplicar a un sitio de hemorragia obstétrica (*por ejemplo*, en el útero, vagina, o tejido vecino) a fin de acelerar la hemostasia. Por ejemplo, las composiciones se pueden aplicar a un rasgado placentario, o se pueden usar para empaquetar el útero para controlar la hemorragia. Al igual que con otras indicaciones, las composiciones aplicadas al aparato reproductor se pueden retirar o dejar en el sitio. La hemorragia espontánea, ruptura de aneurisma, varices esofágicas, úlceras

gástricas, úlceras de la porción superior del intestino (*por ejemplo*, úlceras duodenales) también son afecciones médicas en las que puede ocurrir una hemorragia considerable, y estos individuos también se pueden tratar como se describe aquí.

5 La fuente precisa de la hemorragia puede variar, y puede ser de cualquier vaso sanguíneo en el sistema arterial o venoso (*por ejemplo*, una arteria, arteriola, capilar o lecho capilar, venilla, o vena). El tamaño del vaso puede oscilar desde grande (*por ejemplo*, las composiciones pueden inhibir la hemorragia de la aorta, la arteria ilíaca o femoral, o una vena porta) a pequeño (*por ejemplo*, un capilar), y el vaso puede estar localizado en cualquier parte en el cuerpo (*por ejemplo*, en un órgano sólido tal como hígado, el estómago, intestino, piel, músculo, hueso, los pulmones, o el sistema reproductor).

10 El tiempo normalmente requerido para la coagulación de la sangre se puede prolongar cuando los niveles plasmáticos de factores de coagulación y/o de plaquetas son bajos, o en casos en los que un individuo ha recibido un anticoagulante (*por ejemplo* warfarina o heparina). La hemorragia persiste frecuentemente durante considerablemente más del tiempo de coagulación medio cuando hay un daño más que mínimo a la integridad del vaso sanguíneo. En base a los estudios, se espera que las composiciones provocarán hemostasia en un período de tiempo que es menor que, y en al menos algunos casos mucho menor que, el tiempo medio de coagulación de la sangre. Aunque las composiciones no están limitadas a aquellas que logran hemostasia en cualquier tiempo dado (y los usos tales como la protección de un área de la contaminación, o promover la sanación tisular, son independientes de esta función), las composiciones pueden conferir un beneficio a un sujeto que sangra en tan poco tiempo como 5 segundos tras la aplicación. Otras composiciones pueden ejercer un efecto en alrededor de 10, 15, o 20 segundos tras la aplicación. El período eficaz se puede caracterizar de una manera distinta del tiempo absoluto. Por ejemplo, las composiciones pueden reducir el tiempo requerido para lograr la hemostasia entre 25% y 50%; entre 50% y 75%; o entre 75% y 100% con respecto al tiempo requerido cuando se aplica disolución salina congelada. El tiempo requerido para lograr la hemostasia se puede reducir en aproximadamente 2, 3, 4 ó 5 veces con respecto al tiempo requerido cuando se aplica disolución salina congelada.

25 La concentración peptídica se puede seleccionar con referencia a variables tales como el calibre del vaso, el grado al que se ha lesionado, y la fuerza con la que sale la sangre (o saldría con la lesión). Serán deseables mayores concentraciones peptídicas para promover la hemostasia de un vaso principal (*por ejemplo*, la aorta, arterias braquicefálica, carótida, subclavia, celíaca, mesentérica superior, renal, ilíaca, femoral o poplítea). Las concentraciones útiles pueden oscilar entre aproximadamente 0,1-10% (*por ejemplo*, 1-10%; 0,5-5%; 1-4%; 0,1-2%; 0,1-3%; 0,1-4%; 0,1-5%; y 1-8% (*por ejemplo*, alrededor de 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, o 7%). Se puede usar cualquier subintervalo, o cualquier valor específico dentro de cualquiera de los intervalos mencionados anteriormente. También se puede usar cualquiera de las concentraciones mencionadas anteriormente para las otras indicaciones descritas aquí.

35 Como se señala, la hemorragia puede ser debida a cualquiera de un gran número de causas diferentes, y puede ser interna o externa. Las composiciones se pueden aplicar independientemente de la causa o de la naturaleza de la causa (*por ejemplo* ya sea causada por un proceso de enfermedad, o por trauma intencionado o accidental). Las composiciones se pueden usar para lograr hemostasia en un espacio confinado (*por ejemplo*, dentro de un órgano hueco) o en o cerca de la superficie del cuerpo. Por ejemplo, las composiciones se pueden aplicar a una parte corporal parcial o completamente dañada tal como una extremidad o dedo. En ese caso, las composiciones pueden servir múltiples funciones; no sólo pueden promover la hemostasia, sino también pueden proteger el tejido herido de los contaminantes, y promover la sanación del tejido. Más específicamente, las composiciones se pueden aplicar a una herida, se pueden dejar en el sitio durante un período de tiempo suficiente para lograr la hemostasia y para que se produzca la coagulación de la sangre, y después se pueden retirar. El material contaminante, tal como partículas y agentes infecciosos adheridos al gel peptídico, se eliminaría con ella. Entonces se puede aplicar un vendaje estéril. Por supuesto, las composiciones se pueden aplicar con el fin de limpiar una herida, prevenir la contaminación, o promover la curación tisular después de que se ha logrado la hemostasia, o en situaciones en las que no es necesaria la aceleración de la hemostasia.

50 Cuando se usan para tratar una hemorragia nasal, las composiciones se insertan en la fosa nasal apropiada y se pueden dejar en el lugar hasta que la hemorragia ha disminuido. Las composiciones se pueden eliminar fácilmente por succión (*por ejemplo*, usando un gotero para los ojos o una jeringuilla), o se pueden eliminar por otros medios físicos, incluyendo simplemente soplando la nariz. Si se desea, las composiciones se pueden administrar a la nariz por medio de inclusión en una o más superficies de un tapón para la hemorragia nasal.

55 Las composiciones también se pueden dejar en el sitio en una herida, y se puede aplicar un vendaje sobre la composición. Puesto que la propia composición se elimina fácilmente, su presencia bajo el vendaje puede ayudar a prevenir que el vendaje se pegue al tejido dañado. Si se desea, se puede usar una venda que tiene una porción transparente de manera que se pueda visualizar el sitio lesionado a través de la porción transparente de la venda y la estructura peptídica debajo. Esto permitiría a un médico monitorizar el progreso de la sanación sin retirar el vendaje. Las vendas modificadas se describen adicionalmente más abajo, y están dentro del alcance de la presente invención.

Muchos procedimientos médicos implican punción vascular, que puede estar seguida de una hemorragia significativa. Se puede aplicar una composición de péptido autoensamblador a la pared de un vaso punzado, *por ejemplo* durante la retirada de un instrumento usado para punzar el vaso. Un tapón vascular formado de péptidos autoensambladores proporciona una alternativa a los tapones vasculares existentes y a los dispositivos tales como los descritos en las patentes U.S. n^{os} 5.192.302; 5.222.974; 5.645.565; y 6.663.655. El tapón vascular se puede formar *in situ* (*por ejemplo*, en un sitio de punción vascular), o se puede preformar y aplicar en el sitio.

Más generalmente, las composiciones que comprenden materiales nanoestructurados o sus precursores (*por ejemplo*, péptidos autoensambladores) se pueden usar para sellar cualquier paso a través del tejido. Por lo tanto, los presentes métodos incluyen métodos de sellado de un paso a través de tejido aplicando una composición que comprende un material de estructura de nanoescala (*por ejemplo*, péptidos anfifílicos autoensambladores) a uno o ambos extremos del paso, o a su interior. El tejido puede ser, *por ejemplo*, la pared de un vaso sanguíneo, la pared de un órgano, tejido subcutáneo, o tejido adiposo. El sellado del paso puede dar como resultado la hemostasia. El paso también puede ser una fistula (*es decir*, una conexión anormal entre dos órganos o estructuras corporales, o entre un órgano o estructura y el mundo exterior). Si se desea, un cirujano puede aplicar las composiciones al interior de una estructura tubular, tal como al intestino o a un vaso sanguíneo, extirpar y ligar el intestino o vaso sanguíneo en el gel, y evacuar el gel del interior de la estructura para restaurar la continuidad de la estructura y permitir la reperfusión del área con sangre u otras sustancias corporales.

Para aplicaciones quirúrgicas, la herida o cualquier parte del campo quirúrgico se puede empaquetar con una composición que comprende péptidos autoensambladores. Este enfoque se puede usar en lugar de un empaquetamiento de herida como se realiza convencionalmente durante la cirugía. Ya que las composiciones contienen material biocompatible y biodegradable, se pueden dejar en el lugar, evitando de ese modo la necesidad de eliminación al final del procedimiento, y evitando la necesidad de una operación subsiguiente para este fin. Los materiales biodegradables se pueden romper física y/o químicamente en células o en el cuerpo de un sujeto (*por ejemplo*, mediante hidrólisis en condiciones fisiológicas o mediante procesos biológicos naturales tales como la acción de enzimas presentes en células o en el cuerpo) para formar especies químicas más pequeñas que se pueden metabolizar y, opcionalmente, reutilizar, y/o excretar o desechar de otro modo. Preferiblemente, los compuestos biodegradables son biocompatibles.

La hemorragia gastrointestinal, que puede producirse como consecuencia de úlceras o angiodisplasia, es una afección relativamente común y seria que puede ser mortal si se deja sin tratar. Las úlceras esofágicas sangrantes y las úlceras gástricas o duodenales sangrantes pueden ser particularmente graves. Se ha desarrollado un número de enfoques terapéuticos endoscópicos para lograr la hemostasia, tal como la inyección de agentes esclerosantes, la fijación de dispositivos hemostáticos mecánicos, y técnicas de electrocauterización por contacto. Las composiciones se pueden administrar en, o en la vecindad de una úlcera, o un sitio de hemorragia en el esófago, estómago, intestino delgado, o intestino grueso. También se puede tratar de esta manera la hemorragia en la porción distal del intestino grueso, recto, o ano (*por ejemplo*, hemorroides).

La ruptura de un aneurisma puede representar un suceso catastrófico con consecuencias rápidamente mortales. Los aneurismas aórticos rotos pueden rápidamente dar como resultado el desangrado a pesar de la atención médica rápida. Los aneurismas intracraneales rotos tienen frecuentemente consecuencias devastadoras. Las composiciones y métodos de la invención se pueden usar para tratar hemorragia de un aneurisma roto de una manera esencialmente similar a la forma en la que se usan para tratar hemorragia debida a otras causas (*por ejemplo*, mediante aplicación de precursores autoensambladores o una estructura preformada al sitio de la hemorragia). Dadas las consecuencias a menudo graves de la ruptura del aneurisma, a menudo se intenta la reparación quirúrgica. Las composiciones se pueden aplicar en el contexto de cualquier reparación pretendida (*por ejemplo*, durante cirugía abierta o reparación endovascular (*por ejemplo*, con colocación de un injerto y/o endoprótesis)). Más específicamente, los presentes métodos incluyen tratar un aneurisma introduciendo una composición que comprende un material de estructura de nanoescala o su precursor (*por ejemplo*, una composición que comprende péptidos autoensambladores en el aneurisma (*por ejemplo*, en el saco aneurismático)). Una vez que la hemorragia está bajo mejor control, el aneurisma se puede reparar entonces usando cualquier técnica adecuada. La presencia de la estructura peptídica en el saco aneurismático reduce la oportunidad de fuga o ruptura antes de o durante estos otros procedimientos. El armazón se puede dejar en el sitio.

Inhibición del movimiento o fuga de fluido cerebroespinal (CSF): La duramadre es la membrana fibrosa más externa, tenaz, que cubre el cerebro y la médula espinal, y forra la superficie interna del cráneo. La fuga de CSF es una complicación significativa tras lesión, cirugía, u otros procedimientos en los que se penetra la duramadre, incluyendo la penetración inadvertida durante el transcurso de la administración de un anestésico al espacio epidural. Tal fuga puede conducir a secuelas serias, tales como cefaleas graves, infección, y meningitis. La composición puede inhibir el movimiento o fuga de CSF en un sujeto que lo necesite tras la aplicación en, o en la vecindad de, un sitio de movimiento o fuga indeseada de CSF. Las composiciones se pueden aplicar sobre suturas después de la cirugía de la duramadre, para ayudar a evitar que el CSF salga del sitio de la incisión.

Las composiciones también se pueden usar para inhibir el movimiento o fuga de fluido desde el tambor auditivo.

Inhibición de la fuga de contenidos del tubo digestivo: Las composiciones pueden inhibir el movimiento de contenidos gastrointestinales. Por ejemplo, las estructuras pueden prevenir la fuga de contenidos gastrointestinales tras la perforación gástrica o intestinal o durante cirugía (véase Ejemplo 4). Las estructuras se pueden usar para aislar tales sustancias corporales y prevenir su diseminación en la cavidad peritoneal, minimizando de ese modo la contaminación y el riesgo de peritonitis química y/o infección subsiguiente. Los contenidos gástricos, que contienen secreciones digestivas de las glándulas del estómago que consisten principalmente en ácido clorhídrico, mucina, y enzimas tales como pepsina y lipasa, pueden provocar lesión y/o infección si son liberados en la cavidad peritoneal. La liberación de contenidos intestinales en la cavidad peritoneal representa un suceso frecuente durante cirugía en el intestino, y también se puede producir en casos de perforación intestinal o un apéndice roto. La composición se puede usar para inhibir la fuga de contenidos gastrointestinales en la cavidad peritoneal. El sitio de movimiento puede ser un sitio de daño gástrico o intestinal provocado por un proceso de enfermedad o una incisión quirúrgica. Las composiciones se pueden aplicar al exterior de cualquier órgano en el sistema digestivo (*por ejemplo*, el estómago, o intestino grueso o delgado), o se pueden inyectar o introducir de otro modo en su interior. Las composiciones se pueden administrar durante la resección de un segmento del intestino. Por ejemplo, se puede rellenar un segmento del intestino que se extiende desde un primer punto hasta un segundo punto con una presente composición, y se puede resecar una porción del intestino que se encuentra entre los puntos primero y segundo.

En un método relacionado, se pueden usar las composiciones para eliminar los contenidos intestinales que se han liberado en la cavidad peritoneal. El método incluye aplicar una composición líquida a los contenidos intestinales liberados, permitiendo que la composición líquida sufra una transición de fase, y después eliminando la composición semejante a gel o semisólida. Estas etapas se pueden repetir una vez o más hasta que el cirujano está satisfecho con la cantidad de contenidos intestinales que se ha eliminado de la cavidad peritoneal.

De forma similar, se puede inhibir el movimiento de los contenidos de otros órganos internos (*por ejemplo*, órganos en los sistemas biliar o urinario). Por ejemplo, se puede inhibir el movimiento de bilis, jugo pancreático (*es decir*, secreciones de la porción exocrina del páncreas que contiene enzimas digestivas), u orina, y/o se puede descontaminar o limpiar un área en la que se ha liberado bilis, jugo pancreático, u orina, mediante aplicación y eliminación subsiguiente de las composiciones al sitio. Los métodos tienen así una amplia aplicación para cirugías para reparar o tratar de otro modo defectos del sistema intestinal, biliar, y/o urinario. Como se señala aquí, las composiciones se pueden aplicar a la piel o a una incisión en la piel o al tejido herido subyacente para reducir la probabilidad de contaminación de un microbio tal como una bacteria. Los métodos se pueden usar para descontaminar el sitio al que se han aplicado, eliminando las composiciones en un momento subsiguiente (*por ejemplo*, al terminar el procedimiento quirúrgico).

Curación de heridas: Los estudios también indican que las composiciones tienen la capacidad para potenciar la curación, particularmente de una capa epitelial o músculo, y por lo tanto se pueden administrar para tratar un sitio de daño tisular. Por ejemplo, se puede aplicar una composición que incluye péptidos autoensambladores al sitio de daño tisular. Las composiciones parecen tanto incrementar la velocidad de reparación tisular como inhibir la formación de tejido cicatrizal. Las composiciones se pueden usar para el cuidado de heridas agudo o crónico. Por ejemplo, se pueden aplicar a la piel herida de cualquier manera (*por ejemplo*, lacerada o quemada), y a lesiones tales como úlceras diabéticas y llagas de presión.

Métodos de suministro, dispositivos, y kits: Para introducir las composiciones en un área diana del cuerpo, se puede usar una variedad de dispositivos. Los dispositivos pueden ser simples, tales como una jeringuilla, y tales dispositivos se pueden proporcionar junto con las composiciones en kits. La composición se puede suministrar localmente a o cerca de área diana en el cuerpo mediante inyección (*por ejemplo*, usando una aguja y jeringuilla), o con un catéter, cánula, o suministrando (*por ejemplo*, vertiendo) a partir de cualquier vasija de tamaño adecuado. Las composiciones se pueden suministrar con la ayuda de una guía de formación de imágenes (*por ejemplo*, guía estereotáctica), si es necesario. Como alternativa, se puede humedecer un material con la composición y después se puede usar para aplicar una composición a un área de tejido.

Para almacenamiento y transporte, los péptidos autoensambladores se pueden disolver en un disolvente adecuado (*por ejemplo*, un medio acuoso tal como agua estéril, y se pueden almacenar durante largos períodos de tiempo antes del uso). Las disoluciones que contienen los péptidos se han almacenado durante un tiempo de hasta dos años sin pérdida sustancial de actividad. Si se produce el autoensamblaje parcial después de un período prolongado de tiempo, se puede usar la agitación física (*por ejemplo*, sonicación) para restaurar el material a un estado más líquido antes de la administración. Como alternativa, el material se puede aplicar como un gel. Si se desea, se puede añadir una pequeña cantidad de iones (*por ejemplo*, cationes monovalentes) a una disolución antes de la aplicación. Esto puede acelerar el proceso de formación de gel. Como alternativa, se pueden aplicar cationes monovalentes después de que la disolución se haya administrado.

Se proporcionan kits que contienen jeringuillas de diversas capacidades o vasijas con lados deformables (*por ejemplo*, vasijas plásticas o vasijas con lados de plástico) se pueden exprimir para forzar a salir una composición líquida de un orificio. La jeringuilla o vasija contiene múltiples compartimentos, conteniendo uno iones monovalentes, y el otro los péptidos autoensambladores, que se mezclan en el momento de la administración, a través de una aguja común. Se puede usar un endoscopio para suministrar las composiciones para el tratamiento de un órgano hueco (*por ejemplo*, el esófago, estómago, intestino, etc.) o cavidad corporal (*por ejemplo*, durante cirugía

mínimamente invasiva). La cirugía mínimamente invasiva se refiere a un enfoque a la cirugía mediante el cual se realizan operaciones con instrumentos especializados diseñados para ser insertados a través de pequeñas incisiones o aberturas corporales naturales, a menudo llevadas a cabo con visualización endoscópica. Los ejemplos incluyen cirugía laparoscópica, cirugía artroscópica, y cirugía endovascular. Un endoscopio es típicamente un dispositivo largo, flexible semejante a un tubo. Además de permitir la visualización de estructuras internas, muchos endoscopios tienen capacidades adicionales de diagnóstico (*por ejemplo* biopsia) y terapéuticas (*por ejemplo* suministro de los agentes terapéuticos) a través de canales especiales. Los colonoscopios, sigmoidoscopios, broncoscopios, cistoscopios, y laparoscopios son variantes de un endoscopio que tienen rasgos que los hacen particularmente muy adecuados para visualizar ciertos órganos, estructuras, o cavidades. Para suministrar las composiciones, se puede usar cualquiera de estos dispositivos. Los kits se pueden envasar incluyendo un endoscopio y una vasija que contiene una disolución que comprende péptidos autoensambladores. Los endoscopios adecuados son conocidos en la técnica, y están ampliamente disponibles. Los endoscopios actualmente en uso para suministrar agentes esclerosantes a sitios de hemorragia esofágica.

Los kits pueden incluir péptidos autoensambladores y uno o más de: una jeringuilla, una aguja, hilo, gasa, una venda, un desinfectante, un antibiótico, un anestésico local, un agente analgésico, hilo quirúrgico, tijeras, un escalpelo, un fluido estéril, y una vasija estéril. Los péptidos pueden estar en disolución o secos (*por ejemplo*, como un polvo seco). Los componentes del kit se pueden envasar individualmente, y son estériles. Los kits se proporcionan generalmente en un recipiente, *por ejemplo* un recipiente de plástico, de cartón, o de metal, adecuado para escala comercial. El kit puede ser un "kit de primeros auxilios", en cuyo caso tendrá típicamente un símbolo tal como una cruz roja en el exterior. Cualquiera de los kits puede incluir instrucciones para uso.

Ejemplos

Ejemplo 1: El material de péptido autoensamblador acelera la hemostasia en el cerebro

Se llevó a cabo el corte transversal completo de una rama del seno sagital superior en los cerebros de ratas y hámsters tras eliminar una porción del cráneo que descansa sobre el tejido cortado transversalmente. Los animales se anestesiaron con una inyección i.p. de quetamina (80 mg/kg) y xilazina (8 mg/kg). Todos los procedimientos quirúrgicos se llevaron a cabo bajo un microscopio de operación. Veintidós animales, incluyendo 10 hámsters adultos y 12 ratas Spraque-Dawley hembras adultas jóvenes (200-250 g), se trataron con disolución salina congelada o con 20 μ l de una disolución peptídica al 1% en el sitio de la transección de la rama del seno. El material se preparó disolviendo el péptido RADA16-I (n-RADARADARADA-c; SEC ID NO: 1) en agua estéril, y la disolución que contiene el péptido se aplicó al tejido lesionado con una aguja de calibre 31 unida a una jeringuilla de 2 cc.

El experimento se grabó por video con un sello de tiempo, y se volvió a visualizar fotograma a fotograma para evaluar la duración de tiempo requerida para que la disolución peptídica forme un gel, que impidió eficazmente la hemorragia. La hemostasia se evaluó visualmente, y la "hemostasia completa" se definió como la falta total de movimiento de sangre desde el sitio de la herida. En todos los casos, se logró la hemostasia completa en 10 segundos de la aplicación de la disolución peptídica.

Se tomó una serie de fotos de una rata adulta en la que una porción del cráneo de enzima se retiró y una de las venas de seno sagital superior se cortó transversalmente y se trató con una disolución que contiene péptido. La foto inicial muestra el cerebro expuesto y las venas del seno sagital superior; la siguiente foto muestra el corte de la vena; la siguiente foto muestra la hemorragia de la vena rota; y la foto final muestra el mismo área cinco segundos después de que se aplicó la disolución peptídica. Se logró la hemostasia completa.

La Figura 2 es una gráfica que compara el tiempo requerido para lograr la hemostasia completa tras el tratamiento con disolución peptídica (barra de la izquierda) frente a control salino (barra de la derecha) en la situación descrita inmediatamente antes y en el Ejemplo 1. Las duraciones se midieron desde el comienzo de la aplicación de la disolución peptídica hasta la terminación de la hemostasia tras el corte transversal de las venas que conduce al seno en los cerebros de ratas adultas. Cada barra muestra el tiempo medio en segundos para un grupo de seis casos tratados con péptido y seis estudios de control. La hemostasia completa se logró en una media de 8,3 segundos. En los controles salinos, nunca se logró el cese de la hemorragia. El símbolo * indica que el experimento con el control salino se terminó en el punto de tiempo indicado a fin de evitar que los animales sangren hasta morir.

Se han obtenido resultados similares tras el corte transversal completo del seno sagital superior. En este último experimento se usó una mayor concentración de péptido (*por ejemplo*, ~3%-4%), a fin de lograr la hemostasia. Los tres casos de control salino continuaron sangrando después de 20 segundos. En los animales de control, la disolución salina congelada se eliminó, y se aplicó la disolución peptídica, dando como resultado hemostasia completa casi inmediatamente.

Un total de 22 ratas y 64 hámsters se sometieron a los experimentos en los que disoluciones que contienen péptido lograron eficazmente la hemostasia en 10 segundos tras la aplicación a una hemorragia intracraneal en el sitio.

Ejemplo 2: El material de péptido autoensamblador acelera la hemostasia tras el corte transversal de la arteria femoral

El nervio ciático y la arteria femoral adyacente se expusieron en ratas adultas, y se cortó transversalmente la arteria femoral. Doce ratas se trataron mediante aplicación de 20 μ l de una disolución al 1% de péptido RADA16-I al sitio de corte transversal usando una pipeta de vidrio unida a un cuerpo de jeringuilla, mientras que los controles se trataron aplicando disolución salina fría al sitio del corte transversal. En todos los casos tratados, la hemostasia se logró en menos de 10 segundos. Los casos del control salino continuaron sangrando hasta que el experimento se terminó en 110 segundos. En estos animales de control, la sustitución subsiguiente de la disolución salina fría por la disolución peptídica dio como resultado un logro casi inmediato de hemostasia completa.

Se tomó una serie de fotos en una rata adulta en la que se cortó transversalmente la arteria femoral. En la foto tomada en primer lugar, el nervio ciático y la arteria femoral están expuestos. La siguiente foto muestra el corte de la arteria, y la siguiente foto muestra la hemorragia. Después de alrededor de cinco segundos, se observó hemostasia completa en el área de un gel claro formado por los péptidos ensamblados en presencia de sangre y plasma. Si se desea, el material ensamblado se puede eliminar fácilmente por succión del sitio. La hemostasia completa se mantuvo durante todo el ensayo (1 hora).

La Figura 3 es una gráfica que ilustra las duraciones de las hemorragias en controles tratados con disolución salina (barra de la izquierda) y en casos tratados con péptido (derecha), medidas desde el comienzo de la aplicación de la disolución peptídica hasta la terminación de la hemostasia tras el corte transversal de la arteria femoral. La barra que resume un grupo de tratamiento muestra una media de tiempo en segundos de seis casos de hámsters en los que se logró la hemostasia completa en menos de 10 segundos. En los controles con disolución salina, la hemostasia nunca se alcanzó. El símbolo * indica que el experimento se terminó, de manera que los animales no sangrasen hasta morir.

Experimentos de trauma muscular mostraron la hemostasia inmediata después de que se hicieron incisiones de 1-2 cm en el músculo de la espalda de una rata. Se expusieron los músculos espinotrapecio en la espalda de las ratas, y se realizó un corte profundo en el músculo, después de lo cual se aplicó en el corte una disolución peptídica al 1% (RADA16-I). En 10 segundos, toda la hemorragia se había detenido. Con la aplicación de disolución salina congelada sola, los animales del control continuaron sangrando después de 20 segundos.

Este procedimiento se duplicó en el músculo de la extremidad posterior (porteocaudalis y musculus tibialis cranialis), y se obtuvieron resultados similares. Se aplicó entre 1% y 100% de péptido (RADA16-I) a las heridas de las extremidades, y en todos los casos se logró hemostasia. Sin embargo, cuando una arteria o vena se cortó transversalmente, se necesitó 2% o más de material para provocar la hemostasia. Con la aplicación de disolución salina congelada sola, los animales del control continuaron sangrando después de 20 segundos.

Ejemplo 3: El material de péptido autoensamblador acelera la hemostasia en el hígado

Para demostrar adicionalmente la capacidad de las estructuras que contienen péptidos para detener la hemorragia de un vaso que tiene una presión relativamente baja, se abrió la cavidad intraperitoneal de una rata adulta, se expuso el hígado, y el *lobus sinister lateralis* recibió un corte desde delante hacia atrás que corta transversalmente de forma completa una porción del hígado. Resultó una hemorragia profusa. Se aplicó una disolución peptídica al 1% (RADA16-I) al corte y en su vecindad usando una aguja de calibre 27 y una jeringuilla de 4 cc. Toda la hemorragia se detuvo en 10 segundos. Se obtuvo una serie de fotos. La primera muestra la exposición del hígado; en la segunda, el hígado está separado, y es evidente la hemorragia profusa; y en la tercera, las dos porciones del hígado se dejan volver juntas, y la hemorragia continúa. Después de tratar el sitio con disolución peptídica al 1% (aplicada tópicamente y en el corte), toda la hemorragia se detuvo en 10 segundos. Se observó un área clara entre las dos mitades del lobus sinister lateralis. Este procedimiento se repitió varias veces con el mismo resultado.

Un experimento similar demostró la capacidad de las estructuras peptídicas para detener la hemorragia de un vaso en el hígado que tiene una mayor presión. Una serie de fotos ilustra el experimento. La primera representa la cavidad intraperitoneal abierta y el hígado expuesto; en la segunda, el *lobus sinister lateralis* recibió un corte transversal que secciona completamente una porción del hígado y una rama principal de la vena porta; y la tercera muestra hemorragia profusa desde el sitio de la lesión. El corte se trató con disolución peptídica al 4%, aplicada tópicamente y en el corte. Toda la hemorragia se detuvo en 10 segundos. La parte inferior del *lobus sinister lateralis* se empujó hacia abajo para mostrar que la estructura peptídica está en el corte. El sitio no sangró incluso cuando se sometió a este estrés físico. Diez minutos más tarde, todavía no había hemorragia. De este modo, la aplicación de una disolución peptídica al 4% provoca una hemostasia completa en un entorno de hemorragia de presión elevada en menos de 10 segundos.

Se ensayó el tratamiento con una disolución peptídica al 2% o 3% en el mismo tipo de experimento, y también se logró hemostasia completa. El tratamiento con una disolución al 1% dio como resultado un cese parcial de la hemorragia. Además, 30 segundos después del tratamiento, la estructura peptídica en exceso se eliminó por frotamiento desde el sitio de la lesión, y la hemostasia se mantuvo. Este procedimiento se repitió varias veces con el mismo resultado.

En otros experimentos, se retiró $\frac{1}{4}$ del lóbulo en el cuadrante derecho inferior del *lobus sinister lateralis*, y el margen se trató con una aplicación tópica de péptido al 2% (RADA16-I) al sitio de la lesión. La hemorragia se detuvo

en menos de 10 segundos. Un minuto más tarde, el péptido se eliminó, y se logró la hemostasia completa en el margen del hígado.

Ejemplo 4: Material de péptido autoensamblador

5 Se perforó el intestino de una rata adulta con un pequeño corte a nivel del duodeno, que dio como resultado la fuga de fluido gástrico a la cavidad intraperitoneal. Cuando el sitio se trató con disolución peptídica al 2% (RADA16-I), toda la fuga de fluidos gástricos desde el intestino se detuvo. Se inyectó un volumen adicional de disolución peptídica al 2% en el duodeno, al nivel de la lesión. Esto evitó toda fuga desde el intestino durante 1 hora, la duración del procedimiento. En el corte del control a nivel del duodeno, la pared del intestino se invirtió y los fluidos gástricos continuaron saliendo del sitio de la lesión cuando se dejaron sin tratar. Cuando el sitio se trató con disolución peptídica 15 minutos después de la lesión, el tratamiento peptídico también detuvo toda fuga desde este sitio de lesión. Además, el tratamiento detuvo la progresión de la inversión de la pared intestinal.

Ejemplo 5: El material de péptido autoensamblador acelera la curación de heridas de la piel

15 Para demostrar la capacidad de los péptidos autoensambladores para potenciar la curación de heridas, los animales se sometieron a biopsias por perforación de la piel y tejido subcutáneo. Las regiones de las que se tomaron las biopsias se trataron mediante una aplicación única de disolución de péptido autoensamblador (RADA16-I), o se dejaron sin tratar. Las heridas no se vendaron. Una serie de fotos de un ensayo de curación de biopsia por perforación de 4 mm, en el que a los animales lesionados se les trató con el péptido autoensamblador y se compararon con casos parejos sin tratamiento, ilustra los resultados. Las heridas se fotografiaron en el día 0, día 1, día 4, y día 7. Las heridas tratadas sanaron mucho más rápidamente como se evidencia por la contracción del sitio de la herida en las tres perforaciones tan pronto como el día 1. El tratamiento con el péptido parece acelerar la curación tanto como 5 días en algunos casos. En todos los casos, se produjo una contracción del sitio de la herida de forma más rápida en los casos tratados.

Ejemplo 6: Composiciones que contienen lidocaína

25 Se mezcló RADA16 (módulo I) con lidocaína (5%), y la mezcla se aplicó a la piel de ratas adultas antes de aplicar una ligera punción con un alfiler. Cuando se mezcló con un péptido autoensamblador, la respuesta a la ligera punción con alfiler mutó cuatro veces más que la respuesta que se mutó usando lidocaína sola. Además, se aplicaron disoluciones de péptidos autoensambladores y lidocaína a los intestinos de dos ratas mientras se realiza cirugía intestinal. La disolución redujo el peristaltismo durante toda la cirugía, sin efectos secundarios aparentes para los animales.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende péptidos autoensambladores que tienen una longitud en el intervalo de 8 a 200 restos de aminoácidos para uso en la prevención o minimización del movimiento de fluido corporal o sustancia en o fuera de una herida o sitio de lesión o cirugía, o para prevenir la contaminación de una herida o sitio de lesión o cirugía cuando se administra a un sitio que lo necesite.
2. La composición para uso según la reivindicación 1, en la que el fluido corporal o sustancia es sangre, exudado seroso, pus, jugo gástrico, orina, bilis, jugo pancreático, fluido cerebroespinal o fluido intersticial.
3. La composición para uso según la reivindicación 1 ó 2, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable para administración sobre o en el cuerpo, y/o un agente no fibroso.
4. La composición para uso según la reivindicación 1 ó 2, en la que la composición comprende un polvo seco, una oblea, un disco, un comprimido, una cápsula, un líquido, un gel, una crema, una espuma, un ungüento, una emulsión, un revestimiento sobre una endoprótesis, catéter u otro implante médico, los péptidos incorporados en una micropartícula, una matriz polimérica, un hidrogel, un tejido, unas vendas, una sutura, o una esponja.
5. La composición para uso según la reivindicación 3, en la que la composición que comprende los péptidos autoensambladores se proporciona en un primer medio de almacenamiento o administración, y el vehículo farmacéuticamente aceptable se proporciona en un segundo medio de almacenamiento o administración.
6. La composición para uso según la reivindicación 1 ó 2, en la que los péptidos autoensambladores comprenden una secuencia de restos de aminoácidos que se ajusta a una o más de las Fórmulas I-IV:
- $$\begin{aligned} & ((Xaa^{neu}-Xaa^+)_x(Xaa^{neu}-Xaa^-)_y)_n & \text{(I)} \\ & ((Xaa^{neu}-Xaa^-)_x(Xaa^{neu}-Xaa^+)_y)_n & \text{(II)} \\ & ((Xaa^+-Xaa^{neu})_x(Xaa^-Xaa^{neu})_y)_n & \text{(III)} \\ & ((Xaa^-Xaa^{neu})_x(Xaa+Xaa^{neu})_y)_n & \text{(IV)} \end{aligned}$$
- en las que: Xaa^{neu} representa un resto de aminoácido que tiene una carga neutra; Xaa^+ representa un resto de aminoácido que tiene una carga positiva; Xaa^- representa un resto de aminoácido que tiene una carga negativa; x e y son números enteros que tienen un valor de 1, 2 ó 4, independientemente; y n es un número entero que tiene un valor de 1-5.
7. La composición para uso según la reivindicación 6, en la que los péptidos autoensambladores comprenden una secuencia de restos de aminoácidos que se ajusta a la Fórmula III o Fórmula IV.
8. La composición para uso según la reivindicación 6, en la que Xaa^{neu} representa alanina; Xaa^+ representa arginina o lisina; y Xaa^- representa ácido aspártico o ácido glutámico.
9. La composición para uso según la reivindicación 6, en la que la composición comprende péptidos autoensambladores que comprenden la secuencia de aminoácidos RADARADARADA [SEC ID NO: 31].
10. La composición para uso según la reivindicación 6, en la que la composición comprende péptidos autoensambladores que comprenden la secuencia de aminoácidos RADARADARADARADA [SEC ID NO:1].
11. La composición para uso según la reivindicación 6, en la que los restos de aminoácidos son restos de aminoácidos de origen natural.
12. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 4, en la que la concentración de péptidos autoensambladores está entre 0,1% (1 mg/ml) y 99% (99 mg/ml), inclusive.
13. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 11 ensamblada en un kit con instrucciones para uso y, opcionalmente, medios para administración.
14. La composición para uso según la reivindicación 1 ó 2 en un recipiente o vasija que comprende un primer compartimento que contiene los péptidos autoensambladores y, opcionalmente, un segundo compartimento que contiene un vehículo o agente no fibroso con el que se pueden mezclar los péptidos autoensambladores antes de la administración a un paciente.
15. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además un vasoconstrictor, un agente colorante o un agente anestésico y/o una célula biológica, un agente antimicrobiano, colágeno, un agente antiinflamatorio, un factor de crecimiento, o un nutriente.

16. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14 para administración en forma de un polvo, un comprimido, un disco, una oblea, una pulverización, una pintura, un revestimiento, una inyección, un hidrogel, un gel, una espuma, una suspensión, suturas, una cinta, un adhesivo, una venda, una gasa, una esponja, un vendaje, una gasa estéril quirúrgica o un enema.
- 5 17. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14 para administración como un revestimiento sobre un dispositivo médico.
18. La composición para uso según la reivindicación 16, en la que el dispositivo médico es una endoprótesis, catéter o tapón para hemorragia nasal.
- 10 19. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, que se va a administrar a un vaso sanguíneo, tejido, cavidad oral o áreas en la cavidad oral, área urogenital, pulmón, duramadre, intestinos, estómago, sistema biliar, sistema urinario, esófago, cerebro, médula espinal, tubo digestivo, hígado, músculo, arteria, vena, sistema nervioso, ojo, oído, nariz, boca, faringe, sistema respiratorio, sistema cardiovascular, sistema digestivo, sistema reproductivo, sistema musculoesquelético, integumento o sitio de anastomosis.
- 15 20. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, que se va a administrar durante la resección de un tumor.
21. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, que se va a administrar durante reparación de una córnea.
22. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, que se va a administrar para inhibir hemorragia.
- 20 23. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, que se va a administrar a un aneurisma, una úlcera o una quemadura.
24. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, que proporciona un entorno ópticamente transparente para un campo quirúrgico.
25. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, para uso en cirugía invasiva mínima.
- 25 26. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, para administración usando un endoscopio, laparoscopio o catéter.
27. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, que se va a administrar a una localización de incisión quirúrgica a través de la cual se hace pasar un endoscopio o un laparoscopio antes de y/o después de la incisión.
- 30 28. La composición para uso según las reivindicaciones 1 a 3, 6 a 11 ó 14, que se va a administrar en combinación con una disolución que, cuando se combina con la composición, disuelve o hidrata la composición para formar un material capaz de inhibir el movimiento de un fluido corporal o sustancia, y/o contaminante.
- 35 29. Uso de péptidos autoensambladores que tienen una longitud en el intervalo de 8 a 200 restos de aminoácidos en la preparación de un medicamento para uso en la prevención o minimización del movimiento de fluido corporal o sustancia fuera de una herida o sitio de lesión o cirugía, o para prevenir la contaminación de una herida o sitio de lesión o cirugía cuando se administran a un sitio que lo necesite.
- 40 30. Uso de una composición que comprende péptidos autoensambladores que tienen una longitud en el intervalo de 8 a 200 restos de aminoácidos en la preparación de un medicamento para uso en la prevención o minimización del movimiento de fluido corporal o sustancia fuera de una herida o sitio de lesión o cirugía, o para prevenir la contaminación de una herida o sitio de lesión o cirugía cuando se administra a un sitio que lo necesite.
- 45 31. Uso de una composición que comprende péptidos autoensambladores que tienen una longitud en el intervalo de 8 a 200 restos de aminoácidos en la preparación de un medicamento para uso en la prevención o minimización del movimiento de fluido corporal o sustancia fuera de una herida o sitio de lesión o cirugía, o para prevenir la contaminación de una herida o sitio de lesión o cirugía cuando se administra a un sitio que lo necesite, composición la cual se va a administrar en combinación con una disolución que, cuando se combina con la composición, disuelve o hidrata la composición para formar un material capaz de inhibir el movimiento de un fluido corporal o sustancia, y/o contaminante.
- 50 32. Uso de una composición que comprende péptidos autoensambladores que tienen una longitud en el intervalo de 8 a 200 restos de aminoácidos en la preparación de un medicamento para uso en la prevención o minimización del movimiento de fluido corporal o sustancia fuera de un sitio de cirugía mínimamente invasiva, o para prevenir la contaminación de un sitio cirugía mínimamente invasiva cuando se administra a dicho sitio.

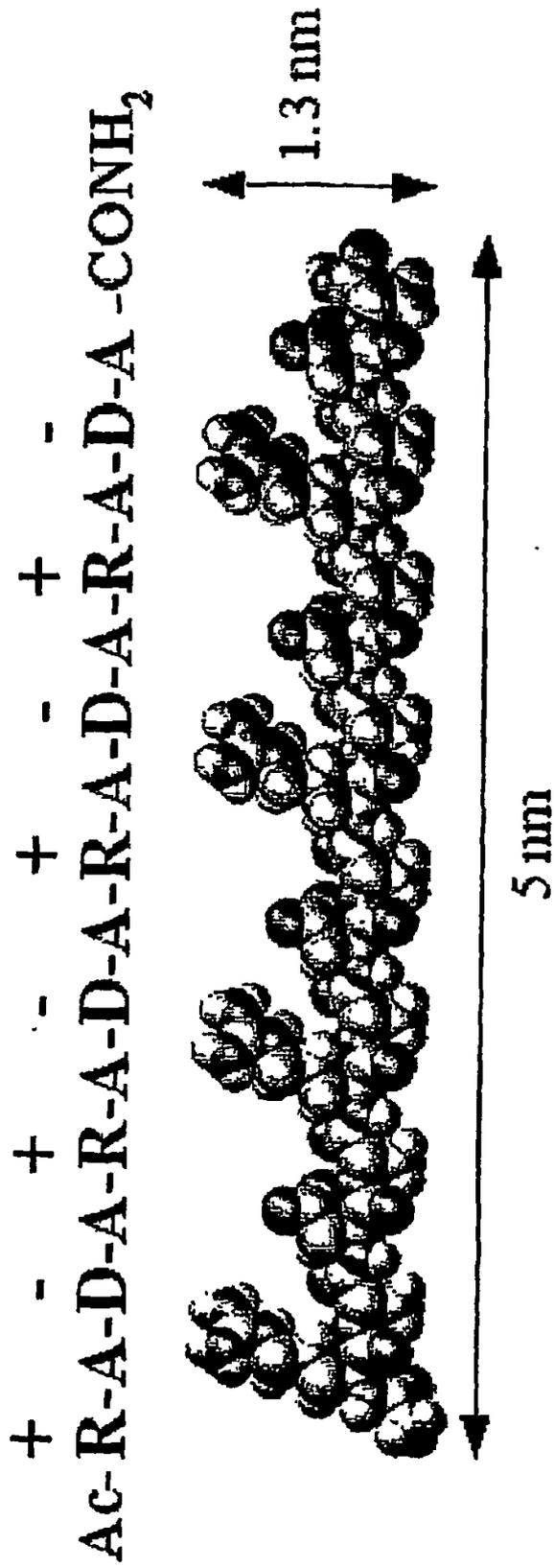


FIG. 1

