

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 574 056**

51 Int. Cl.:

C07K 7/06 (2006.01)
A61K 38/07 (2006.01)
C07K 5/083 (2006.01)
A61K 8/64 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)
C07K 5/103 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)
A61P 41/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2010 E 10849113 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.03.2016 EP 2552938**

54 Título: **Péptido/peptoide anfifílico lineal e hidrogel que comprende el mismo**

30 Prioridad:

31.03.2010 US 319838 P

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

14.06.2016

73 Titular/es:

**AGENCY FOR SCIENCE, TECHNOLOGY AND
RESEARCH (100.0%)
1 Fusionopolis Way 20-10 Connexis
Singapore 138632, SG**

72 Inventor/es:

**HAUSER, CHARLOTTE A.E.;
KHOE, ULUNG GONDO KUSUMO y
MISHRA, ARCHANA**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 574 056 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

Péptido/peptoide anfifílico lineal e hidrogel que comprende el mismo

Campo de la invención

5 La presente invención proporciona un péptido y/o peptoide anfifílico lineal así como un hidrogel que incluye el péptido/peptoide anfifílico lineal. El péptido/peptoide anfifílico lineal es capaz de formar un hidrogel. Estos péptidos/peptoides incluyen secuencias anfifílicas cortas con una parte hidrófoba de aminoácidos alifáticos y al menos un aminoácido polar ácido, neutro, o básico. El péptido/peptoide anfifílico lineal está compuesto de aminoácidos alifáticos no repetitivos, que pueden estar en forma L o D. Una pluralidad de tales péptidos/peptoides se ensamblan con fibras helicoidales supramoleculares y forma hidrogeles peptídicos tras el ensamblaje. Se forma
10 un hidrogel correspondiente en soluciones acuosas a pH fisiológico y por lo tanto es útil *inter alia* para cultivos celulares, modificación tisular, y liberación de fármacos. Dichos hidrogeles que son rígidos, biocompatibles y que atrapan hasta un 99,9 % de agua también se adecúan bien para aplicaciones que utilizan dispositivos electrónicos.

Antecedentes de la invención

15 Las estructuras supramoleculares se mantienen unidas por enlaces intermoleculares que son responsables de la organización de sistemas polimoleculares. Las fuerzas intermoleculares no covalentes que se necesitan para el ensamblaje de determinadas estructuras supramoleculares son principalmente interacciones electrostáticas, enlaces hidrógeno, fuerzas de van der Waals, etc. La química o biología supramolecular reúne un gran cuerpo de dos o tres estructuras complejas de dos o tres dimensiones y entidades que se forman por la asociación de especies químicas o biológicas. Estas asociaciones están gobernadas por los principios de complementariedad molecular o reconocimiento molecular y auto-ensamblaje. El conocimiento de las reglas de la asociación intermolecular se puede utilizar para diseñar ensamblajes moleculares en forma de membranas, películas, capas, micelas, túbulos, geles para una variedad de aplicaciones biomédicas o tecnológicas (J.-M. Lehn, Science, 295, 2400-2403, 2002).

25 Se han utilizado péptidos para la fabricación de estructuras supramoleculares por medio del auto-ensamblaje molecular (S. Zhang, Nature Biotechnology, 21, 1171-1178, 2003). Los péptidos, por ejemplo, son capaces de ensamblarse en nanotubos (documento US 7.179.784) o en hidrogeles supramoleculares que consisten en tres armazones tridimensionales con una gran cantidad de alrededor de un 98-99 % de agua o solución acuosa inmovilizada. Los biomateriales basados en péptidos son herramientas poderosas para aplicaciones potenciales en biotecnología, medicina e incluso en aplicaciones técnicas. Dependiendo de las propiedades individuales, se cree que estos hidrogeles basados en péptidos sirven para el desarrollo de nuevos materiales para modificación tisular, medicina regenerativa, como vehículos de suministro de fármacos o como chips peptídicos para investigación farmacéutica y diagnóstico (E. Place y col., Nature Materials, 8, 457-470, 2009). También hay un fuerte interés en utilizar biomaterial auto-ensamblado basado en péptidos tales como geles para el desarrollo de dispositivos electrónicos moleculares (A. R. Hirst y col. Angew. Chem. Int. Ed., 47, 8002-8018, 2008).

35 Se ha generado una variedad de hidrogeles peptídicos inteligentes que reaccionan a manipulaciones externas tales como la temperatura, pH, influencias mecánicas u otros estímulos con un comportamiento dinámico de hinchamiento, contracción o descomposición. Sin embargo, estos biomateriales todavía no están suficientemente "avanzados" para imitar la variabilidad biológica de tejidos naturales como por ejemplo la matriz extracelular (MEC) o el tejido cartilaginoso u otros. El desafío para un uso significativo de los hidrogeles peptídicos es imitar los tejidos naturales reemplazados, no solo como "relleno de espacio" o armazón mecánico, sino entender y enfrentarse a las señales bioquímicas y necesidades fisiológicas que mantienen las células que contiene, en el lugar adecuado y en condiciones "*in vivo*" (R. Fairman y K. Akerfeldt, Current Opinion in Structural Biology, 15, 453-463, 2005).

40 Se han llevado a cabo muchos esfuerzos para entender y controlar la relación entre la secuencia peptídica y la estructura para el diseño racional de hidrogeles adecuados. En general, los hidrogeles contienen estructuras macroscópicas tales como fibras que se enredan y forman mallas. La mayoría de los hidrogeles basados en péptidos utilizan como componente básico láminas β plegadas que se ensamblan a las fibras. Posteriormente se demostró que es posible diseñar fibras de hidrogelación que se auto-ensamblan prácticamente a partir de hélices α . Además de materiales basados en la estructura de láminas β (S. Zhang y col., PNAS, 90, 3334-3338, 1993; A. Aggeli y col., Nature, 386, 259-262, 1997, etc.) se ha desarrollado una variedad de hidrogeles de hélices α (W. A. Petka y col., Science, 281, 389-392, 1998; C. Wang y col., Nature, 397, 417-420, 1999; C. Gribbon y col.,
50 Biochemistry, 47, 10365-10371, 2008; E. Banwell y col., Nature Materials, 8, 596-600, 2009, etc.).

Song y col. (Chemical Abstract database 2009, Registro N°. 154:292186) desvelan un oligopéptido anfifílico de 14 aminoácidos, a saber, C₁₆H₃₁O-AAAGGGGDDIKVAV, que puede auto-ensamblarse en un hidrogel.

55 Measey y Schweitzer-Jenner (JACS 2006, 128, 13324-5) desvelan péptidos anfipáticos con restos hidrófilos e hidrófobos alternados (por ejemplo, VKVKVK o KFEFK) o péptidos basados en alanina (por ejemplo, Ac-AAKA)₃ o Ac-AAKA)₄-NH₂) que se agregan en láminas β antiparalelas.

Koda y col. (Chem. Commun. 2010, 46, 979-81) desvelan los palmitoil tetrapéptidos anfifílicos Pal-GGGH, Pal-GGGH, Pal-GHGG y Pal-HGGG, siendo Pal-GGGH el que muestra la capacidad de gelación más alta, así como un

péptido precursor que comprende un sitio MMP-7 de escisión (Pal-GGGHGPLGLARK-NH₂) que puede ser escindido por MMP-7 en Pal-GGGHGPLG que entonces puede formar un hidrogel.

5 Sin embargo, los hidrogeles peptídicos que se conocen actualmente en la mayoría de los casos están asociados con una baja rigidez, a veces propiedades fisiológicas desfavorables y/o complejidad y necesitan un procesamiento sustancial de las mismas que da lugar a altos costes de producción. Por lo tanto, se reconoce ampliamente la necesidad de hidrogeles peptídicos que se formen fácilmente, no tóxicos y que tengan una rigidez suficientemente alta para las aplicaciones convencionales.

Sumario de la invención

10 Por lo tanto, es deseable proporcionar un compuesto biocompatible que sea capaz de formar un hidrogel que cumpla al menos algunos de los requisitos anteriores con una extensión mayor que los hidrogeles disponibles actualmente y que no estén restringidos por las limitaciones mencionadas anteriormente.

Los objetivos se resuelven de acuerdo con la invención como se reivindica en las reivindicaciones.

Los objetivos de la presente invención se resuelven con un péptido y/o peptoide anfifílico capaz de formar un hidrogel, comprendiendo el péptido y/o peptoide anfifílico una secuencia anfifílica que consiste en:

15 un tramo de secuencia hidrófoba de n aminoácidos alifáticos, en el que n es un número entero de 2 a 6, en el que todos o una parte de los aminoácidos alifáticos del tramo de secuencia hidrófoba están ordenados en un orden de tamaño de aminoácido decreciente en la dirección del extremo N al C del péptido y/o peptoide anfifílico, en el que el tamaño de los aminoácidos alifáticos se define como $I = L > V > A > G$,

20 y un tramo de secuencia hidrófila unido a dicho tramo de secuencia hidrófoba y que tiene un resto polar que es ácido, neutro o básico, comprendiendo dicho resto polar ácido, neutro o básico m aminoácidos hidrófilos adyacentes, en el que m es un número entero de 1 a 2,

25 en el que el péptido y/o peptoide anfifílico tiene un extremo C y un extremo N, en el que dicho tramo de secuencia hidrófoba comprende y/o forma el extremo N del péptido y/o peptoide anfifílico y dicho resto polar consiste en al menos un aminoácido que se posiciona en el extremo C del péptido y/o peptoide anfifílico y en el que el extremo N está protegido por un grupo acetilo.

Los objetivos de la presente invención se resuelven con un péptido y/o peptoide anfifílico capaz de formar un hidrogel, comprendiendo el péptido y/o peptoide anfifílico una secuencia anfifílica que consiste en:

30 un tramo de secuencia hidrófoba de n aminoácidos alifáticos, en el que n es un número entero de 2 a 6, y un tramo de secuencia hidrófila unido a dicho tramo de secuencia hidrófoba y que tiene un resto polar que es ácido, neutro o básico, comprendiendo dicho resto polar ácido, neutro o básico m aminoácidos hidrófilos adyacentes, en el que m es un número entero de 1 a 2,

35 en el que el péptido y/o peptoide anfifílico tiene un extremo C y un extremo N, en el que dicho tramo de secuencia hidrófoba comprende y/o forma el extremo N del péptido y/o peptoide anfifílico y dicho resto polar consiste en al menos un aminoácido que se posiciona en el extremo C del péptido y/o peptoide anfifílico, en el que el extremo N está protegido por un grupo acetilo, en el que todos o una parte de los aminoácidos alifáticos del tramo de secuencia hidrófoba están ordenados en un orden de tamaño de aminoácido idéntico en el péptido y/o peptoide anfifílico, y dichos aminoácidos alifáticos ordenados en un orden de tramo de aminoácidos idéntico tienen una secuencia con una longitud de 2 a 4 aminoácidos, en el que dichos aminoácidos alifáticos ordenados en un orden de tamaño idéntico tienen una secuencia que se selecciona de entre LLLL, LLL, LL, IIII, III, II, VVVV, VVV, VV, AAAA, AAA, AA, GGGG, y GG.

Los objetivos de la presente invención se resuelven con un péptido y/o peptoide anfifílico capaz de formar un hidrogel, comprendiendo el péptido y/o peptoide anfifílico una secuencia anfifílica que consiste en:

45 un tramo de secuencia hidrófoba con la secuencia de aminoácidos AIVAG, y un tramo de secuencia hidrófila unido a dicho tramo de secuencia hidrófoba y que tiene un resto polar que es ácido, neutro o básico, comprendiendo dicho resto polar m aminoácidos hidrófilos adyacentes, en el que m es un número entero de 1 a 2.

50 en el que el péptido y/o peptoide anfifílico tiene un extremo C y un extremo N, en el que dicho tramo de secuencia hidrófoba comprende y/o forma el extremo N del péptido y/o peptoide anfifílico y dicho resto polar consiste en al menos un aminoácido que se posiciona en el extremo C del péptido y/o peptoide anfifílico, y en el que el extremo N está protegido por un grupo acetilo.

ES 2 574 056 T3

En una realización, el péptido y/o peptoide anfifílico consiste en o secuencias anfifílicas, como se ha definido anteriormente, cuyas secuencias anfifílicas están unidas entre ellas, siendo o un número entero de 1 a 50.

En una realización, para un determinado péptido y/o peptoide anfifílico, dichos aminoácidos alifáticos y dichos aminoácidos hidrófilos son D-aminoácidos o L-aminoácidos.

- 5 En una realización, cada aminoácido hidrófilo tiene un grupo polar que se selecciona independientemente de entre un grupo hidroxilo, éter, carboxilo, imido, amido, éster, amino, guanidino, tio, tioéter, seleno, y teluro.

En una realización, dicho resto polar de dicho tramo de secuencia hidrófila comprende m aminoácidos hidrófilos adyacentes, estando definido m como se ha definido anteriormente, siendo seleccionados dichos aminoácidos hidrófilos de entre el grupo que comprende ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, 5-N-etil-glutamina (teanina), citrulina, tio-citrulina, cisteína, homocisteína, metionina, etionina, selenometionina, telurometionina, homocisteína, metionina, etionina, selenometionina, telurometionina, treonina, alo-treonina, serina, homoserina, arginina, homoarginina, ornitina, lisina y N(6)-carboximetilisina, histidina, y en el que dicho tramo de secuencia hidrófoba comprende n aminoácidos alifáticos, siendo n como se ha definido anteriormente, siendo dichos aminoácidos alifáticos seleccionados de entre el grupo que comprende isoleucina, norleucina, leucina, valina, alanina, glicina, homoalilglicina y homopropargilglicina.

10
15

En una realización, dicho resto polar es adyacente al tramo de secuencia hidrófobo de n aminoácidos alifáticos.

En una realización, dicho resto polar tiene una secuencia que se selecciona de entre Asp, Asn, Glu, Gln, Ser, Thr, Cys, Met, Lys, His, Asn-Asn, Asp-Asp, Glu-Glu, Gln-Gln, Asn-Gln, Gln-Asn, Asp-Gln, Gln-Asp, Asn-Glu, Glu-Asn, Asp-Glu, Glu-Asp, Gln-Glu, Glu-Gln, Asp-Asn, Asn-Asp Thr-Thr, Ser-Ser, Thr-Ser, Ser-Thr, Asp-Ser, Ser-Asp, Ser-Asn, Asn-Ser, Gln-Ser, Ser-Gln, Glu-Ser, Ser-Glu, Asp-Thr, Thr-Asp, Thr-Asn, Asn-Thr, Gln-Thr, Thr-Gln, Glu-Thr, Thr-Glu.

20

En una realización, dicho resto polar comprende el extremo C del péptido y/o peptoide anfifílico, en el que dicho extremo C no tiene ningún grupo protector, y en el que dicho extremo N tiene un grupo acetilo.

En una realización, dicho grupo protector es un grupo amido unido al grupo carboxilo de dicho extremo C.

- 25 En una realización, dicho resto polar comprende el extremo C del péptido y/o peptoide anfifílico, en el que ambos de dichos extremo C y extremo N tienen un grupo protector.

En una realización, dicho grupo protector del extremo C es un grupo amido unido al grupo carboxilo de dicho extremo C, y en el que dicho grupo protector del extremo N es un grupo acetilo unido al grupo amino de dicho extremo N.

- 30 En una realización, dichos aminoácidos alifáticos que se ordenan en un orden de tamaño de aminoácido decreciente tienen una secuencia que es una secuencia repetitiva o no repetitiva.

En una realización, dichos aminoácidos alifáticos que se ordenan en un orden por tamaño de aminoácido decreciente tienen una secuencia con una longitud de 2 a 6, preferentemente, de 2 a 5 aminoácidos.

- 35 En una realización, dichos aminoácidos alifáticos que se ordenan en un orden de tamaño de aminoácidos decreciente tienen una secuencia que se selecciona de entre LIVAG, ILVAG, LIVAA, IVAG, LIVA, LIVG, IVA y IV, en la que, opcionalmente, hay una A que precede dicha secuencia en el extremo N.

En una realización, la secuencia anfifílica se somete a un cambio conformacional durante el auto-ensamblaje desde una conformación de enrollamiento aleatorio, a una estructura helicoidal intermedia, a una conformación beta final.

En una realización, el cambio conformacional depende de la concentración.

- 40 En una realización, la secuencia anfifílica lineal comprende un solo aminoácido hidrófilo y al menos dos alifáticos.

En una realización, la secuencia anfifílica es una de SEQ ID NO: 1 a 3, 6 a 7, 9 a 24, 31, 33, 35 a 36, y 38 a 42.

En una realización la secuencia anfifílica es una de SEQ ID NO: 4-5, 34 o 37.

En una realización, la secuencia anfifílica es una de SEQ ID NO: 25 a 30.

- 45 Se debería señalar que cualquiera de las secuencia anfifílicas puede tener un grupo protector en el extremo C además del grupo acetilo en el extremo N. Por ejemplo, la SEQ ID NO: 19 (LIVAGK) puede tener un grupo amido como grupo protector en el extremo C, además de un grupo acetilo en el extremo N.

En una realización, dicho péptido y/o peptoide anfifílico es estable en solución acuosa en condiciones fisiológicas a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo que varía entre 1 día y al menos 6 meses, preferentemente hasta al menos 8 meses, más preferentemente hasta al menos 12 meses.

En una realización, el péptido y/o peptoide anfifílico es estable en solución acuosa en condiciones fisiológicas, a una temperatura de hasta 90 ° C, durante al menos 1 hora.

Los objetivos de la presente invención se resuelven con un hidrogel que comprende un péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con la presente invención.

- 5 En una realización, el hidrogel es estable en solución acuosa a temperatura ambiente durante un periodo de al menos 7 días, preferentemente al menos 2 a 4 semanas, más preferentemente al menos 1 a 6 meses.

En una realización, el hidrogel se caracteriza por una relación del módulo de almacenamiento G' respecto al módulo de pérdida G'' que es mayor de 2.

- 10 En una realización, el hidrogel se caracteriza por un módulo de almacenaje G' de 100 Pa a 80.000 Pa con una frecuencia en el intervalo de 0,02 Hz a 16 Hz.

En una realización, el hidrogel tiene una fuerza mecánica mayor que el colágeno o su forma hidrolizada (gelatina).

- 15 En una realización, el hidrogel de acuerdo con la presente invención comprende fibras del péptido y/o peptoide anfifílico como se ha definido anteriormente, definiendo dichas fibras una trama que es capaz de atrapar al menos un microorganismo, una partícula vírica, un péptido, un peptoide, una proteína, un ácido nucleico, un oligosacárido, un polisacárido, una vitamina, una molécula inorgánica, un polímero sintético, una molécula orgánica pequeña o un compuesto farmacéutico activo.

- 20 En una realización, el hidrogel comprende al menos uno de entre un microorganismo, una partícula vírica, un péptido, un peptoide, una proteína, un ácido nucleico, un oligosacárido, un polisacárido, una vitamina, una molécula inorgánica, un polímero sintético, una molécula orgánica pequeña o un compuesto farmacéuticamente activo atrapado por la trama de fibras del polímero anfifílico.

En una realización, las fibras del polímero anfifílico se acoplan con al menos un microorganismo, una partícula vírica, un péptido, un peptoide, una proteína, un ácido nucleico, un oligosacárido, un polisacárido, una vitamina, una molécula inorgánica, un polímero sintético, una molécula orgánica pequeña o un compuesto farmacéuticamente activo atrapado por la trama de fibras del polímero anfifílico.

- 25 En una realización, el hidrogel está comprendido en al menos uno de entre una célula de combustible, una célula solar, una célula electrónica, un dispositivo biosensible, un dispositivo médico, un implante, una composición farmacéutica y una composición cosmética.

- 30 En una realización, el hidrogel de acuerdo con la presente invención es para su uso en al menos uno de los siguientes: la liberación de un compuesto farmacéuticamente activo, un kit de herramientas médicas, una célula de combustible, una célula solar, una célula electrónica, regeneración tisular, terapia con células madre y terapia genética.

En una realización, el hidrogel de acuerdo con la presente invención es inyectable.

- 35 Los objetivos de la presente invención se resuelven con un procedimiento para preparar un hidrogel, comprendiendo el procedimiento disolver un péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con la presente invención en una solución acuosa.

De acuerdo con la invención, el péptido y/o peptoide anfifílico disuelto en una solución acuosa se expone además a una temperatura, en el que la temperatura está en el intervalo de 20 ° C a 90 ° C, preferentemente de 20 ° C a 70 ° C.

- 40 En una realización, el péptido y/o peptoide anfifílico se disuelve a una concentración de 0,01 µg/ml a 100 mg/ml, preferentemente a una concentración de 1 mg/ml a 50 mg/ml, más preferentemente a una concentración desde aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml.

Los objetivos de la presente invención también se resuelven con un implante quirúrgico, o estent, comprendiendo el implante quirúrgico o estent un armazón de péptido y/o peptoide en el que el armazón de péptido y/o peptoide está formado por un hidrogel de acuerdo con la presente invención.

- 45 Los objetivos de la presente invención también se resuelven con una composición farmacéutica y/o cosmética y/o un dispositivo biomédico y/o un dispositivo electrónico que comprende el péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con la presente invención.

En una realización, la composición farmacéutica y/o cosmética y/o el dispositivo biomédico y/o los dispositivos electrónicos que se han definido anteriormente, comprenden además un compuesto farmacéuticamente activo.

- 50 En una realización, la composición farmacéutica y/o cosmética que se ha definido anteriormente, comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención describe un kit de partes, comprendiendo el kit un primer envase con un péptido y/o peptóide anfifílico de acuerdo con la presente invención y un segundo envase con una solución acuosa.

La solución acuosa del segundo envase puede comprender además un compuesto farmacéuticamente activo.

5 El primer envase con el péptido y/o peptóide anfifílico puede comprender además un compuesto farmacéuticamente activo.

Los objetivos de la presente invención se resuelven con un procedimiento de regeneración tisular que comprende las etapas de:

- 10 a) proporcionar un hidrogel como se ha definido anteriormente,
b) exponer dicho hidrogel a las células que van a formar el tejido regenerado, permitir que dichas células crezcan en dicho hidrogel.

De acuerdo con la invención, el procedimiento se lleva a cabo *in vitro*.

El procedimiento que se ha definido anteriormente se puede llevar a cabo *in vivo*, en el que, en la etapa a), dicho hidrogel se proporciona en un lugar en un cuerpo en el que se pretende la regeneración tisular.

15 Dicha etapa a) se puede llevar a cabo inyectando dicho hidrogel en un lugar del cuerpo en el que se pretende la regeneración tisular.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un péptido y/o peptóide anfifílico capaz de formar un hidrogel. El péptido y/o peptóide anfifílico incluye una secuencia hidrófoba y una secuencia hidrófila. Esta secuencia hidrófoba tiene una longitud de n L o D aminoácidos. n es un número entero de 2 a 6. La secuencia hidrófila tiene un resto polar y/o cargado que comprende m L- o D-aminoácidos. m es un número entero de 1 a 2. Cada uno de los m aminoácidos alifáticos tiene un grupo polar que se selecciona independientemente. La secuencia anfifílica lineal tiene una carga neta a un pH fisiológico y un extremo N que tiene un grupo protector. El grupo protector es un grupo acetilo. El péptido y/o peptóide anfifílico puede comprender o secuencias unidas de n L- y D-aminoácidos hidrófobos y m L- y D-aminoácidos hidrófilos en el péptido y/o peptóide anfifílico. En el que o es un número entero de 1 a aproximadamente 50. El péptido y/o peptóide anfifílico puede consistir en o secuencias unidas de n L- y D-aminoácidos hidrófobos y m L- y D-aminoácidos hidrófilos en el péptido y/o peptóide anfifílico. El valor de n es un número entero de 2 a 6. El valor de m es de 1 a 2. El grupo cargado y/o polar de cada uno de los m L- y D-aminoácidos hidrófilos puede seleccionarse independientemente de entre un grupo hidroxilo, éter, carboxilo, amido, éster, amino, guanidino, tio, tioéter, seleno y telurio. El resto cargado o polar de la secuencia hidrófila puede comprender m L- o D-aminoácidos que se seleccionan de entre el grupo que consiste en ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, 5-N-etil-glutamina (teanina), citrulina, tio-citrulina, cisteína, homocisteína, metionina, etionina, selenometionina, telurometionina, treonina, alo-treonina, serina, homoserina, arginina, homoarginina, ornitina, lisina y N(6)-carboximetil lisina. El resto cargado y/o polar de la secuencia hidrófila puede comprender dos aminoácidos idénticos. Los dos aminoácidos idénticos pueden estar adyacentes al resto hidrófobo no polar. El resto cargado y/o polar puede consistir en dos aminoácidos con una secuencia que se selecciona de entre Asn-Asn, Asp-Asp, Glu-Glu, Gln-Gln, Asn-Gln, Gln-Asn, Asp-Gln, Gln-Asp, Asn-Glu, Glu-Asn, Asp-Glu, Glu-Asp, Gln-Glu, Glu-Gln, Asp-Asn, Asn-Asp, Thr-Thr, Ser-Ser, Thr-Ser, Ser-Thr, Asp-Ser, Ser-Asp, Ser-Asn, Asn-Ser, Gln-Ser, Ser-Gln, Glu-Ser, Ser-Glu, Asp-Thr, Thr-Asp, Thr-Asn, Asn-Thr, Gln-Thr, Thr-Gln, Glu-Thr, Thr-Glu. El resto cargado y/o polar puede comprender el extremo C del péptido y/o peptóide anfifílico. El resto cargado y/o polar puede comprender el extremo C, teniendo el extremo C un grupo carboxilo del extremo C sin protección. El resto cargado y/o polar puede comprender el extremo C del péptido y/o peptóide anfifílico, teniendo el extremo C un grupo carboxilo del extremo C sin protección y en el que el extremo N tiene un grupo acetilo. El grupo protector puede ser un grupo protector amido. El resto cargado y/o polar consiste en al menos un aminoácido que se posiciona en el extremo C del péptido y/o peptóide anfifílico. La secuencia hidrófoba puede comprender al menos dos aminoácidos alifáticos que se definen por una cadena principal que comprende de 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono.

45 En una realización, una parte de los aminoácidos del resto no polar se pueden disponer en una secuencia general de tamaño decreciente en la dirección desde el extremo N al C del péptido y/o peptóide anfifílico, y el tamaño de los aminoácidos adyacentes del resto no polar puede ser idéntico o menor en la dirección de la secuencia general de tamaño decreciente. La secuencia general de tamaño decreciente puede ser preferentemente una secuencia no repetitiva. La dirección de la secuencia general de tamaño decreciente en la que los aminoácidos adyacentes pueden ser de tamaño idéntico o menor puede ser en la dirección hacia el resto cargado y/o polar de la secuencia.

50 La parte de aminoácidos ordenados en una secuencia general de tamaño decreciente puede tener una longitud de 2-6, preferentemente de 2, 3, 4, 5 o 6 aminoácidos. La parte de los aminoácidos ordenados en una secuencia general de tamaño decreciente puede tener también una longitud de $n-m-1$ aminoácidos y en la que la parte de los aminoácidos ordenados en la secuencia general de tamaño decreciente se puede posicionar entre el aminoácido no polar remanente del resto no polar de $n-m$ aminoácidos y el resto polar. El aminoácido no polar remanente del resto no polar de $n-m$ aminoácidos puede definir el extremo N o el extremo C del péptido y/o peptóide anfifílico. El aminoácido no polar del resto no polar de $n-m$ aminoácidos puede ser uno de entre alanina, valina y glicina. La secuencia anfifílica lineal puede someterse a un cambio conformacional desde una conformación de enrollamiento aleatorio a una conformación helicoidal durante el auto-ensamblaje. El cambio conformacional puede depender de la

concentración. El resto no polar de la secuencia anfifílica lineal puede comprender al menos un L- o D-aminoácido que se selecciona de entre el grupo que consiste en glicina, homoaileglicina, homopropargilglicina, alanina, valina, leucina, norleucina e isoleucina. La secuencia anfifílica lineal puede comprender un único resto polar y/o cargado y un único resto no polar. La secuencia anfifílica lineal puede tener una carga neta positiva o negativa. La carga neta puede ser desde aproximadamente -1 a aproximadamente -4 o desde aproximadamente +5 a aproximadamente +1. La carga neta puede ser desde aproximadamente -1 a aproximadamente -2. La carga neta puede ser -2. La carga neta puede ser +1 o +2 o +5. El péptido y/o peptoide anfifílico puede ser estable en solución acuosa en condiciones fisiológicas a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo en el intervalo desde 1 día a al menos 6 meses, preferentemente al menos 8 meses, más preferentemente al menos 12 meses. El péptido y/o peptoide anfifílico puede ser estable en una solución acuosa en condiciones fisiológicas a una temperatura de 90 ° C durante al menos 1 hora.

En un segundo aspecto, la invención proporciona un hidrogel. El hidrogel incluye un péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con el primer aspecto. El hidrogel puede ser estable en solución acuosa a temperatura ambiente durante un periodo de al menos 7 días. El hidrogel puede ser estable en una solución acuosa a temperatura ambiente durante un periodo de al menos 2 a 4 semanas. El hidrogel puede ser estable en solución acuosa a temperatura ambiente durante un periodo de al menos 1 a 6 meses. La propiedad mecánica del hidrogel se puede caracterizar por una relación del módulo G'' de pérdida con respecto al módulo G' de almacenamiento que sea menor de 1. El hidrogel se puede caracterizar por la magnitud del módulo G' de almacenamiento mayor que el módulo G'' de pérdida por un factor mínimo de 1,5. El hidrogel se puede caracterizar por un módulo G' de almacenamiento de desde 100 Pa a 80.000 Pa con una frecuencia en el intervalo de 0,02 Hz a 16 Hz. El hidrogel se puede caracterizar por un módulo G' de almacenamiento que es mayor según aumenta la concentración de péptido. El hidrogel puede tener una fuerza mecánica mayor que el colágeno o su forma hidrolizada (gelatina). El hidrogel puede comprender fibras de un péptido y/o peptoide anfifílico descrito en el presente documento. Las fibras pueden definir una trama que es capaz de atrapar al menos uno de entre un microorganismo, una partícula vírica, un péptido, un peptoide, una proteína, un ácido nucleico, un oligosacárido, un polisacárido, una vitamina, una molécula inorgánica, un polímero sintético, una molécula orgánica pequeña o un compuesto farmacéuticamente activo. El hidrogel puede comprender al menos uno de un microorganismo, una partícula vírica, un péptido, un peptoide, una proteína, un ácido nucleico, un oligosacárido, un polisacárido, una vitamina, una molécula inorgánica, un polímero sintético, una molécula orgánica pequeña o un compuesto farmacéuticamente activo atrapado en la trama de fibras del polímero anfifílico. Las fibras del polímero anfifílico pueden unirse a al menos un microorganismo, una partícula vírica, un péptido, un peptoide, una proteína, un ácido nucleico, un oligosacárido, un polisacárido, una vitamina, una molécula inorgánica, un polímero sintético, una molécula orgánica pequeña o un compuesto farmacéuticamente activo atrapado por la malla de fibras del polímero anfifílico. El hidrogel puede estar comprendido en al menos una célula de combustible, una célula solar, una célula electrónica, un dispositivo biosensible, un dispositivo médico, un implante, una composición farmacéutica, un sistema de suministro de fármacos, un medio de cultivo tisular, dispositivos biosensores y una composición cosmética. El hidrogel puede usarse para al menos uno de entre liberación de un compuesto farmacéuticamente activo, un kit de herramientas médicas, una célula de combustible, una célula solar, una célula electrónica, regeneración tisular, terapia con células madre y terapia genética.

En algunas realizaciones el hidrogel puede utilizarse para la regeneración tisular, la liberación de fármacos o la terapia genética.

En un tercer aspecto, la invención proporciona un procedimiento para preparar un hidrogel. El procedimiento incluye proporcionar un péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con el primer aspecto. El procedimiento incluye además disolver y/o dispersar el péptido y/o peptoide anfifílico en una solución acuosa. El péptido y/o peptoide anfifílico disuelto/disperso se expone adicionalmente a una temperatura. La temperatura se selecciona de entre el intervalo de aproximadamente 20 ° C a aproximadamente 90, preferentemente de 20 ° C a 70 ° C. El péptido y/o peptoide anfifílico se puede disolver a una concentración desde aproximadamente 0,01 µg/ml a aproximadamente 100 mg/ml. El péptido y/o peptoide anfifílico se puede disolver a una concentración desde aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml. El péptido y/o peptoide anfifílico se puede disolver y/o dispersar a una concentración desde aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml.

En un cuarto aspecto, la invención proporciona un implante quirúrgico o un estent. El implante quirúrgico o estent incluye un armazón de péptido y/o peptoide. El armazón de péptido y/o peptoide se define por un hidrogel de acuerdo con el segundo aspecto.

En un quinto aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica y/o cosmética. La composición farmacéutica y/o cosmética incluyen el péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con el primer aspecto. La composición farmacéutica y/o cosmética puede comprender un compuesto farmacéuticamente activo. La composición farmacéutica y/o cosmética puede comprender un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención describe un kit de partes. El kit incluye un primer envase y un segundo envase. El primer envase incluye un péptido y/o peptoide de acuerdo con el primer aspecto. El segundo envase incluye una solución acuosa. La solución acuosa del segundo envase puede comprender además un compuesto farmacéuticamente activo. El primer envase con un péptido y/o peptoide anfifílico puede comprender además un compuesto farmacéuticamente activo.

Otros aspectos y características de la presente invención se volverán evidentes para los expertos en la técnica con la revisión de la siguiente descripción de realizaciones específicas de la invención junto con las figuras adjuntas.

Breve descripción de los dibujos

5 Las realizaciones de la invención se describirán ahora a modo de ejemplo en referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

Las **Figuras 1A a 1J** representan una lista ordenada de algunos péptidos ejemplares de la invención capaces de formar hidrogeles. Estos péptidos son realizaciones en las que el péptido completo consiste en una única secuencia anfifílica lineal. Los péptidos que forman hidrogeles se nombran con un código corto, pero se desvela su secuencia individual. Los péptidos de estos ejemplos consisten en una secuencia de aminoácidos naturales que contiene 3 a 7 aminoácidos. El extremo N está acetilado lo que elimina la carga que de otra manera evitaría el carácter anfifílico de los péptidos.

La **Figura 2** representa las imágenes de gelación de hidrogeles basados en péptidos con las concentraciones más bajas.

La **Figura 3** representa las imágenes de gelación para Ac-AS-6 (L) a concentraciones de 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml.

La **Figura 4** representa una hipótesis de auto-ensamblaje a partir de monómeros peptídicos en una trama supramolecular de fibras condensadas. (A) Se cree que el ensamblaje se inicia con el emparejamiento antiparalelo de dos monómeros peptídicos por cambio a conformaciones α -helicoidales. Posteriormente, las parejas peptídicas se ensamblan en fibras y nanoestructuras. La condensación de las fibras peptídicas en agregados de fibras da como resultado la formación del hidrogel.

La **Figura 5** representa imágenes de microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM) de hidrogeles de Ac-LD6 (L) (10 mg/ml), en las que la Fig. 5A, Fig. 5B, y Fig. 5C, son imágenes que se obtienen por una magnificación de 260X, 1000X, 2000X, 2400X, 4000X a una temperatura de 4 °C con HV a 10 KV. Las imágenes indican la formación de estructuras fibrosas.

La **Figura 6** muestra imágenes de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM) de hidrogeles de Ac-LD6 (L) (15 mg/ml), en la que las figuras 6A-D son imágenes que se obtienen por una magnificación de 6000X, 45000X, 45000X y 40000X con HV a 10 KV.

La **Figura 7** representa imágenes de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM) de hidrogeles de Ac-AD6 (D) (20 mg/ml) con una magnificación de 50X (Fig. 7A) y 20000X (Fig. 7B) a 12 KV.

La **Figura 8** muestra imágenes de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM) de hidrogeles de Ac-AD6 (D) (20 mg/ml) que se obtienen a 120X (Fig. 8A), y 450X (Fig. 8B).

La **Figura 9A a-f)** muestra la morfología y evaluación de la estructura de los armazones peptídicos según se determina por microscopía electrónica de barrido de emisión de campo **(a-f)** (a) Se observa una estructura porosa en panel tras la liofilización de 20 mg/ml de hidrogel Ac-AD₆ (D). Los poros están unidos por membranas de fibras condensadas como se muestra en las vistas de cerca de 15 mg/ml **(b)** y 20 mg/ml **(c)** de hidrogeles Ac-ID₃ (L). La magnificación adicional de 20 mg/ml de hidrogel Ac-AD₆ (L) revelaba las fibras únicas **(d, e)**. A concentraciones más bajas, 0,1 mg/ml se observaban las nanoestructuras Ac-LD₆ (L) **(f)**.

La **Fig. 9B** muestra una imagen que se obtuvo con una magnificación de 1000X, HV de 12 KV, la **Fig. 9C** se obtuvo con una magnificación de 2500X, HV de 12 KV, la **Fig. 9D** se obtuvo con una magnificación de 4000X, HV de 12 KV, la **Fig. 9E** se obtuvo con una magnificación de 35000X, HV de 10 KV, la **Fig. 9F** se obtuvo con una magnificación de 80000X, HV de 5 KV, la **Fig. 9G** se obtuvo con una magnificación de 120000X, HV de 10 KV, y la **Fig. 9H** con una magnificación de 200000X, HV de 10 KV.

La **Figura 10** muestra **(a)** el espectro CD Far-UV demuestra que cuando se aumenta la concentración hay una transición de la conformación del péptido Ac-LD₆ de enrollamiento aleatorio (por debajo del umbral de concentración) a α -helicoidal (picos de 222 y 208 nm) y estructuras adicionales de tipo β (banda negativa a 218 nm). Calentando las muestras para facilitar la gelación aumentaba la agregación tipo β . **(b)** concentración por debajo del umbral, las conformaciones de enrollamiento aleatorio de 0,2 mg/ml Ac-LD₆ se alteraban reversiblemente por aumentos graduales de temperatura (líneas sólidas) desde 25 °C a 90 °C y el enfriamiento (líneas discontinuas). **(c, d)** Por encima del umbral de concentración en 1 mg/ml de gel Ac-LD₆, los aumentos graduales de temperatura **(c)** estabilizaban las estructuras tipo β irreversiblemente, de forma que el enfriado posterior **(d)** no alteraba el espectro CD. **(e)** Espectro CD Far-UV de AcID₃ a diferentes concentraciones. Todas las curvas se hicieron a 25 °C.

La **Figura 11** muestra la Reología. **(a, b)** Se determinaron las fuerzas mecánicas altas de diferentes hidrogeles peptídicos a una concentración de 20 mg/ml midiendo el módulo de almacenamiento (G') como una función de la

frecuencia angular con un 0,1 % de tensión, a 25 ° C y 50 ° C respectivamente. Los geles demostraban una estabilidad térmica comparada con la gelatina, que se licuaba a 50 ° C (por tanto se excluyó en 4B). **(c)** La fuerza mecánica es una función de la concentración, como se determinó por estudios de barrido de frecuencia oscilante utilizando Ac-LD₆ (L) con un 0,1 % de tensión a 25 ° C. **(d)** El aumento de la concentración de sal (NaCl) disminuye el G', reduciendo la rigidez de hidrogeles Ac-LD₆ (L) a 10 mg/ml.

La **Figura 12** muestra un ejemplo más de una medición de la reología para hidrogeles basados en péptidos. La **Figura 12A** y la **Figura 12B** representan los estudios de barridos de amplitud oscilante a temperaturas de 25 ° C a 50 ° C para Ac-AD6 (L) y Ac-AD6 (D) a una concentración de 20 mg/ml con una frecuencia constante de [1 rad/s] y un hueco de 0,8 mm. Los gráficos indican la representación del módulo [Pa] frente a la tensión (%) a temperaturas de 25 ° C y 50 ° C. El intervalo viscoelástico lineal se observó a una tensión de 0,07 % a 0,2 % a temperaturas de 25 ° C a 50 ° C. Las **Fig. 12C** y **Fig. 12D** representan los estudios de barrido de frecuencia oscilante de 25 ° C y 50 ° C para Ac-AD6 (L) y Ac-AD6 (D) a una concentración de 20 mg/ml con intervalos de frecuencia variables desde 0,1 a 100 [rad/s] con una tensión constante [%] del 0,1 % de intervalo viscoelástico lineal y un hueco de 0,8 mm.

La **Figura 13** muestra un ejemplo más de una medición de reología para hidrogeles basados en péptidos. Se representa un estudio de barrido de frecuencia de un péptido reticulado uv a una temperatura de 25 ° C con una tensión del 0,1 %.

La **Figura 14** representa las mediciones de la reología para la gelatina-1890 (tipo A, piel de cerdo). Esta figura muestra los datos de los módulos que se obtuvieron a 25 ° C cuando se aplicaban diferentes frecuencias.

La **Figura 15** ilustra la biocompatibilidad de hidrogeles basados en péptidos de la invención utilizando líneas celulares adicionales. La Fig. 15A muestra una imagen microscópica de células primarias del túbulo renal humano (HPRTC) tras 72 horas después de sembrarlas en un hidrogel de Ac-LD₆ (L) en medio DMEM, cultivadas en condiciones óptimas. La Fig. 15B muestra las imágenes microscópicas de células primarias de túbulo renal humano (HPRTC) tras 72 h después de sembrarlas un cultivo tisular plástico, cultivadas en óptimas condiciones. La Fig. 15C muestra las imágenes microscópicas de células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC) tras 72 h después de sembrarlas en geles de Ac-LD₆ (L) en medio DMEM, cultivadas en condiciones óptimas. La Fig. 15D muestra imágenes microscópicas de células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC) tras 72 h después de sembrarlas en un cultivo tisular plástico, cultivadas en condiciones óptimas.

La **Figura 16** es una ilustración más de la viabilidad de las células en presencia de un hidrogel de la invención. Se cultivaron fibroblastos humanos en presencia (Fig. 16A) y ausencia (Fig. 16B) de Ac-LD₆ (L) (5 mg/ml). Se muestran las células teñidas con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (paneles de la izquierda), células teñidas con rojo Texas (paneles centrales) y células teñidas con ambos FITC y rojo Texas (paneles de la derecha).

Descripción detallada de la invención

Una realización ejemplar de la invención proporciona una nueva clase de péptidos/peptoides formadores de hidrogel derivados *inter alia* de aminoácidos naturales. Estos péptidos/peptoides son pequeños péptidos anfifílicos con una parte hidrófoba de aminoácidos alifáticos y uno o dos aminoácidos polares. Los péptidos/peptoides (típicamente 3-7 meros) están típicamente en forma L o D y pueden auto-ensamblarse en fibras supramoleculares que se organizan en estructuras tipo malla. Los hidrogeles se caracterizan en general por una rigidez importante y son biocompatibles y no tóxicos. Dependiendo de la secuencia de péptido/peptoide estos hidrogeles pueden mostrar un carácter de respuesta a la temperatura y tixotrópico. Seleccionando las condiciones de ensamblaje peptídico se puede controlar el espesor y longitud de las fibras. Los hidrogeles rígidos pueden utilizarse para el cultivo de una variedad de células primarias humanas, proporcionando armazones peptídicos que pueden ser útiles en la reparación y remplazo de varios tejidos. También se desvela el procedimiento para preparar estos hidrogeles. Se desvela además el uso de los respectivos hidrogeles en aplicaciones tales como el cultivo celular, modificación tisular, cirugía plástica, suministro de fármacos, aplicaciones orales, cosmética, empaquetado y similares así como para aplicaciones técnicas, como por ejemplo para su uso en dispositivos electrónicos que pueden incluir células solares o de combustible.

Una realización ejemplar de la presente invención proporciona un péptido y/o peptoide anfifílico capaz de formar un hidrogel, es decir, una trama de polímero en la que el agua es el medio de dispersión. El péptido y/o peptoide anfifílico incluye una o más secuencias anfifílicas lineales, teniendo cada una, una parte polar y una parte no polar. Por simplificar, las explicaciones siguientes se enfocan sobre todo en los péptidos y/o peptoides anfifílicos que consisten en una única secuencia lineal respectiva. En estas explicaciones, el péptido y/o peptoide respectivo se denomina "péptido y/o peptoide lineal". Las respectivas explicaciones se aplican a cualquier secuencia lineal, que también puede estar incluida en un péptido y/o peptoide anfifílico con una pluralidad de estas secuencias lineales. Cada una de estas secuencias lineales se selecciona individualmente. En algunas realizaciones el péptido y/o peptoide anfifílico que se desvela en el presente documento incluye varias secuencias anfifílicas lineales, cada una de ellas diferenciada de las otras secuencias anfifílicas lineales. En algunas realizaciones un péptido y/o peptoide anfifílico desvelado en el presente documento incluye varias secuencias anfifílicas lineales idénticas. En una

realización un péptido y/o peptoide anfifílico desvelado en el presente documento incluye una pluralidad de secuencias anfifílicas lineales, siendo cada secuencia anfifílica lineal idéntica a las otras secuencias anfifílicas lineales.

5 Un péptido y/o peptoide de acuerdo con una realización ejemplar de la invención incluye o secuencias anfifílicas lineales. El símbolo n representa un número entero que se selecciona de entre el intervalo desde 1 a aproximadamente 25, tal como desde 1 a aproximadamente 20, desde 1 a aproximadamente 18, desde 1 a aproximadamente 15, desde 1 a aproximadamente 12, desde 1 a aproximadamente 10, desde 1 a aproximadamente 8, desde 1 a aproximadamente 6, desde 1 a aproximadamente 5 desde 1 a aproximadamente 4 o desde 1 a aproximadamente 3. En algunas realizaciones estas secuencias anfifílicas lineales están unidas de manera consecutiva, definiendo de esta manera una parte lineal del péptido y/o peptoide. En algunas realizaciones el péptido y/o peptoide tiene un armazón con una o más ramificaciones. En dicha realización estas secuencias anfifílicas lineales pueden estar incluidas en las diferentes ramificaciones.

10 Como se ha mencionado anteriormente, cada una de las n secuencias anfifílicas lineales se selecciona independientemente. Una secuencia anfifílica lineal respectiva tiene una longitud de n aminoácidos alifáticos. El símbolo n representa un número entero que se selecciona de entre el intervalo desde 3 a aproximadamente 8 o desde 3 a aproximadamente 7, tal como 3, 4, 5, 6, 7, u 8 aminoácidos alifáticos.

15 En algunas realizaciones una secuencia anfifílica lineal de un péptido y/o peptoide descrito en el presente documento es quirál, dando lugar a un péptido y/o peptoide anfifílico completamente quirál. Un péptido y/o peptoide lineal correspondiente, es decir, una realización que consiste en una única secuencia lineal respectiva, en consecuencia es un péptido o peptoide quirál. Una secuencia anfifílica lineal respectiva puede incluir cualquier aminoácido no aromático lineal. El término "aminoácido" como se utiliza en el presente documento se refiere a un ácido alfa-amino carboxílico, es decir un ácido carboxílico con un grupo amino en la posición α . El grupo amino respectivo puede ser un grupo $-\text{NH}_2$ o un grupo $-\text{NHR}^1$. El resto R^1 puede ser cualquier grupo alifático, sea alquilo, alquenilo o alquinilo, con una cadena principal que incluye 1 a 5, a 10, a 15 o a 20 átomos de carbono. Ejemplos de radicales alquenilo son radicales de hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contienen uno o más de enlaces dobles. Los radicales alquenilo contienen en general aproximadamente de dos a veinte átomos de carbono y uno o más, por ejemplo dos, enlaces dobles, tal como de aproximadamente dos a aproximadamente diez átomos de carbono, y un doble enlace. Los radicales alquinilo contienen normalmente aproximadamente dos a aproximadamente veinte átomos de carbono y uno o más, por ejemplo dos, enlaces triples, preferentemente tal como de dos a diez átomos de carbono y un triple enlace. Ejemplos de radicales alquinilo son radicales de hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contienen uno o más enlaces triples. Ejemplos de grupos alquilo son metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, los n isómeros de estos radicales, isopropilo, isobutilo, isopentilo, sec-butilo, tert-butilo, neopentilo, 3,3 dimetilbutilo.

20 Un peptoide es una oligo (N-alquil) glicina que, al igual que la cadena lateral conectada al átomo de carbono α (véase posteriormente) de un péptido, en el nitrógeno amida tiene un resto que en la presente invención es un resto alifático. En consecuencia, en las realizaciones en las que se incluye un grupo $-\text{NHR}^1$ (véase anteriormente) en el aminoácido y el átomo de carbono α está incluido en un grupo $-\text{CH}_2-$, el producto de reacción de acoplamiento de una pluralidad de dichos aminoácidos se puede denominar peptoide. Un peptoide también puede considerarse que se diferencia de un péptido porque éste tiene su cadena lateral más bien en el nitrógeno amida que en átomo de carbono α . Los peptoides típicamente son resistentes a las proteasas y otras enzimas modificadoras y pueden tener una permeabilidad celular mucho mayor que los péptidos (véase, por ejemplo, Kwon, Y.-U., y Kodadek, T., J. Am. Chem. Soc. (2007) 129, 1508-1509).

25 El término "aminoácido" incluye compuestos en los que el grupo del ácido carboxílico se protege con un grupo protector en forma de un éster (incluyendo un ortoéster), un sililéster, una amida, una hidrazida, un oxazol, una 1,3-oxazolona o una 5-oxo-1,3-oxazolidina. El término "aminoácido" también incluye compuestos en los que el grupo amino en forma de $-\text{NH}_2$ o $-\text{NHR}^1$ (véase anteriormente) se protege tras un grupo protector. Los grupos protectores amino adecuados incluyen, pero no se limitan a, un carbamato, una amida, una sulfonamida, una imina, una imida, histidina, un N-2,5-dimetil-pirrol, un producto de adición N-1,4,4,4-tetrametil-disilil-azaciclopentano, una N-1,1,3,3-tetrametil-1,3-disililindolina, un N-difenilsilildietileno, una 1,3,5-dioxazina, una N-[2-(trimetilsilil) etoxi] metilamina, una N-(5,5-dimetil-3-oxo-1-ciclohexenil) amina, una N-4,4,4-trifluoro-3-oxo-1-butenilamina, un N-9-borabicyclononano y una nitroamina. También puede estar presente un grupo protector que proteja tanto el grupo amino como el carboxílico tales como, por ejemplo, en forma de una 2,2-dimetil-4-alquil-2-silo-5-oxo-1,3-oxazolidina. El átomo de carbono alfa del aminoácido típicamente tiene además un átomo de hidrógeno. La denominada "cadena lateral" unida al átomo de carbono alfa, que de hecho es la continuación de la cadena principal del ácido carboxílico es un resto alifático que puede ser lineal o ramificado. La expresión "cadena lateral" se refiere a la presencia del aminoácido en un péptido (véase anteriormente), en el que se forma un armazón por el acoplamiento de una pluralidad de aminoácidos. Un resto alifático unido al átomo de carbono α de un aminoácido incluido en dicho péptido define entonces una cadena lateral con respecto al armazón. Como se ha explicado anteriormente, lo mismo se aplica a un resto alifático unido al grupo amino del aminoácido, lo que define de igual manera una cadena lateral con respecto al armazón de un peptoide.

- El término “alifático” significa, a menos de que se establezca otra cosa, una cadena lineal o ramificada de hidrocarburo, que puede estar saturada o mono- o poli-insaturada e incluye heteroátomos. El término “heteroátomo” como se utiliza en el presente documento significa un átomo de cualquier elemento distinto de carbono o hidrógeno. Un grupo alifático insaturado contiene uno o más dobles y/o triples enlaces (restos alqueno o alquino). Las ramificaciones de las cadenas de hidrocarburo pueden incluir cadenas lineales así como elementos cíclicos no aromáticos. La cadena de hidrocarburo, que puede, a menos de que se establezca otra cosa, ser de cualquier longitud, y contener cualquier número de ramificaciones. Típicamente, la cadena de hidrocarburo (principal) incluye 1 a 5, a 10, a 15 o a 20 átomos de carbono. Ejemplos de radicales alqueno son radicales de hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contienen uno o más enlaces dobles. Los radicales alqueno generalmente contienen aproximadamente de dos a aproximadamente veinte átomos de carbono y uno o más, por ejemplo dos, enlaces dobles, tal como aproximadamente de dos a aproximadamente diez átomos de carbono, y un doble enlace. Los radicales alquino normalmente contienen aproximadamente de dos a aproximadamente veinte átomos de carbono y uno o más, por ejemplo dos, enlaces triples, preferentemente tales como de dos a diez átomos de carbono y un triple enlace. Ejemplos de radicales alquino son radicales de hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contienen uno o más enlaces triples. Ejemplos de grupos alquilo son metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, los n isómeros de estos radicales, isopropilo, isobutilo, isopentilo, sec-butilo, tert-butilo, neopentilo, 3,3 dimetilbutilo. Tanto la cadena principal como las ramificaciones pueden contener además heteroátomos como por ejemplo N, O, S, Se o Si o se pueden sustituir los átomos de carbono por estos heteroátomos.
- Un resto alifático puede estar sustituido o no sustituido con uno o más grupos funcionales. Los sustituyentes pueden ser cualquiera de los grupos funcionales, como por ejemplo, pero sin limitarse a, amino, amido, azido, carbonilo, carboxilo, ceto, ciano, isociano, ditiano, halógeno, hidroxilo, nitro, organometálico, organobórico, seleno, sililo, silano, sulfonilo, tio, tiociano, trifluorometil sulfonilo, p-toluensulfonilo, bromobenzenosulfonilo, nitrobenzenosulfonilo, y metanosulfonilo.
- Como debería ser evidente de lo anterior, la cadena lateral de un aminoácido de un péptido/peptido que se describe en el presente documento puede tener una longitud de 0 a aproximadamente 5, a aproximadamente 10, a aproximadamente 15 o a aproximadamente 20 átomos de carbono. Puede estar ramificado e incluir enlaces carbono-carbono insaturados. En algunas realizaciones se incluyen uno o más aminoácidos naturales en el péptido o peptido. Dicho aminoácido natural puede ser uno de los 20 componentes básicos de las proteínas de origen natural.
- En un péptido o peptido, que incluye un péptido/peptido desvelado en el presente documento los aminoácidos individuales están unidos covalentemente por medio de enlaces amida entre un grupo carboxilo de un primer aminoácido y un grupo amino de un segundo aminoácido. Un péptido y/o peptido desvelado en el presente documento es no repetitivo tal que dos aminoácidos que se unen uno a otro siempre son diferentes entre ellos.
- El término anfifílico se refiere a un compuesto que es soluble tanto en fluidos polares como no polares. También engloba compuestos multifásicos. Las propiedades anfifílicas del péptido y/o peptido se deben a la presencia de restos tanto polares como no polares en el mismo péptido y/o peptido. A este respecto, el péptido y/o peptido puede ser de naturaleza tensioactiva. En consecuencia, las propiedades polares de un péptido y/o peptido de acuerdo con una realización de la invención se basan en un resto polar. Dos de dichos restos son un grupo lateral –COOH, en particular en forma de un grupo COO⁻ cargado y un grupo amino. Uno de dichos restos adicional es un grupo –COOH en el extremo C si está presente en una forma libre, sin protección. En general, una molécula tensioactiva incluye un grupo de cabeza polar, típicamente hidrófilo, unido a un resto no polar, típicamente un hidrocarburo. Los restos no polares de un péptido o peptido incluyen una cadena de hidrocarburo que no tiene un grupo funcional.
- Una secuencia anfifílica lineal incluida en un péptido y/o peptido de una realización de la invención por lo tanto incluye un resto polar y un resto no polar. El resto polar incluye un aminoácido alifático que tienen un grupo polar tal como un grupo hidroxilo, un grupo tiol, un grupo seleno, un grupo amino, un grupo amido, un grupo éter, un grupo tioéter o un grupo selenoéter. En consecuencia, el resto polar puede incluir un aminoácido que tiene un grupo polar funcional con un protón tal como un hidroxilo, tiol, selenol, amina o amida.
- Generalmente el resto polar de una secuencia anfifílica lineal de un péptido y/o peptido anfifílico de una realización de la invención se define por un único aminoácido, por dos aminoácidos consecutivos o por tres aminoácidos consecutivos que están unidos al resto no polar del péptido/peptido. En consecuencia, en algunas realizaciones el resto polar del péptido/peptido consiste en dos aminoácidos que están unidos covalentemente por medio de un enlace amida, teniendo ambos aminoácidos una cadena lateral polar del péptido/peptido. Uno de estos dos aminoácidos puede ser un aminoácido del extremo del péptido/peptido, definiendo sus extremos N o C. En algunas realizaciones el péptido/peptido anfifílico tiene un único aminoácido con una cadena lateral polar con la parte restante del péptido/peptido definiendo el resto no polar. En algunas realizaciones el péptido y/o peptido anfifílico tiene dos aminoácidos con una cadena lateral polar mientras que la parte restante del péptido/peptido define el resto no polar. Como tres ejemplos ilustrativos de una respectiva cadena lateral polar pueden servir los grupos 4-metil-4-tio-pentilo, 6-etoxicarbonil-4,5-dimetil-hexilo y 6-hidroxi-4-(1-hidroxietil)-hexilo. Como se utiliza en el presente documento, la numeración de las cadenas laterales del correspondiente péptido/peptido comienza en “1” en el

átomo de carbono que está unido covalentemente al átomo de carbono α del aminoácido o el grupo amino del aminoácido, respectivamente. Los aminoácidos que se incluyen en el resto polar pueden ser o incluir, pero sin limitarse a, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, ácido 4-fluoro-glutámico, ácido 2-aminoadípico, ácido γ -carboxi-glutámico, ácido 4-tert-butilaspártico, 5-N-etil-glutamina (teanina), citrulina, tio-citrulina, cisteína, homocisteína, telurometionina, etionina, selenometionina, telurometionina, treonina, alo-treonina, serina, homoserina, arginina, homoarginina, ornitina, lisina, 5-hidroxi-lisina y N(6)-carboximetil-lisina. Cualquiera de dichos aminoácidos puede estar presente en forma L o D.

La secuencia anfifílica lineal del péptido y/o peptoide anfifílico de una realización de la invención se puede definir como que tiene n aminoácidos. Cuando un aminoácido con una cadena lateral polar se incluye en la secuencia anfifílica lineal, el resto no polar puede considerarse que tiene $n-1$ aminoácidos. En este caso, el resto polar consiste exactamente en un aminoácido, seleccionándose dicho aminoácido de entre cualquier aminoácido del párrafo anterior. Cuando se incluyen dos aminoácidos consecutivos con una cadena lateral polar en la secuencia anfifílica lineal del péptido/peptoide, puede considerarse entonces que el resto no polar tiene $n-2$ aminoácidos. En este caso el resto polar consiste exactamente en dos aminoácidos. En realizaciones en las que el resto polar consiste en dos aminoácidos, el resto polar puede tener una secuencia que se selecciona de entre Asn-Asn, Asp-Asp, Glu-Glu, Gln-Gln, Asn-Gln, Gln-Asn, Asp-Gln, Gln-Asp, Asn-Glu, Glu-Asn, Asp-Glu, Glu-Asp, Gln-Glu, Glu-Gln, Asp-Asn, Asn-Asp, Thr-Thr, Ser-Ser, Thr-Ser, Ser-Thr, Asp-Ser, Ser-Asp, Ser-Asn, Asn-Ser, Gln-Ser, Ser-Gln, Glu-Ser, Ser-Glu, Asp-Thr, Thr-Asp, Thr-Asn, Asn-Thr, Gln-Thr, Thr-Gln, Glu-Thr, Thr-Glu.

La secuencia anfifílica lineal del péptido/peptoide tiene una carga neta a pH fisiológico. La expresión "pH fisiológico" es conocida por los expertos en la técnica para referirse al valor del pH de la sangre, que tiene un valor de pH típicamente de aproximadamente 7,4. En realizaciones en las que la secuencia anfifílica lineal se dispone en el extremo C o N del péptido/peptoide, el extremo respectivo puede proporcionar la correspondiente carga neta. En realizaciones en las que la secuencia anfifílica lineal no se posiciona en el extremo C o N del péptido/peptoide, el resto polar de la secuencia anfifílica lineal incluye uno o más aminoácidos que tienen una cadena lateral con un grupo funcional que está cargado a pH fisiológico. Ejemplos ilustrativos de un grupo funcional respectivo incluyen un grupo amino, nitro-, guanidino, esterilo, sulfonilo o carboxilo. En algunas realizaciones, la carga neta de la secuencia anfifílica lineal es, como carga positiva o negativa, igual o menor que el número de aminoácidos que se incluyen en el resto polar del mismo. En algunas realizaciones la carga neta de la secuencia anfifílica lineal es una de entre -3, -2 o -1. En algunas realizaciones la carga neta de la secuencia anfifílica lineal es +1, +2 o +3.

La cadena lateral polar respectiva de un aminoácido del resto polar, unida al átomo de carbono α del aminoácido (véase anteriormente) y/o el grupo amino del mismo, puede definirse típicamente por una cadena principal que incluye de 1 a aproximadamente 20, incluyendo de 1 a aproximadamente 15, de 1 a aproximadamente 10 o de 1 a aproximadamente 5 átomos de carbono. Por claridad se dice que la expresión "cadena lateral" se utiliza con respecto al armazón del péptido/peptoide. Esta cadena lateral del péptido/peptoide puede estar ramificada y por lo tanto definida por una cadena principal y unas ramificaciones. Tanto la cadena principal como las ramificaciones, si están presentes, de la cadena lateral del péptido y/o peptoide pueden incluir uno o más enlaces dobles o triples (véase anteriormente). Ejemplos de cadenas laterales incluyen, pero no se limitan a, grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, propenilo, propinilo, butilo, butenilo, sec-butilo, tert-butilo, isobutilo, pentilo, neopentilo, isopentilo, pentenilo, hexilo, 3,3 dimetilbutilo, heptilo, octilo, nonilo, o decilo. El grupo polar funcional está unido a esta cadena lateral del péptido y/o peptoide.

En algunas realizaciones, el resto polar de la secuencia anfifílica lineal incluye dos aminoácidos idénticos. Cuando estos aminoácidos son aminoácidos de origen natural, puede definir una de las secuencias Lys-Lys, Gln-Gln, Glu-Glu, Asp-Asp, Asn-Asn, Met-Met, Thr-Thr, Arg-Arg o Ser-Ser. La expresión "de origen natural" en este contexto se refiere a los 20 aminoácidos en los que el código genético se traduce directamente en cualquier organismo. Dichos dos aminoácidos polares idénticos pueden por ejemplo estar adyacentes al resto no polar.

En algunas realizaciones la secuencia anfifílica lineal del péptido/peptoide tiene una cola hidrófoba de aminoácidos alifáticos y al menos uno polar, que incluye un grupo de aminoácidos de cabeza, cargado.

El resto no polar incluye un aminoácido, en general al menos dos aminoácidos, con una cadena de hidrocarburo que no tiene un grupo funcional. La cadena lateral respectiva, acoplada al átomo de carbono α del aminoácido (véase anteriormente), puede tener una cadena principal que incluye de 0 a aproximadamente 20 o de 1 a aproximadamente 20, incluyendo de 0 a aproximadamente 15, de 1 a aproximadamente 15, de 0 a aproximadamente 10, de 1 a aproximadamente 10, de 1 a aproximadamente 5 o de 0 a aproximadamente 5 átomos de carbono. El resto no polar puede por lo tanto incluir un aminoácido sin cadena lateral, es decir, glicina. La cadena lateral del péptido y/o peptoide puede estar ramificada (véase anteriormente) e incluir uno o más enlaces dobles o triples (véase anteriormente). Ejemplos de cadenas laterales del péptido y/o peptoide incluyen, pero no se limitan a, grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, propenilo, propinilo, butilo, butenilo, sec-butilo, tert-butilo, isobutilo, pentilo, neopentilo, isopentilo, pentenilo, hexilo, 3,3 dimetilbutilo, heptilo, octilo, nonilo o decilo. Como algunos ejemplos ilustrativos, el resto no polar puede incluir un aminoácido alanina, valina, leucina, isoleucina, norleucina, norvalina, ácido 2-(metilamino)-iso-butírico, ácido 2-amino-5-hexinoico. Dicho aminoácido puede estar presente en cualquier configuración que se desee. La unión al resto no polar puede ser también en el extremo C o el extremo N del péptido/peptoide. Típicamente el extremo C o el extremo N está en tal caso protegido por un grupo protector (véase

anteriormente).

En algunas realizaciones el resto no polar incluye una secuencia de aminoácidos que está ordenada por tamaño decreciente. Por lo tanto, una parte de los aminoácidos del resto no polar puede estar ordenada en una secuencia general de tamaño decreciente. Con respecto a la dirección desde el extremo N al C esta secuencia general puede considerarse por lo tanto que es de tamaño decreciente. Por la expresión "secuencia general" de tamaño decreciente se quiere decir que están incluidas las realizaciones en las que los aminoácidos adyacentes tienen aproximadamente el mismo tamaño siempre que haya un descenso de tamaño en general. En una secuencia general de tamaño decreciente los aminoácidos del resto no polar en consecuencia son idénticos o menores en la dirección de la secuencia general de tamaño decreciente. En algunas realizaciones la secuencia general de tamaño decreciente es una secuencia no repetitiva.

Como ejemplo ilustrativo, cuando una parte respectiva de aminoácidos es una secuencia de cinco aminoácidos, el primer aminoácido puede tener una cadena lateral 3,4-dimetil-hexilo. El segundo aminoácido puede tener una cadena lateral neopentilo. El tercer aminoácido puede tener una cadena lateral pentilo. El cuarto aminoácido puede tener una cadena lateral butilo. El quinto aminoácido puede ser glicina, es decir que no tenga cadena lateral. Aunque una cadena lateral neopentilo y pentilo tienen el mismo tamaño, la secuencia general de tal parte peptídica no polar disminuye de tamaño. Como un ejemplo ilustrativo adicional de una secuencia general de tamaño decreciente en un resto no polar, la parte no polar respectiva puede ser una secuencia de tres aminoácidos. El primer aminoácido puede tener una cadena lateral n-nonilo. El segundo aminoácido puede tener una cadena lateral 3-etil-2-metil-pentilo. El tercer aminoácido puede tener una cadena lateral tert-butilo. Como un ejemplo ilustrativo adicional de una secuencia general de tamaño decreciente en un resto no polar, el resto no polar puede ser una secuencia de nueve aminoácidos. El primer aminoácido puede tener una cadena lateral 4-propil-nonilo. El segundo aminoácido puede tener una cadena lateral n-dodecilo. El tercer aminoácido puede tener una cadena lateral 6,6-dietil-3-octenilo. Una cadena lateral n-dodecilo y una cadena lateral 6,6-dietil-3-octenilo tienen ambas 12 átomos de carbono y por lo tanto tienen de nuevo un tamaño comparable. Sin embargo, el grupo 6,6-dietil-3-octenilo incluye un enlace carbono-carbono insaturado y por lo tanto tiene un tamaño ligeramente menor que el grupo dodecilo. El cuarto aminoácido puede tener una cadena lateral 2-metil-nonil. El quinto aminoácido puede tener una cadena lateral 3-propil-hexilo. El sexto aminoácido puede tener una cadena lateral n-hexilo. El séptimo aminoácido puede tener una cadena lateral 2-butinilo. El 8º aminoácido puede tener una cadena lateral isopropilo. El noveno aminoácido puede tener una cadena lateral metilo.

Cuando una parte de los aminoácidos del resto no polar ordenados en una secuencia general de tamaño decreciente solamente contiene aminoácidos de origen natural (sean en forma D o L), puede por ejemplo, tener una longitud de cinco aminoácidos, tal como la secuencia leucina-isoleucina-valina-alanina-glicina o isoleucina-leucina-valina-alanina-glicina. Una secuencia general de tamaño decreciente de aminoácidos solamente naturales puede tener también una longitud de cuatro aminoácidos. Ejemplos ilustrativos incluyen las secuencias isoleucina-leucina-valina-alanina, leucina-isoleucina-valina-alanina, isoleucina-valina-alanina-glicina, leucina-valina-alanina-glicina, leucina-isoleucina-alanina-glicina, leucina-isoleucina-valina-glicina, isoleucina-leucina-alanina-glicina o isoleucina-leucina-valina-glicina. Una secuencia general de tamaño decreciente de aminoácidos solamente naturales también puede tener una longitud de tres aminoácidos. Ejemplos ilustrativos incluyen las secuencias isoleucina-valina-alanina, leucina-valina-alanina, isoleucina-valina-glicina, leucina-valina-glicina, leucina-alanina-glicina, isoleucina-alanina-glicina o isoleucina-leucina-alanina. Una secuencia general de tamaño decreciente de aminoácidos solamente naturales puede tener también una longitud de dos aminoácidos. Ejemplos ilustrativos incluyen las secuencias isoleucina-valina, leucina-valina, isoleucina-alanina, leucina-alanina, leucina-glicina, isoleucina-glicina, valina-alanina, valina-glicina o alanina-glicina.

En algunas realizaciones, la dirección del tamaño decreciente de la secuencia general de tamaño decreciente que se ha definido anteriormente está en la dirección hacia el resto polar de la secuencia anfifílica lineal. En consecuencia, en dichas realizaciones el tamaño de aminoácidos adyacentes en esta parte del resto no polar es en consecuencia idéntica o menor en la dirección del resto polar. Por lo tanto, como tendencia general en dicha realización, cuanto más próximo al resto polar de la secuencia anfifílica lineal, menor es el tamaño total de la cadena lateral de un péptido y/o peptoide a lo largo de la respectiva secuencia general de tamaño decreciente. En el ejemplo ilustrativo anterior de una secuencia general de tres aminoácidos con una cadena lateral n-nonil, una 3-etil-2-metil-pentil y una tert-butil, el siguiente aminoácido puede ser uno polar que tiene una cadena lateral del péptido/peptoide con un grupo funcional polar. Como ejemplo ilustrativo, adyacente a la cadena lateral tert-butil del péptido/peptoide puede haber una cadena lateral 3-carboxi-n-butilo.

En algunas realizaciones todo el resto no polar del péptido y/o peptoide anfifílico lineal o la secuencia anfifílica lineal, respectivamente, consiste en la secuencia general de tamaño decreciente. En dicha realización, la secuencia general de tamaño decreciente puede tener una longitud de $n-m$ aminoácidos (cf. anteriormente). En algunas realizaciones la secuencia general de tamaño decreciente está flanqueada por cadenas laterales no polares adicionales del péptido/peptoide. En una realización, la secuencia general de tamaño decreciente tiene una longitud de $n-m-1$ aminoácidos. En dicha realización hay un aminoácido adicional incluido en el péptido/peptoide, proporcionando una cadena lateral no polar del péptido/peptoide. Este aminoácido puede posicionarse entre la secuencia general de tamaño decreciente y el aminoácido polar, el aminoácido polar se puede posicionar entre este aminoácido no polar adicional y la secuencia general de tamaño decreciente o la secuencia general de tamaño

decreciente se puede posicionar entre el aminoácido polar y este aminoácido no polar adicional. Típicamente, la secuencia general de tamaño decreciente se posiciona entre el aminoácido polar y este aminoácido no polar adicional. El aminoácido no polar adicional puede por ejemplo definir el extremo N del péptido/peptoide, que está protegido por un grupo acetilo. Junto con la secuencia general de tamaño decreciente como se ha definido anteriormente se puede definir la parte no polar del péptido/peptoide. El aminoácido polar puede definir el extremo C del péptido/peptoide. En el presente ejemplo la secuencia general de tamaño decreciente está flanqueada por lo tanto por el aminoácido polar en un lado y por el aminoácido no polar adicional en el otro lado. En una realización cuando la realización de la secuencia general de tamaño decreciente tiene una longitud de $n-m-1$ aminoácidos, el aminoácido no polar restante del resto no polar de $n-m$ aminoácidos es uno de entre alanina y glicina.

5
10
15
Como se ha explicado anteriormente, el resto polar de las secuencia anfifílica lineal puede definirse en algunas realizaciones por dos aminoácidos consecutivos. El resto polar incluye m aminoácidos alifáticos. Cada uno de los m aminoácidos alifáticos se selecciona independientemente y tiene un grupo polar que se selecciona independientemente. El símbolo m representa un número entero que se selecciona de entre 1, y 2. El al menos un resto esencialmente no polar (véase anteriormente) en consecuencia tiene un número de $n-m$, es decir $n-1$ o $n-2$ aminoácidos. En algunas realizaciones n es igual o mayor de $m+2$. En dicha realización m puede representar un número de $n-2$ o menor.

20
25
30
35
En una realización en la que el resto no polar completo del péptido y/o peptoide anfifílico lineal consiste en la secuencia general de tamaño decreciente (véase anteriormente), este resto no polar, puede por tanto tener una longitud de $n-2$ aminoácidos. En una realización en la que el péptido y/o peptoide anfifílico lineal tiene una cadena lateral no polar adicional además del resto o polar de tamaño decreciente, esta cadena lateral no polar adicional puede estar incluida en un aminoácido que está unido directamente a un aminoácido de la secuencia general de tamaño decreciente. El resto no polar puede por lo tanto definirse por el resto no polar de tamaño decreciente y el respectivo aminoácido adicional con una cadena lateral no polar. En una dicha realización en la que $m = 1$, el resto no polar puede por lo tanto tener una longitud de $n-2$ aminoácidos, de los cuales el resto no polar de tamaño decreciente tiene una longitud de $n-3$ aminoácidos. La secuencia general de tamaño decreciente se puede posicionar entre los dos aminoácidos polares y este aminoácido no polar adicional, o el aminoácido no polar adicional puede posicionarse entre la secuencia general de tamaño decreciente y los dos aminoácidos polares. Típicamente, la secuencia general de tamaño decreciente se posiciona entre los dos aminoácidos polares y este aminoácido no polar adicional. Como se ha mencionado anteriormente, uno de los dos aminoácidos polares pueden definir el extremo C del péptido/peptoide. En este ejemplo, la secuencia general de tamaño decreciente puede por lo tanto estar flanqueada por los dos aminoácidos polares consecutivos en un lado y por el aminoácido no polar en el otro lado. De nuevo, en algunas realizaciones en las que $m = 1$ los dos aminoácidos polares consecutivos pueden también posicionarse entre la secuencia general de tamaño decreciente y el aminoácido no polar adicional, en cuyo caso el resto no polar tiene una primera parte con una longitud de $n-3$ aminoácidos y una parte adicional de un aminoácido.

40
Las fuerzas electrostáticas, enlaces hidrógeno y fuerzas de van der Waals entre las secuencias anfifílicas lineales como se ha definido anteriormente, incluyendo los péptidos y/o peptoides anfifílicos lineales, dan como resultado que estas secuencias anfifílicas lineales se unan unas a otras. Sin el deseo de quedar ligados por teoría alguna, de este modo se produce un efecto de reticulación que permite la formación de un hidrogel. A este respecto los inventores han observado la formación de estructuras helicoidales que se basan en fibras.

45
50
Las fibras que se forman con las secuencias anfifílicas lineales de los péptidos y/o peptoides anfifílicos de una realización de la invención muestran típicamente una fuerza mecánica alta, que los hace particularmente útiles en aplicaciones de regeneración de tejidos, por ejemplo para la sustitución de tejidos dañados. Se ha observado que los péptidos y/o peptoides anfifílicos de una realización de la invención se ensamblan generalmente en una estructura de fibras que se parece a las fibras de colágeno. El colágeno, un componente del tejido blando del cuerpo animal y del ser humano, es una proteína fibrosa que proporciona la mayoría de la fuerza de tensión del tejido. Se ha descubierto que la fuerza mecánica de las fibras de los péptidos y/o peptoides anfifílicos de una realización de la invención típicamente es mucho más alta que la del colágeno (cf. por ejemplo en las Figuras), de gelatina, la forma hidrolizada del colágeno. Un péptido y/o peptoide anfifílico de una realización de la invención puede incluirse por lo tanto en un hidrogel que se utiliza como una sustitución temporal o prótesis de un tejido dañado o enfermo.

55
Se ha descubierto que la secuencia anfifílica lineal del péptido/peptoide, que puede estar representada por el péptido y/o peptoide anfifílico completo (véase anteriormente) muestra una estabilidad excepcional en condiciones fisiológicas, incluso a elevadas temperaturas. En algunas realizaciones es estable en solución acuosa en condiciones fisiológicas a temperatura ambiente durante periodos de tiempo en el intervalo de 1 día a 1 mes o más. Puede ser estable en algunas realizaciones en solución acuosa en condiciones fisiológicas a 90°C durante al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 3 horas, al menos 4 horas o al menos 5 horas.

60
Una secuencia anfifílica lineal de un péptido y/o peptoide anfifílico de una realización de la invención, que incluye un péptido y/o peptoide anfifílico lineal, es capaz de proporcionar un auto-ensamblaje de fibras α -helicoidales en solución acuosa en condiciones fisiológicas. Los péptidos/peptoides (típicamente 3-7 meros) en forma L o D pueden auto-ensamblarse en fibras helicoidales supramoleculares que se organizan en estructuras tipo malla que imitan sustancias biológicas tales como el colágeno. Se había observado anteriormente por cristalografía por rayos X que

los péptidos de una longitud de 3 a 6 aminoácidos con secuencias que contenían alanina repetitiva y un extremo C acetilado tomaba una conformación helicoidal (Hatakeyama, Y, y col, Angew. Chem. Int. Ed. (2009) 8695-8698). Utilizando péptidos con una secuencia anfifílica de una realización de la invención, AcLD6 (L), la formación de agregados se observa por ejemplo, ya con 0,1 mg/ml. Según aumenta la concentración de péptido a 1 mg/ml, se descubrió que los monómeros peptídicos se alineaban para formar estructuras fibrosas. Con una formación de fibras que se produce en condiciones fisiológicas a concentraciones por debajo de 2 mM un péptido/peptoide de una realización de la invención es muy adecuado como un material inyectable de hidrogel que puede formar un gel en condiciones fisiológicas. Una realización de la invención por lo tanto también se refiere a un péptido y/o peptoide anfifílico lineal como se ha definido anteriormente para la modificación tisular así como para un procedimiento de modificación tisular que implica la aplicación, incluyendo la inyección, de un péptido y/o peptoide anfifílico lineal respectivo.

Un hidrogel de acuerdo con una realización de la presente invención se caracteriza típicamente por una rigidez excepcional y en general es biocompatible y no tóxico. Dependiendo de la secuencia de péptido/peptoide seleccionada estos hidrogeles pueden presentar una respuesta térmica o un carácter tixotrópico. Dependiendo de las condiciones de ensamblaje del péptido/peptoide las fibras se diferencian en espesor y longitud. En general los hidrogeles rígidos que se obtienen son muy adecuados para el cultivo de una variedad de células primarias humanas, proporcionando armazones de péptido/peptoide que pueden ser útiles en la reparación y sustitución de varios tejidos. También se desvela un proceso para preparar estos hidrogeles. Se ha descrito el uso ejemplar de estos hidrogeles en aplicaciones tales como cultivo celular, modificación genética, cirugía plástica, suministro de fármacos, aplicaciones orales, cosmética, empaquetamiento y similares, así como para aplicaciones técnicas, como por ejemplo, para su uso en dispositivos electrónicos que pueden incluir células solares o de combustible.

Como una secuencia anfifílica lineal del péptido/peptoide, un hidrogel de una realización de la invención muestra una alta estabilidad en condiciones fisiológicas, incluso a temperaturas elevadas. En algunas realizaciones dicho hidrogel es estable en solución acuosa a temperatura ambiente durante un periodo de al menos 7 días, al menos 14 días, al menos un mes o más, tal como al menos de 1 a aproximadamente 6 meses.

En algunas realizaciones un hidrogel desvelado en el presente documento se une con una molécula o una partícula, incluyendo un punto cuántico, con una característica espectral o propiedades fluorométricas, tales como un marcador, incluyendo un colorante fluorescente. Una molécula respectiva puede por ejemplo permitir el control del destino, posición y/o integridad del hidrogel.

En algunas realizaciones un hidrogel desvelado en el presente documento se une con una molécula con una afinidad de unión por una molécula diana seleccionada, tal como un microorganismo, una partícula vírica, un péptido, un peptoide, una proteína, un ácido nucleico, un péptido, un oligosacárido, un polisacárido, una molécula inorgánica, un polímero sintético, una molécula orgánica pequeña o un fármaco.

La expresión "molécula de ácido nucleico" como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier ácido nucleico en cualquier configuración posible tal como de cadena sencilla, cadena doble o una combinación de las mismas. Los ácidos nucleicos incluyen por ejemplo, moléculas de ADN (por ejemplo, ADNc, o ADN genómico), moléculas de ARN (por ejemplo, ARNm), análogos de ADN o ARN que se generan utilizando nucleótidos análogos o utilizando química de ácidos nucleicos, moléculas de ácido nucleico bloqueado (LNA), y moléculas de ácido nucleico proteico (PNA). El ADN o ARN puede ser de origen genómico o sintético y puede ser de cadena sencilla o doble. En el presente procedimiento de una realización de la invención típicamente, pero no necesariamente, se utilizará una molécula de ARN o ADN. Dicho ácido nucleico puede ser por ejemplo, ARNm, ARNc, ARN sintético, ADN genómico, ADNc, ADN sintético, un copolímero de ADN y ARN, oligonucleótidos, etc. Un ácido nucleico respectivo puede contener además análogos de nucleótido no naturales y/o se pueden unir a un marcador o una marca de afinidad. En algunas realizaciones la molécula de ácido nucleico puede aislarse, enriquecerse, o purificarse. La molécula de ácido nucleico puede por ejemplo aislarse de una fuente natural por clonación de ADNc o por hibridación sustractiva. La fuente natural puede ser un mamífero, tal como el ser humano, sangre, semen o tejidos. El ácido nucleico puede también sintetizarse, por ejemplo, por el procedimiento triéster o utilizando un sintetizador automático de ADN.

Se conocen muchos análogos de nucleótido y se pueden utilizar en ácidos nucleicos y oligonucleótidos que se utilizan en los procedimientos de realizaciones ejemplares de la invención. Un análogo de nucleótido es un nucleótido que contienen una modificación en por ejemplo, los restos de base, azúcar, o fosfato. Las modificaciones en el resto de base incluyen modificaciones naturales y sintéticas de A, C, G, y T/U, bases purínicas o pirimidínicas diferentes, tales como uracil-5-ilo, hipoxantina-9-ilo, y 2-aminoadenina-9-ilo, así como bases de nucleótido no purínicas o no pirimidínicas. Otros análogos de nucleótido funcionan como bases universales. Las bases universales incluyen 3-nitropirrol y 5-nitroindol. Las bases universales son capaces de formar un par de bases con cualquier otra base. Las modificaciones de base a menudo se pueden combinar por ejemplo con una modificación del azúcar, tal como por ejemplo, 2'-O-metoxietilo, por ejemplo, para conseguir propiedades únicas tales como aumento de estabilidad de dúplex.

Un péptido puede ser de origen sintético o aislarse a partir de una fuente natural por procedimientos bien conocidos en la técnica. La fuente natural puede ser un mamífero, tal como un ser humano, sangre, semen, o tejidos. Un péptido, incluyendo un polipéptido puede sintetizarse por ejemplo, utilizando un sintetizador automático de

polipéptidos. Ejemplos ilustrativos de polipéptidos son un anticuerpo, un fragmento del mismo y una molécula proteínica de unión con funciones tipo anticuerpo. Ejemplo de fragmentos de anticuerpo (recombinantes) son los fragmentos Fab, fragmentos Fv, fragmentos Fv de cadena sencilla (scFv), diacuerpos, triacuerpos (Iliades, P., y col., FEBS Lett (1997) 409, 437-441), decacuerpos (Stone, E., y col., Journal of Immunological Methods (2007) 318, 88-94) y otros dominios de anticuerpo (Holt, L.J., y col., Trends Biotechnol. (2003), 21, 11, 484-490). Un ejemplo de una molécula proteínica de unión con funciones tipo anticuerpo es una muteína basada en un polipéptido de la familia de la lipocalina (documento WO 03/029462, Beste y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1999) 96, 1898-1903). Las lipocalinas, tales como la proteína de unión a bilin, la lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos humanos, la apolipoproteína D humana o glicodelina, poseen sitios de unión al ligando natural que se pueden modificar de manera que se unan a regiones proteicas pequeñas seleccionadas conocidas como haptenos. Ejemplos de otras moléculas proteínicas de unión son las denominadas glucuerpos (véase por ejemplo, la aplicación de patente internacional WO 96/23879), las proteínas basadas en el armazón anquirina (Mosavi, L.K., y col., Protein Science (2004) 13, 6, 1435-1448) o armazón cristalino (por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 01/04144) las proteínas descritas en Skerra, J. Mol. Recognit. (2000) 13, 167-187, AdNectinas, tetranectinas y avimeros. Los avimeros contienen los denominados dominios A que se producen como cordones de múltiples dominios en varios receptores de la superficie celular (Silverman, J., y col., Nature Biotechnology (2005) 23, 1556-1561). Las adnectinas, se derivan de un dominio de fibronectina humano, contienen tres bucles que pueden modificarse para que se unan como inmunoglobulinas a dianas (Gill, D.S. y Damle, N.K., Current Opinion in Biotechnology (2006) 17, 653-658). Las tetranectinas se derivan de la respectiva proteína homotrimérica humana, al igual contiene regiones bucle en un dominio lectina tipo C que se puede modificar para la unión deseada (ibid.). Cuando se desea, se puede utilizar un agente modificado que aumenta adicionalmente la afinidad del respectivo resto por cualquiera o cierta forma, clase, etc. de material diana.

Un ejemplo de una molécula de ácido nucleico con funciones tipo anticuerpo es un aptámero. Un aptámero se pliega en un motivo tridimensional definido y muestra una alta afinidad por una determinada estructura diana. Utilizando técnicas convencionales de la técnica tales como síntesis en fase sólida se puede formar en consecuencia un aptámero con afinidad para cierta diana y se puede inmovilizar en una partícula hueca de una realización de la invención.

Como un ejemplo ilustrativo adicional, se puede utilizar un resto de unión tal como un marcador de afinidad para inmovilizar la molécula respectiva. Dicho resto de unión puede ser una molécula, por ejemplo, una molécula basada en hidrocarburo (incluyendo poliméricos) que incluyen un grupo nitrógeno, fósforo, sulfuro, carbeno, halógeno, o seudohalógeno, o una parte de los mismos. Como un ejemplo ilustrativo, el péptido/peptidoide que está incluido en el hidrogel puede incluir grupos funcionales, por ejemplo en una cadena lateral del péptido/peptidoide, que permite la unión covalente de una biomolécula, por ejemplo, una molécula tal como una proteína, una molécula de ácido nucleico, un polisacárido o cualquier combinación de los mismos. Se puede proporcionar un grupo funcional respectivo en forma escudada, protegido por un grupo protector que se puede liberar en las condiciones que se deseen. Ejemplos de un respectivo grupo funcional incluyen, pero no se limitan a, un grupo amino, un grupo aldehído, un grupo tiol, un grupo carboxilo, un grupo éster, un anhídrido, un sulfonato, un éster sulfonato, un éster imido, un silil halido, un epóxido, una aziridina, una fosforamida y un diazoalcano.

Ejemplos de un marcador de afinidad incluyen pero no se limitan a, biotina, dinitrofenol o digoxigenina, oligohistidina, polihistidina, un dominio inmunoglobulina, una proteína de unión a maltosa, glutatión-S-transferasa (GST), péptido de unión a calmodulina (CBP), péptido-FLAG', el epítipo T7 (Ala-Ser-Met-Thr-Gly-Gly-Gln-Gln-Met-Gly), proteína de unión a maltosa (MBP), el epítipo HSV de la secuencia Gln-Pro-Glu-Leu-Ala-Pro-Glu-Asp-Pro-Glu-Asp de la glucoproteína D del virus del herpes simple, el epítipo de hemaglutinina (HA) de secuencia Tyr-Pro-Tyr-Asp-Val-Pro-Asp-Tyr-Ala, el epítipo "myc" del factor de transcripción c-myc de secuencia Glu-Gln-Lys-Leu-Ile-Ser-Glu-Glu-Asp-Leu, o un marcador oligonucleotídico. Dicho marcador oligonucleotídico puede por ejemplo utilizarse para hibridarse con un oligonucleótido inmovilizado con una secuencia complementaria. Un ejemplo más de un resto de unión es un anticuerpo, un fragmento del mismo o una molécula proteínica de unión con funciones de anticuerpo (véase también anteriormente).

Un ejemplo más de resto de unión es un cucurbituril o un resto capaz de formar un complejo con un cucurbituril. Un cucurbituril es un compuesto macrocíclico que incluye unidades de glucoluril, típicamente auto-ensamblados por una reacción de condensación catalizada por un ácido de glucoluril y formaldehído. Un cucurbit[n]uril (CB[n]), que incluye *n* unidades de glucoluril, típicamente tiene dos portales con grupos carbonil ureido polar. Por medio de estos grupos carbonil ureido los cucurbiturilos pueden unirse a iones y moléculas de interés. Como ejemplo ilustrativo el cucurbit[7]uril (CB[7]) puede formar un fuerte complejo con iones ferrocenometilamonio o adamantilamonio. El cucurbit[7]uril o por ejemplo el ferrocenometilamonio puede unirse a una biomolécula, mientras que la pareja de unión restante (por ejemplo el ferrocenometilamonio o cucurbit[7]uril respectivamente) se puede unir a una superficie seleccionada. El contacto de la biomolécula con la superficie dará lugar entonces a la inmovilización de la biomolécula. Se ha demostrado que las unidades CB[7] funcionalizadas unidas a una superficie de oro por medio de alcanotiolatos, por ejemplo, producen la inmovilización de una proteína que tiene una unidad ferrocenometilamonio (Hwang, I., y col., J. Am. Chem. Soc. (2007) 129, 4170-4171).

Más ejemplos de un resto de unión incluyen, pero no se limitan a un oligosacárido, un oligopéptido, biotina, dinitrofenol, digoxigenina y un quelante metálico (véase también posteriormente). Como un ejemplo ilustrativo, se

puede utilizar un quelante metálico respectivo, tal como etilendiamina, ácido etilendiaminatetraacético (EDTA), ácido etileno glicol tetraacético (EGTA), ácido dietilentriamina pentaacético (DTPA), N,N-bis (carboximetil) glicina (también llamado ácido nitrilotriacético, NTA), ácido 1,2-bis (o-aminofenoxi) etano-N,N,N',N'-tetraacético (BAPTA), 2,3-dimercapto-1-propanol (dimercaprol), porfina o hemo en los casos en que la molécula diana es un ion metálico.

5 Como ejemplo, el EDTA forma un complejo con la mayoría de iones metálicos monovalentes, divalentes, trivalentes y tetravalentes, tales como por ejemplo, plata (Ag^+), calcio (Ca^{2+}), manganeso (Mn^{2+}), cobre (Cu^{2+}), hierro (Fe^{2+}), cobalto (Co^{3+}) y zirconio (Zr^{4+}), mientras que BAPTA es específico de Ca^{2+} . En algunas realizaciones un quelante metálico respectivo en un complejo con un respectivo ion metálico o iones metálicos definen el resto de unión. Dicho complejo es por ejemplo una molécula receptora para un péptido de secuencia determinada, que puede incluirse
10 también en una proteína. Como ejemplo ilustrativo, un procedimiento convencional que se utiliza en la técnica es la formación de un complejo entre un marcador oligohistidina e iones de cobre (Cu^{2+}), níquel (Ni^{2+}), cobalto (Co^{2+}), o zinc (Zn^{2+}), que se presentan por medio del quelante ácido nitriloacético (NTA).

Se pueden emplear avidina o estreptavidina por ejemplo para inmovilizar un ácido nucleico biotinilado, o se puede emplear una biotina que contiene una monocapa de oro (Shumaker-Parry, J.S., y col., Anal. Chem. (2004) 76, 918).
15 Como otro ejemplo ilustrativo más, se puede depositar localmente la biomolécula, por ejemplo, por microscopía electroquímica de barrido, por ejemplo por medio de patrones pirrol-oligonucleótido (por ejemplo, Fortin, E., y col., Electroanalysis (2005) 17, 495). En otras realizaciones, en particular en las que la biomolécula es un ácido nucleico, la biomolécula se puede sintetizar directamente en la superficie de la unidad de inmovilización, por ejemplo, utilizando la fotoactivación o la desactivación. Como ejemplo ilustrativo, la síntesis de ácidos nucleicos u oligonucleótidos en áreas de superficie seleccionadas (denominada síntesis de "fase sólida") se puede llevar a cabo utilizando reacciones electroquímicas utilizando electrodos. Se puede emplear, por ejemplo, una etapa de desbloqueo electroquímico como describen Egeland y Southern (Nucleic Acids Research (2005) 33, 14, e125) para este fin. Una síntesis electroquímica adecuada también se desvela en la Solicitud de patente de EE. UU. US 2006/0275927. En algunas realizaciones, se puede llevar a cabo la síntesis dirigida por luz de una biomolécula, en
20 particular de una molécula de ácido nucleico, que incluye la unión UV o la desprotección 5' dependiente de luz.

La molécula que tiene una afinidad de unión para una molécula diana seleccionada se puede inmovilizar en nanocristales por cualquier medio. Como ejemplo ilustrativo, un oligo o polipéptido, que incluye un resto respectivo, se puede unir covalentemente a la superficie de nanocristales por medio de un enlace tioéter, por ejemplo utilizando tioles ω funcionalizados. Puede utilizarse cualquier molécula adecuada que sea capaz de unir un nanocristal de una
30 realización de la invención a una molécula que tenga una afinidad de unión seleccionada para inmovilizar la misma en el nanocristal. Por ejemplo, se puede utilizar un agente de unión (bifuncional) tal como etil-3-dimetilaminocarbodiimida, 3-aminopropil-trimetoxisilano, 3-mercaptopropil-trimetoxisilano, 3-(trimetoxisilil) propil-maleimida, o 3-(trimetoxisilil) propil-hidrazida. Antes de la reacción con el agente de unión, la superficie de los nanocristales se puede modificar, por ejemplo tratándola con ácido mercaptoacético glacial, con el fin de generar
35 grupos mercaptoacético libres que puedan emplearse entonces para unirse covalentemente con un analito como pareja de unión por medio de agentes de unión.

Las realizaciones de la presente invención también incluyen un hidrogel, que se puede considerar que es un material polimérico insoluble en agua que se hincha con agua. El hidrogel incluye, incluyendo contiene y consiste en, un péptido y/o peptoide como se ha definido anteriormente. Como un hidrogel mantiene una estructura tridimensional,
40 un hidrogel de una realización de la invención se puede utilizar para una variedad de aplicaciones. Como el hidrogel tiene un alto contenido en agua e incluye aminoácidos, tiene típicamente una biocompatibilidad excelente.

Un hidrogel de acuerdo con una realización de la invención típicamente se forma por auto-ensamblaje. Los inventores han observado que los péptidos/peptoides se ensamblan en fibras que forman estructuras tipo malla. Sin el deseo de quedar ligados por teoría alguna se contempla que la interacción hidrófoba entre las partes no polares
45 de los péptidos/peptoides de una realización de la invención ayuda dicho proceso de auto-ensamblaje.

El procedimiento de formación del hidrogel incluye disolver el péptido/peptoide en solución acuosa. Se puede emplear el agitado, que incluye el mezclado tal como con agitado, y/o sonicación para facilitar la disolución del péptido/peptoide. En algunas realizaciones la solución acuosa con el péptido/peptoide en ella se expone a una temperatura por debajo de la temperatura ambiente, tal como una temperatura que se selecciona desde
50 aproximadamente 2°C a aproximadamente 15°C . En algunas realizaciones la solución acuosa con el péptido/peptoide en ella se expone a una temperatura elevada, es decir una temperatura por encima de la temperatura ambiente. Típicamente se permite que la solución acuosa alcance la temperatura a la que se expone. La solución acuosa se puede exponer, por ejemplo, a una temperatura de aproximadamente 25°C a 85°C o más, tal como de aproximadamente 25°C a aproximadamente 75°C , de aproximadamente 25°C a aproximadamente
55 70°C , de aproximadamente 30°C a aproximadamente 70°C , de aproximadamente 35°C a aproximadamente 70°C , de aproximadamente 25°C a aproximadamente 60°C , de aproximadamente 30°C a aproximadamente 60°C , de aproximadamente 25°C a aproximadamente 50°C , de aproximadamente 30°C a aproximadamente 50°C o de aproximadamente 40°C a aproximadamente 65°C , tal como, por ejemplo, una temperatura de aproximadamente 40°C , aproximadamente 45°C , aproximadamente 50°C , aproximadamente 55°C , aproximadamente 60°C o
60 aproximadamente 65°C . La solución acuosa con el péptido/peptoide en ella puede mantenerse a esta temperatura durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 10 horas o más, tal como de aproximadamente 10 min a aproximadamente 6 horas, de aproximadamente 10 min a aproximadamente 4 horas, de aproximadamente 10 min a

aproximadamente 2,5 horas, de aproximadamente 5 min a aproximadamente 2,5 horas, de aproximadamente 10 min a aproximadamente 1,5 horas o de aproximadamente 10 min a aproximadamente 1 hora, tal como aproximadamente 15 min, aproximadamente 20 min, aproximadamente 25 min, aproximadamente 30 min, aproximadamente 35 min o aproximadamente 40 min.

- 5 Un hidrogel de acuerdo con una realización de la invención puede incluirse en una célula de combustible, en la que puede por ejemplo, proporcionar un sustrato entre el ánodo y el cátodo. Un electrolito líquido puede estar englobado en el hidrogel. Al igual, un hidrogel de acuerdo con una realización de la invención puede proporcionar un sustrato entre dos electrodos en un aparato de electroforesis. El hidrogel puede ser también un conductor. El hidrogel puede servir también para aumentar la eficacia de estados de cargas separadas y/o enlentecer la recombinación de cargas. El hidrogel, por lo tanto, se puede aplicar en cualquier forma de fotovoltaica incluyendo una célula solar.

10 En algunas realizaciones un hidrogel desvelado en el presente documento es un hidrogel biocompatible, incluyendo uno farmacéuticamente aceptable. El término "biocompatible" (al que también se hace referencia como "compatible tisular"), como se utiliza en el presente documento, es un hidrogel que produce una pequeña, si acaso, respuesta biológica cuando se utiliza *in vivo*. El término, por lo tanto, se refiere en general a la incapacidad de un hidrogel para promover una respuesta biológica mediblemente adversa en una célula, que se incluye en el cuerpo de un animal, que incluye el ser humano. Un hidrogel biocompatible puede tener una o más de las siguientes propiedades: no tóxico, no mutagénico, no alergénico, no carcinogénico, y/o no irritante. Un hidrogel biocompatible, en fin, puede ser inocuo y ser tolerado por la respectiva célula y/o cuerpo. Un hidrogel biocompatible, por sí mismo, puede mejorar también una o más funciones del cuerpo.

20 Dependiendo de los aminoácidos que estén incluidos en el péptido/peptoide que está incluido en un hidrogel, un hidrogel respectivo puede ser biodegradable. Un hidrogel biodegradable se desintegra gradualmente o se absorbe *in vivo* durante un periodo de tiempo, por ejemplo, en meses o años. La desintegración puede producirse, por ejemplo, por medio de hidrólisis, puede catalizarse por una enzima y puede estar asistida por condiciones en las que el hidrogel se expone en un cuerpo animal o humano, que incluye un tejido, un vaso sanguíneo o una célula del mismo. Cuando un péptido se compone completamente de aminoácidos naturales, un péptido respectivo puede habitualmente ser degradado por enzimas del cuerpo humano/animal.

30 Un hidrogel de acuerdo con una realización de la invención puede servir también como un depósito para un compuesto farmacéuticamente activo tal como un fármaco. Un hidrogel de acuerdo con una realización de la invención puede diseñarse para imitar la matriz extracelular natural de un organismo tal como del cuerpo humano o animal. Una fibra formada a partir del péptido/peptoide de una realización de la invención, que incluye un respectivo hidrogel puede funcionar como un almacén biológico. Un hidrogel de una realización de la invención se puede incluir en un implante, en lentes de contacto o se puede utilizar en modificación tisular. En una realización, los péptidos consisten típicamente en 3-7 aminoácidos y son capaces de auto-ensamblarse en armazones fibrosos complejos que se ven como hidrogeles, cuando se disuelven en agua o una solución acuosa. Estos hidrogeles pueden retener hasta un 99,9 % de agua y poseen una fuerza mecánica suficientemente alta. Por lo tanto, estos hidrogeles pueden actuar como sustitutos artificiales para una variedad de tejidos naturales sin el riesgo de inmunogenicidad. Los hidrogeles de acuerdo con la presente invención se pueden utilizar para cultivar células primarias adecuadas y por lo tanto establecen un compuesto de matriz celular inyectable con el fin de implantar o reimplantar la matriz celular recién formada *in vivo*. Por lo tanto, los hidrogeles de acuerdo con la presente invención son particularmente útiles para aplicaciones de regeneración tisular o modificación tisular. Como se utiliza en el presente documento, una referencia a un "implante" o "implantación" se refiere a los usos y aplicaciones para implantación quirúrgica o artroscópica de un dispositivo que contiene hidrogel en un ser humano o animal, por ejemplo, un mamífero, cuerpo o extremidad. Las técnicas artroscópicas se consideran en el presente documento como un subgrupo de técnicas quirúrgicas, y cualquier referencia a cirugía, quirúrgico, etc., incluye las técnicas, procedimientos y dispositivos artroscópicos. Un implante quirúrgico que incluye un hidrogel de acuerdo con una realización de la invención puede incluir un almacén de péptido y/o peptoide. Este almacén de péptido y/o peptoide puede definirse por el respectivo hidrogel. Un hidrogel de una realización de la invención también se puede incluir en un recubrimiento de heridas tal como una gasa o lámina, que sirve para mantener la herida en un estado húmedo para promover la cicatrización.

50 Dependiendo de la secuencia de aminoácidos que se utiliza en el péptido/peptoide, el hidrogel puede ser termosensible. Puede por ejemplo, tener una temperatura crítica de solución más baja o un intervalo de temperaturas que se corresponde con dicha temperatura de solución crítica más baja, más allá de la cual, el gel se colapsa por liberación de los enlaces hidrógeno con las moléculas de agua y se liberan las moléculas de agua del gel.

55 La materia objeto desvelada también proporciona péptidos y/o peptoides anfifílicos quirales basados en la naturaleza que se ensamblan en hidrogeles de péptido/peptoide con propiedades de material muy favorables. La ventaja de estos hidrogeles de péptido/peptoide es que son aceptados por una variedad de células humanas primarias, proporcionando por lo tanto armazones peptídicos que pueden ser útiles en la reparación y sustitución de varios tejidos. Dependiendo de la quiralidad del monómero peptídico el carácter de los hidrogeles puede diseñarse para que sean más estables o menos proclives a la degradación aunque siendo aún biocompatibles.

60

- Un hidrogel y/o un péptido/peptoide descritos en el presente documento se puede administrar a un organismo incluyendo un paciente humano per se, o en composiciones farmacéuticas en las que se puede incluir o mezclarse con principios farmacéuticamente activos o vehículos o excipientes adecuados. Las técnicas de formulación y administración de los hidrogeles o los péptidos/peptoides respectivos se parecen o son idénticos a los compuestos de bajo peso molecular bien establecidos en la técnica. Las vías ejemplares incluyen, pero no se limitan al suministro oral, transdérmico, y parenteral. Un hidrogel o un péptido/peptoide se pueden utilizar para rellenar una cápsula o tubo, o se puede proporcionar en forma comprimida como un microgránulo. El péptido/peptoide o el hidrogel pueden utilizarse también en forma inyectable o de pulverizador, por ejemplo, como una suspensión de un respectivo péptido/peptoide.
- Un hidrogel de una realización de la invención puede aplicarse por ejemplo en la piel o en una herida. Además las vías de administración adecuadas pueden incluir, por ejemplo, el depósito, la oral, rectal, transmucosa, o la administración intestinal; el suministro parenteral, que incluye inyecciones intramusculares, subcutáneas, intravenosas, intramedulares, así como inyecciones intratecales, intraventriculares directas, intraperitoneales, intranasales, o intraoculares. Se señala a este respecto que para la administración de micropartículas no se necesita un procedimiento quirúrgico. Cuando las micropartículas incluyen un polímero biodegradable no es necesario retirar el dispositivo tras la liberación del agente anti-cáncer. Sin embargo, las micropartículas pueden incluirse en o sobre un armazón, un revestimiento, un parche, material compuesto, un gel o un emplasto.
- En algunas realizaciones se puede administrar un hidrogel y/o un péptido/peptoide de manera local mejor que sistémica, por ejemplo, por medio de inyección.
- Las composiciones farmacéuticas que incluyen un hidrogel y/o un péptido/peptoide de una realización de la presente invención se pueden fabricar de manera que se conoce en sí misma, por ejemplo, por medio de procesos de mezclado convencional, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulación, atrapamiento o liofilización.
- Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con una realización de la presente invención se pueden formular por lo tanto de manera convencional utilizando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que incluyen excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento del hidrogel y/o el péptido/peptoide en preparaciones que pueden utilizarse farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración que se elija.
- Para inyección, el péptido/peptoide de una realización de la invención puede formularse en soluciones acuosas, por ejemplo en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hanks, solución de Ringer, o tampón salino fisiológico. Para la administración transmucosa se utilizan en la formulación, penetrantes apropiados para la barrera que se tiene que atravesar. Tales penetrantes se conocen en general en la técnica.
- Para la administración oral, el hidrogel y/o el péptido/peptoide se puede formular fácilmente combinándolos con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Dichos vehículos hacen posible que el hidrogel y/o el péptido/peptoide, así como un compuesto farmacéuticamente activo, se formule como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por un paciente al que se va a tratar. Las preparaciones farmacéuticas para su uso oral se pueden obtener añadiendo un excipiente sólido, moliendo opcionalmente la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después añadir los auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o centros de gragea. Los excipientes adecuados son en particular, cargas tales como azúcares, que incluyen lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropil-celulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea se pueden añadir agentes desintegrantes, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar, o ácido algínico o una sal del mismo tal como el alginato sódico.
- Los centros de gragea se proporcionan con revestimientos adecuados. Para este fin se pueden utilizar soluciones concentradas de azúcar, que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, soluciones laqueantes, y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. Se pueden añadir colorantes o pigmentos a los comprimidos o revestimientos de gragea para la identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis del compuesto activo.
- Las preparaciones farmacéuticas que se pueden utilizar por vía oral incluyen cápsulas de ajuste a presión hechas de gelatina, así como cápsulas selladas, blandas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste a presión pueden contener los principios activos en una mezcla con una carga tal como lactosa, aglutinantes tal como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato magnésico y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los péptidos/peptoides pueden estar suspendidos en líquidos adecuados tales como aceites, parafina líquida, o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden añadir estabilizantes. Todas las formulaciones para la administración oral deberían estar en dosificaciones adecuadas para dicha administración. Para la administración bucal, las composiciones pueden tener forma de comprimido o pastillas para chupar que se formulan de manera convencional.

5 El hidrogel y/o el péptido/peptide pueden formularse para su administración parenteral por inyección, por ejemplo, por inyecciones intramusculares o por inyección en embolada o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas, o en envases multi-dosis, con un conservante añadido. Las composiciones respectivas pueden tener dichas formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes suspensores, estabilizantes y/o dispersantes.

El hidrogel y/o el péptido/peptide pueden formularse para otros sistemas de suministro de fármacos como implantes o parches transdérmicos o estents.

Ejemplos

10 Se han llevado a cabo experimentos para ilustrar los aspectos técnicos de las realizaciones ejemplares de la presente invención. Los siguientes ejemplos se describen en los Procedimientos Experimentales y Resultados. El experto reconocerá fácilmente que los ejemplos pretenden ser ilustrativos y no pretenden limitar el ámbito de la presente invención.

Procedimientos experimentales y resultados

15 Péptidos

Las secuencias peptídicas se diseñaron para representar una estructura peptídica anfifílica que contenía un grupo de cabeza hidrófilo y una cola hidrófoba. El razonamiento para el diseño de péptidos era crear un monómero peptídico de tamaño decreciente que se parece a una estructura con forma de cono. La cola hidrófoba se diferencia utilizando diferentes aminoácidos alifáticos. Consiste en los siguientes aminoácidos alifáticos tales como glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina y el grupo de cabeza hidrófilo consiste en uno o dos aminoácidos polares o cargados. El orden de la secuencia de la cola hidrófoba se diferencia utilizando diferentes aminoácidos alifáticos. Los péptidos se sintetizaron comercialmente en GL Biochem, Shanghai, China. Con el fin de verificar la reproductibilidad de los péptidos con un comportamiento formador de hidrogel peptídico también se sintetizaron en otras compañías (Biomatik Corp., Anaspec, Inc, USA). Los péptidos tenían una pureza igual o mayor al 95 % verificada por cromatografía líquida de altas prestaciones (HPLC) y espectrometría de masas. Las soluciones peptídicas de materia prima se disolvieron en agua a 5 a 10 mg/ml. La mayoría de los péptidos estaban acetilados en el extremo N.

Preparación del hidrogel basado en péptidos

30 Todos los péptidos (GL Biochem, Shanghai, China, pureza ≥ 98 %) se prepararon recientemente con el fin de evitar la agregación peptídica prematura. Los péptidos se disolvieron en agua y se dejaron a temperatura ambiente para que formaran hidrogeles. Dependiendo de la concentración de péptido, el proceso de auto-ensamblaje se producía inmediatamente, en horas o incluso en días (marco de tiempo experimental para la gelación). Para las concentraciones de péptidos más altas se disolvieron en agua miliQ removiendo. Si se necesitaba una preparación de hidrogel forzada y acelerada, la solución de péptido se sometía a sonicación en un baño de agua (Barnstead Labline 9319 UltrasonicLC60H). No se observaron diferencias estructurales significativas entre los hidrogeles producidos por medio de auto-ensamblaje y aquellos en los que se facilitaba el ensamblaje por sonicación. Unos pocos péptidos formaban hidrogeles más fácilmente a temperaturas elevadas, es decir a 50°C .

40 Para estudiar el efecto de la variación de concentración, tanto el hidrogel AcLD₆ (L) como el AcID3 (L) se prepararon con una concentración variable como se ha especificado anteriormente. Para estudiar el efecto de los cationes monovalentes y divalentes, los hidrogeles AcLD₆ (L) se prepararon disolviendo el péptido en soluciones de 10, 50, 100 y 150 mM de NaCl y CaCl₂. Los estudios de FESEM y reología se llevaron a cabo adicionalmente para caracterizar la morfología y fuerza de estos hidrogeles.

45 Preparación de geles de gelatina y colágeno: Los hidrogeles de gelatina (Tipo A, G1890; Sigma Aldrich) se prepararon primero disolviendo la gelatina en agua miliQ calentando y enfriando a continuación hasta que se observaba la gelación. El colágeno (Tipo I de bovino, Advanced Biomatrix, USA) se diluyó con tampón PBS a una concentración de 1,5 mg/ml y se tituló a pH 7,4 utilizando NaOH 0,1 M. Se consiguió la gelación incubando la solución a 37°C durante 1 hora.

Espectroscopia de dicroísmo circular (CD)

50 Las estructuras peptídicas secundarias se analizaron midiendo el espectro de elipticidad utilizando el Espectrofotómetro de Dicroísmo Circular Aviv, modelo 410. Las muestras de CD se prepararon diluyendo las soluciones peptídicas de materia prima (5-10 mg/ml) en agua. Las soluciones de péptidos diluidos se vertieron en una cubeta con una longitud de ruta y se adquirió el espectro. Como blanco de referencia se utilizó agua y la referencia se restó de los datos brutos antes de calcularse la elipticidad molar. El cálculo se basaba en la fórmula: $[\theta]_{\lambda} = \theta_{\text{obs}} \times 1/(10 \text{ Lcn})$, en la que $[\theta]_{\lambda}$ es la elipticidad molar a λ en $\text{grad cm}^2/\text{dmol}$, es la elipticidad que se observa a $\square\lambda$ en mgrad, L es la longitud de ruta en cm, c es la concentración del péptido en M, y n es el número de aminoácidos en el péptido. El análisis de la estructura secundaria se hizo utilizando el software CDNN.

Microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM)

Las muestras se colocaron en un porta-muestras del microscopio electrónico de barrido ambiental Quanta 200 FEI. La superficie de interés se examinó entonces utilizando un acelerador de tensión de 10 kV a una temperatura de 4 ° C.

5 **Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM)**

Las muestras se congelaron a -20 ° C y posteriormente a -80 ° C. Las muestras congeladas se secaron por congelación adicionalmente. Las muestras secadas por congelación se fijaron en un porta muestras utilizando cinta conductora y metalizando por bombardeo con platino tanto desde arriba como desde los lados en un Cobertor bombardero de alta resolución JFC-1600. La corriente de revestimiento que se utilizó era de 30 mA y el proceso se mantuvo durante 60 seg. La superficie de interés se examinó entonces con el sistema de microscopía electrónica de barrido con emisión de campos JEOL JSM-7400F utilizando una aceleración de tensión de 5-10 kV.

Mediciones reológicas

Para determinar las propiedades viscoelásticas de los hidrogeles basados en péptidos, se sometieron los hidrogeles a experimentos de barrido de frecuencia y tensión en tiempo dinámico utilizando el reómetro ARES-G2 (TA Instruments, Piscataway, NJ) con geometría de placa paralela de titanio de 25,0 mm de diámetro y una distancia de hueco de 0,8 mm. El estudio de frecuencia oscilatoria se llevó a cabo para comparar la fuerza del hidrogel basado en un péptido con concentraciones variables de péptidos, o para el péptido en presencia de iones monovalentes o divalentes. Los estudios de barrido de frecuencia oscilatoria se llevaron a cabo a 0,1-100 rad/s y un 0,1 % de tensión a 25 ° C y 50 ° C.

20 **[A] Ac-LD₆ [L]:**

Secuencia peptídica: Ac-LIVAGD-COOH

Peso molecular: 629,56

(1) Temperatura del estudio de barrido para Ac-LD₆ (L):

25 (a) La mezcla peptídica se colocó entonces en la placa inferior del reómetro. Se optimizaron los siguientes parámetros:

Hueco entre dos placas: 1 mm
Tensión: 10 %
Frecuencia: 6,28 rad/seg
Temperatura de exploración: 4 ° C a 60 ° C
30 Volumen de muestra: 500 µl

(2) Estudio de barrido de frecuencia para Ac-LD₆ (L):

Parámetros optimizados necesarios para llevar a cabo el estudio de barrido de frecuencia

35 Hueco entre dos placas: 0,8 mm
Tensión: 0,1 %
Temperatura de exploración: 25 y 50 ° C
Volumen de muestra: 1 ml
Frecuencia de exploración: 0,1 rad/seg a 100 rad/seg
Concentración de Ac-LD-6 (L) en el hidrogel: 10 mg/ml

(3) Efecto de la variación de concentración de Ac-LD₆ (L) sobre la fuerza del gel:

40 Los parámetros optimizados necesarios para llevar a cabo los estudios de barrido de frecuencia para medir la fuerza del gel son los siguientes:

45 Hueco entre dos placas: 0,8 mm
Tensión: 0,1 %
Temperatura de exploración: 25 y 50 ° C
Volumen de muestra: 1 ml
Frecuencia de exploración: 0,1 rad/seg a 100 rad/seg
Concentración de Ac-LD-6 (L) en los hidrogeles: 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml y 30 mg/ml en agua.

(4) Efecto del cloruro sódico (NaCl) sobre la fuerza de Ac-LD₆ (L):

50 El efecto del cloruro sódico sobre hidrogeles basados en Ac-LD₆ (L), se estudió llevando a cabo el estudio de barrido de frecuencia en hidrogeles preparados por dispersión de 10 mg de Ac-LD₆ (L) en concentraciones

variables de una solución de NaCl por ejemplo 10 mM, 50 mM, 100 mM y 150 mM de NaCl en solución utilizando un procedimiento optimizado para formar hidrogeles. Los parámetros optimizados necesarios para llevar a cabo el estudio de barrido de frecuencia para medir la fuerza del gel en presencia de NaCl eran los siguientes:

- 5 Hueco entre dos placas: 0,5 mm y 0,8 mm
- Tensión: 10 % y 0,1 % respectivamente
- Temperatura de exploración: 25 y 50 ° C
- Volumen de muestra: 1 ml
- Frecuencia de exploración: 0,1 rad/seg a 100 rad/seg
- 10 Concentraciones de las soluciones de NaCl utilizadas para preparar 10 mg/ml de hidrogeles Ac-LD6 (L): 10 mM, 50 mM, 100 mM, 150 mM de solución de NaCl.

Experimentos de crecimiento celular

15 Con el fin de descubrir si los hidrogeles peptídicos pueden servir como almacén para modificación tisular, se investigó su biocompatibilidad. Se sembraron diferentes células primarias humanas encima del hidrogel tras su gelación en medio de cultivo tisular (DMEM sin suero) en placas de cultivo de 6 pocillos, 24 pocillos o 96 pocillos, véase las condiciones de cultivo posteriormente. Durante los siguientes 2-4 días no fue necesario ningún cambio de medio, pero eventualmente se añadió medio recién preparado a los pocillos. Las células se analizaron en cuanto a viabilidad.

20 Se obtuvieron células primarias humanas del túbulo renal proximal (HPTC) y células primarias endoteliales de la vena umbilical (HUVEC) en ScienCell Research Laboratories (Carlsbad, CA, USA). Las HPTC se cultivaron en medio celular epitelial basal suplementado con un 2 % de suero bovino fetal (FBS) y un 1 % de suplemento de cultivo de células epiteliales (todos los componentes se obtuvieron en ScienCell Research Laboratories). El medio de cultivo para HUVEC era medio celular endotelial que contenía un 5 % de FBS y un 1 % de suplemento de cultivo celular endotelial (ScienCell Research Laboratories). Todos los medios de cultivo que se utilizaron se suplementaron

25 con un 1 % de solución de penicilina/estreptomina (ScienCell Research Laboratories), y todas las células se cultivaron a 37 ° C en una atmósfera de CO₂ al 5 %. La densidad de siembra de las células era aproximadamente de 5 x 10⁴ células/cm². Sin embargo aunque las HUVEC eran mayores que las HPTC el número de células era ligeramente más bajo que el de las células HTPC (~ 4,5 x 10⁴ células/cm²). Ambos tipos de células tenían una confluencia de aproximadamente el 80 % en los pocillos tras la siembra.

30 El listado o tratado de un documento publicado previamente en la presente memoria descriptiva no se debe considerar necesariamente como un reconocimiento de que el documento es parte del estado de la técnica o es de conocimiento general común.

35 Las realizaciones ejemplares de la invención que se describen de manera ilustrativa en el presente documento pueden practicarse adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, que no se desvelan específicamente en el presente documento. Por lo tanto, por ejemplo, las expresiones “que comprende”, “que incluye”, “que contiene”, etc. se deberán leer de manera expansiva y sin limitación. Adicionalmente, los términos y expresiones que se emplean en el presente documento se han utilizado en términos de descripción y no de limitación, y no hay intención en el uso de dichos términos y expresiones de excluir cualquier

40 equivalente de las características que se muestran y describen o partes de las mismas, sino que se reconoce que distintas modificaciones son posibles dentro del alcance de la invención reivindicada. Por lo tanto, debería entenderse que aunque la presente invención se ha desvelado específicamente por las realizaciones ejemplares y las características opcionales, los expertos en la técnica pueden recurrir a modificaciones y variaciones de las invenciones ejemplares que se desvelan de ellas en el presente documento, y que dichas modificaciones y variaciones se consideran que están dentro del alcance de la presente invención.

45 La invención se ha descrito ampliamente y de manera general en el presente documento. Cada una de las especies y agrupamientos subgenéricos más estrechos que se encuentran en la divulgación genérica también forman parte de la invención. Esto incluye la descripción genérica de la invención con la condición o limitación negativa de que se elimine cualquier materia objeto del género, independientemente de si el material eliminado o no se declara específicamente en el presente documento.

50 Otras realizaciones están en las siguientes reivindicaciones. Además, cuando las características o aspectos de la invención se describen en términos de grupos Markush, los expertos en la técnica reconocerán que la invención también se describe de este modo en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo Markush.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 55 <110> Agency for Science, technology and Research
- <120> Péptido/peptide anfílico lineal y un hidrogel que comprende el mismo

<130> A31640PCT

<160> 42

5 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Forma L

15 <400> 1

Leu Ile Val Ala Gly Asp Asp
1 5

<210> 2

20 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Forma L

<400> 2

Leu Ile Val Ala Gly Asp
1 5

30 <210> 3

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Forma D

<400> 3

40 <210> 3

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Forma L

<400> 4

Ala Ile Val Ala Gly Asp
1 5

<210> 4

50 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

55 <223> Forma L

<400> 4

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

ES 2 574 056 T3

<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Forma D
5
<400> 5

Ala Ile Val Ala Gly Asp
1 5

10 <210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Forma L

<400> 6

20 Ile Leu Val Ala Gly Asp
1 5

<210> 7
<211> 6
<212> PRT
25 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma D
30 <400> 7

Ile Leu Val Ala Gly Asp
1 5

35 <210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma L
40 <400>8

Leu Ala Val Ala Gly Asp
1 5

45 <210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
50 <220>
<223> Forma L

<400> 9
55

Leu Ile Val Ala Ala Asp
1 5

ES 2 574 056 T3

5
<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma L

10
<400> 10

Leu Ile Val Ala Gly Ser
1 5

15
<210> 11
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Forma D

<400> 11

Leu Ile Val Ala Gly Ser
1 5

25
<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Forma L

<400> 12

Ala Ile Val Ala Gly Ser
1 5

35
<210> 13
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40
<220>
<223> Forma L

45
<400> 13

Ile Leu Val Ala Gly Ser
1 5

50
<210> 14
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55
<220>
<223> Forma L

<400> 14

ES 2 574 056 T3

Leu Ile Val Ala Gly Thr
1 5

5 <210> 15
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Forma L
<400> 15

Ala Ile Val Ala Gly Thr
1 5

15 <210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Forma L
<400> 16

Leu Ile Val Ala Gly Glu Glu
1 5

25 <210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Forma L
<400> 17

35 <210> 18
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Forma D
<400> 18

45 <210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Forma L

55 <210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma L

ES 2 574 056 T3

<400> 19

Leu Ile Val Ala Gly Lys
1 5

5 <210> 20
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Forma L

<400> 20

Leu Ile Val Ala Asp
1 5

15 <210> 21
<211> 5
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma L

25 <400> 21

Leu Ile Val Gly Asp
1 5

30 <210> 22
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Forma L

<400> 22

Ile Val Ala Asp
1

40 <210> 23
<211> 4
<212> PRT
45 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma D

50 <400> 23

Ile Val Ala Asp
1

55 <210> 24
<211> 3
<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> Forma L
<400> 24

Ile Val Asp
1

10 <210> 25
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Forma L
<400> 25

Ile Ile Ile Asp
1

20 <210> 26
<211> 4
<212> PRT
25 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma D
30 <400> 26

Ile Ile Ile Asp
1

35 <210> 27
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Forma L
<400> 27

Ile Ile Ile Lys
1

45 <210> 28
<211> 4
<212> PRT
50 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma D
55 <400> 28

Ile Ile Ile Lys
1

5
<210> 29
<211> 3
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma L

10
<400> 29

Ile Ile Asp
1

15
<210> 30
<211> 3
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma D

20
<400> 30

Ile Ile Asp
1

25
<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Forma D

<400> 31

Leu Ile Val Ala Gly Asp Asp
1 5

35
<210> 32
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma D

40
<400> 32

Leu Ala Val Ala Gly Asp
1 5

45
<210> 33
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50
<220>
<223> Forma D

55
<400> 33

ES 2 574 056 T3

Leu Ile Val Ala Ala Asp
1 5

5 <210> 34
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Forma D
<400> 34

Ala Ile Val Ala Gly Ser
1 5

15 <210> 35
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Forma D
<400> 35

Ile Leu Val Ala Gly Ser
1 5

25 <210> 36
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Forma D
<400> 36

Leu Ile Val Ala Gly Thr
1 5

35 <210> 37
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Forma D
<400> 37

Ala Ile Val Ala Gly Thr
1 5

45 <210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Forma D

55 <210> 39
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

60 <220>
<223> Forma D

ES 2 574 056 T3

<400> 38

Leu Ile Val Ala Gly Glu Glu
1 5

5 <210> 39
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Forma D

<400> 39

Leu Ile Val Ala Gly Lys
1 5

15 <210> 40
<211> 5
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma D

25 <400> 40

Leu Ile Val Ala Asp
1 5

30 <210> 41
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Forma D

<400> 41

Leu Ile Val Gly Asp
1 5

40 <210> 42
<211> 3
<212> PRT
45 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Forma D

50 <400> 42

Ile Val Asp
1

REIVINDICACIONES

1. Un péptido y/o peptoide anfifílico capaz de formar un hidrogel, comprendiendo el péptido y/o peptoide anfifílico una secuencia anfifílica que consiste en:

5 un tramo de secuencia hidrófoba de n aminoácidos alifáticos, en el que n es un número entero de 2 a 6, en el que todos o una parte de los aminoácidos alifáticos del tramo de secuencia hidrófoba están ordenados en un orden de tamaño de aminoácido decreciente en la dirección desde el extremo N al C del péptido y/o peptoide anfifílico, en el que el tamaño de los aminoácidos alifáticos se definen como $I = L > V > A > G$,

y

10 un tramo de secuencia hidrófila unido a dicho tramo de secuencia hidrófoba y tiene un resto polar que es ácido, neutro o básico, comprendiendo dicho resto polar m aminoácidos hidrófilos adyacentes, en el que m es un número entero de 1 a 2, en el que el péptido y/o peptoide anfifílico tiene un extremo C y un extremo N, en el que dicho tramo de secuencia hidrófoba comprende y/o forma el extremo N del péptido y/o peptoide anfifílico y dicho resto polar consiste en al menos un aminoácido posicionado en el extremo C del péptido y/o peptoide anfifílico.
y en el que el extremo N está protegido por un grupo acetilo.

15 2. Un péptido y/o peptoide anfifílico capaz de formar un hidrogel, comprendiendo el péptido y/o peptoide anfifílico una secuencia anfifílica que consiste en:

un tramo de secuencia hidrófoba de n aminoácidos alifáticos, en el que n es un número entero de entre 2 a 6, y un tramo de secuencia hidrófila unido a dicho tramo de secuencia hidrófoba y que tiene un resto polar que es ácido, neutro o básico, comprendiendo dicho resto polar m aminoácidos hidrófilos adyacentes, en el que m es un
20 número entero de entre 1 a 2, en el que el péptido y/o peptoide anfifílico que tiene un extremo C y un extremo N, en el que dicho tramo de secuencia hidrófoba comprende y/o forma el extremo N del péptido y/o peptoide anfifílico y dicho resto polar consiste en al menos un aminoácido posicionado en el extremo C del péptido y/o peptoide anfifílico,

25 en el que el extremo N está protegido por un grupo acetilo,
en el que todos o una parte de los aminoácidos alifáticos del tramo de secuencia hidrófoba están ordenados en un orden de tamaño de aminoácido idéntico en el péptido y/o peptoide anfifílico,

y dichos aminoácidos alifáticos ordenados con un orden de tamaño de aminoácido idéntico tiene una secuencia con una longitud de 2 a 4 aminoácidos,

30 en el que dichos aminoácidos alifáticos ordenados con un orden de tamaño de aminoácido idéntico tienen una secuencia que se selecciona de entre LLLL, LLL, LL, IIII, III, II, VVVV, VVV, VV, AAAA, AAA, AA, GGGG, y GG.

3. Un péptido y/o peptoide anfifílico capaz de formar un hidrogel, comprendiendo el péptido y/o peptoide anfifílico una secuencia anfifílica que consiste en:

un tramo de secuencia hidrófoba con la secuencia de aminoácidos AIVAG,

y

35 un tramo de secuencia hidrófila unido a dicho tramo de secuencia hidrófoba y que tiene un resto polar que es ácido, neutro o básico, comprendiendo dicho resto polar m aminoácidos hidrófilos adyacentes, en el que m es un número entero de entre 1 a 2, en el que el péptido y/o peptoide anfifílico tiene un extremo C y un extremo N, en el que dicho tramo de secuencia hidrófoba comprende y/o forma el extremo N del péptido y/o peptoide anfifílico y dicho resto polar consiste en al menos un aminoácido posicionado en el extremo C del péptido y/o
40 peptoide anfifílico,
y en el que el extremo N está protegido por un grupo acetilo.

4. El péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el péptido y/o peptoide anfifílico tiene un extremo C, el cual, si se localiza un aminoácido polar en el extremo C, está preferentemente amidado.

45 5. El péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el péptido y/o peptoide anfifílico consiste en o secuencias anfifílicas, como se definen en la reivindicación 1, cuyas secuencias anfifílicas están unidas entre sí, siendo o un número entero de entre 1 a 50.

6. El péptido y/o peptoide anfifílico de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4 o 5, en el que dichos aminoácidos alifáticos que se ordenan con un orden de tamaño de aminoácido decreciente tienen una secuencia
50 que es una secuencia repetitiva o no repetitiva,
en el que, preferentemente, dichos aminoácidos alifáticos ordenados en un orden de tamaño de aminoácido decreciente tienen una secuencia con una longitud de 2 a 6.

7. El péptido y/o peptoide anfifílico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dichos aminoácidos alifáticos ordenados en un orden de tamaño de aminoácido decreciente tienen una secuencia que se selecciona de
55 entre LIVAG, ILVAG, LIVAA, IVAG, LIVA, LIVG, IVA y IV, en el que, opcionalmente, hay un A precediendo dicha secuencia en el extremo N.

8. El péptido y/o peptoide anfifílico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la secuencia anfifílica se somete a un cambio conformacional durante el auto-ensamblaje, desde una conformación de enrollamiento aleatorio a una estructura intermedia helicoidal hasta una conformación beta final, en el que preferentemente el cambio conformacional depende de la concentración.
- 5 9. El péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 8, en el que la secuencia anfifílica es una de SEQ ID NO: 1 a 3, 6 a 7, 9 a 24, 31, 33, 35 a 36, y 38 a 42.
10. El péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con la reivindicación 3 o 7, en el que la secuencia anfifílica es una de entre SEQ ID NO: 4-5, 34 o 37.
- 10 11. El péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en el que la secuencia anfifílica es una de entre SEQ ID NO: 25 a 30.
- 15 12. Un hidrogel que comprende el péptido y/o peptoide anfifílico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que, preferentemente, el hidrogel es estable en solución acuosa a temperatura ambiente durante un periodo de al menos 7 días, el hidrogel está **caracterizado por** una relación de un módulo de almacenaje G' respecto a un módulo de pérdida G'' que es mayor de 2, en el que, preferentemente, el hidrogel tiene una fuerza mecánica mayor que el colágeno o su forma hidrolizada (gelatina).
- 20 13. Un procedimiento de preparación de un hidrogel, comprendiendo el procedimiento disolver un péptido y/o peptoide anfifílico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en una solución acuosa, en el que el péptido y/o peptoide anfifílico disuelto en solución acuosa se expone además a temperatura, en el que la temperatura está en el intervalo de 20 ° C a 90 ° C, en el que, preferentemente, el péptido y/o peptoide anfifílico se disuelve a una concentración de 0,01 µg/ml a 100 mg/ml.
- 25 14. Un implante quirúrgico, o estent, comprendiendo el implante quirúrgico o estent un armazón de péptido y/o peptoide, en el que el armazón de péptido y/o peptoide está formado por un hidrogel de acuerdo con la reivindicación 12.
- 30 15. Una composición farmacéutica y/o cosmética y/o un dispositivo biomédico y/o dispositivo electrónico que comprende el péptido y/o peptoide anfifílico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, preferentemente, que comprende además un compuesto farmacéuticamente activo y/o además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.
16. Un procedimiento de regeneración tisular que comprende las etapas de:
- a) proporcionar un hidrogel como se define en la reivindicación 12,
 b) exponer dicho hidrogel a células que van a formar tejido regenerado, permitir que dichas células crezcan en dicho hidrogel, cuyo procedimiento se lleva a cabo *in vitro*.

Fig. 1A: SIETE PÉPTIDOS MIEMBROS CON GRUPO DE CABEZA DE ÁCIDO ASPÁRTICO

SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
1	Ac-LD ₇ (L)	Ac-LIVAGDD-COOH (L)	Hidrogelación

Fig. 1B: SEIS PÉPTIDOS MIEMBROS CON UN GRUPO DE CABEZA CON ÁCIDO ASPÁRTICO

SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
2	Ac-LD ₆ (Forma L)	Ac-LIVAGD-COOH (L)	Hidrogelación
3	Ac-LD ₆ (Forma D)	Ac-LIVAGD-COOH (D)	Hidrogelación
4	Ac-AD ₆ (L)	Ac-AIVAGD-COOH (L)	Hidrogelación
5	Ac-AD ₆ (D)	Ac-AIVAGD-COOH (D)	Hidrogelación
6	Ac-ID ₆ (L)	Ac-ILVAGD-COOH (L)	Hidrogelación
7	Ac-ID ₆ (D)	Ac-ILVAGD-COOH (D)	Hidrogelación
8	Ac-LD ₆ -i(Forma L)	Ac-LAVAGD-COOH (L)	Hidrogelación
9	Ac-LD ₆ -2 (Forma L)	Ae-LIVAAD-COOH (L)	Hidrogelación

Fig. 1C: SEIS PÉPTIDOS MIEMBROS CON GRUPO DE CABEZA SERINA

SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
10	Ac-LS ₆ (L)	Ac-LIVAGS-COOH (L)	Hidrogelación
11	Ac-LS ₆ (D)	Ac-LIVAGS-COOH (D)	Hidrogelación
12	Ac-ASe(L) :	Ac-AIVAGS-COOH (L)	Hidrogelación
13	Ac-IS ₆ (L)	Ac-ILVAGS-COOH (L)	Hidrogelación

Fig. 1D: SEIS PÉPTIDOS MIEMBROS CON GRUPO DE CABEZA TREONINA

SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
14	Ac-LT ₆ (L)	Ac-LIVAGT-COOH (L)	Hidrogelación
15	Ac-AT ₆ (L)	Ac-AIVAGT-COOH (L)	Hidrogelación

Fig. 1

Fig. 1E: SIETE PÉPTIDOS MIEMBROS CON GRUPO DE CABEZA DE ÁCIDO GLUTÁMICO			
SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
16	Ac-LE ₇ (L)	Ac-LIVAGEE-COOH (L)	Hidrogelación

Fig. 1F: SEIS PÉPTIDOS MIEMBROS CON GRUPO DE CABEZA DE ÁCIDO GLUTÁMICO

SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
17	Ac-LE ₆ (Forma L)	Ac-LIVAGE-COOH (L)	Hidrogelación
18	Ac-LE ₆ (Forma D)	Ac-LIVAGE-COOH (D)	Hidrogelación

Fig. 1G: SEIS PÉPTIDOS MIEMBROS CON GRUPO DE CABEZA DE LISINA

SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
19	Ac-LKe (Forma L)	Ac-LIVAGK-CONH ₂ (L)	Hidrogelación

Fig. 1H: CINCO PÉPTIDOS MIEMBROS CON GRUPO DE CABEZA DE ÁCIDO ASPÁRTICO

SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
20	Ac-LD _{5,i} (L)	Ac-LIVAD-GOOH (L)	Hidrogelación
21	AC-LD5-2 (L)	Ac-LIVGD-COOH (L)	Hidrogelación

Fig. 1I: CUATRO PÉPTIDOS MIEMBROS CON GRUPO DE CABEZA DE ÁCIDO ASPÁRTICO

SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
22	Ac-ID ₄ (L)	Ac-IVAD-COOH (L)	Hidrogelación
23	Ac-ID ₄ (D)	Ac-IVAD-COOH (D)	Hidrogelación

Fig. 1J: TRES PÉPTIDOS MIEMBROS CON GRUPO DE CABEZA DE ÁCIDO ASPÁRTICO

SEQID No.	Péptido	Secuencia peptídica	Observación
24	Ac-ID ₃ (L)	Ac-IVD-COOH (L)	Hidrogelación

Fig 1

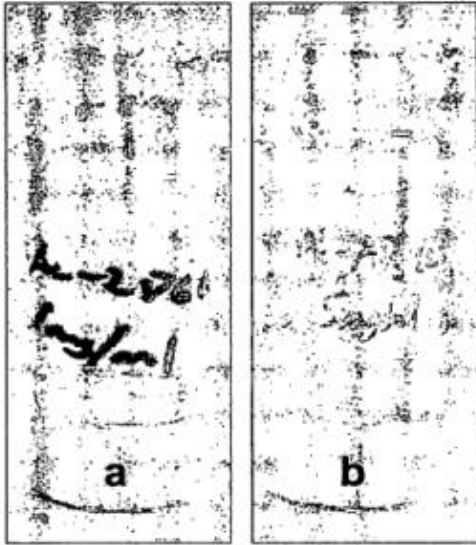


Fig. 2

a. Ac-LD-6 (L) 1mg/ml

b. Ac-AD-6 (L) 5mg/ml

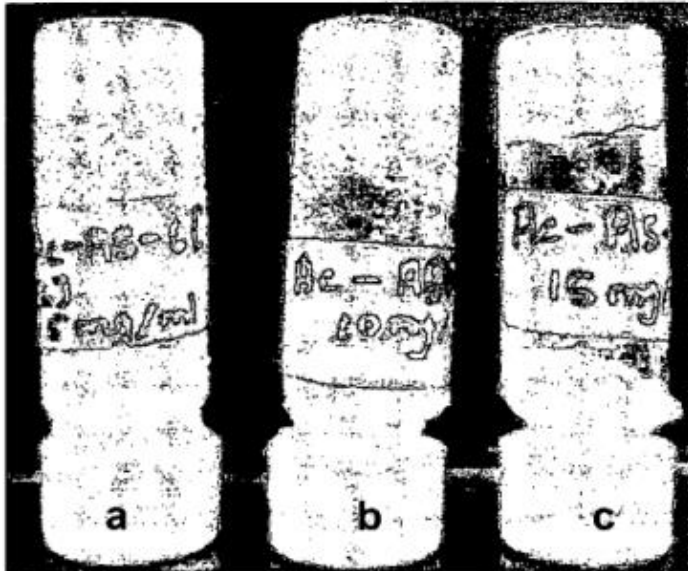


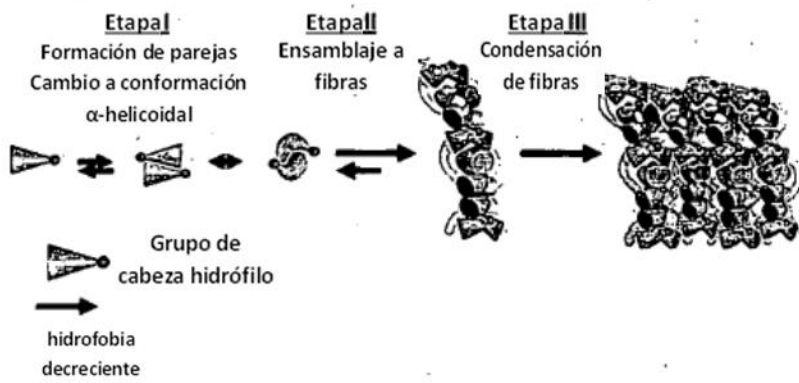
Fig. 3

a. Ac-AS-6 (L) 5mg/ml

b. Ac-AS-6 (L) 10mg/ml

c. Ac-AS-6 (L) 15mg/ml

Fig. 4



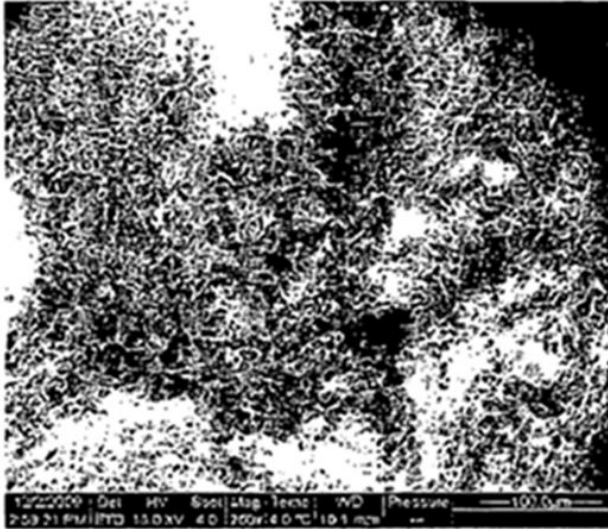


Fig. 5A

Imagen ESEM de geles ACLD6 (L) con una magnificación de 260X a 4 °C

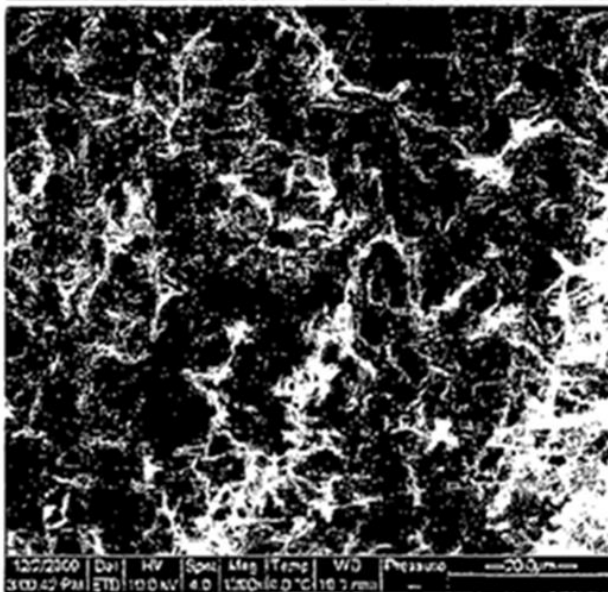


Fig. 5B

Imagen ESEM de geles ACLD6 (L) con una magnificación de 1000X a 4 °C

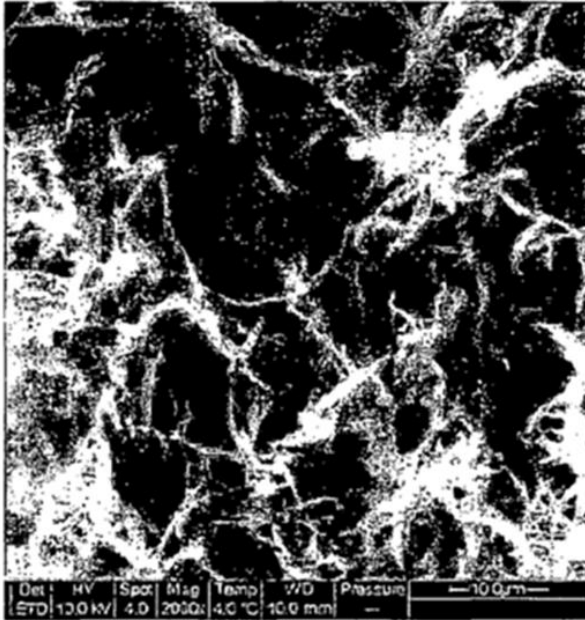
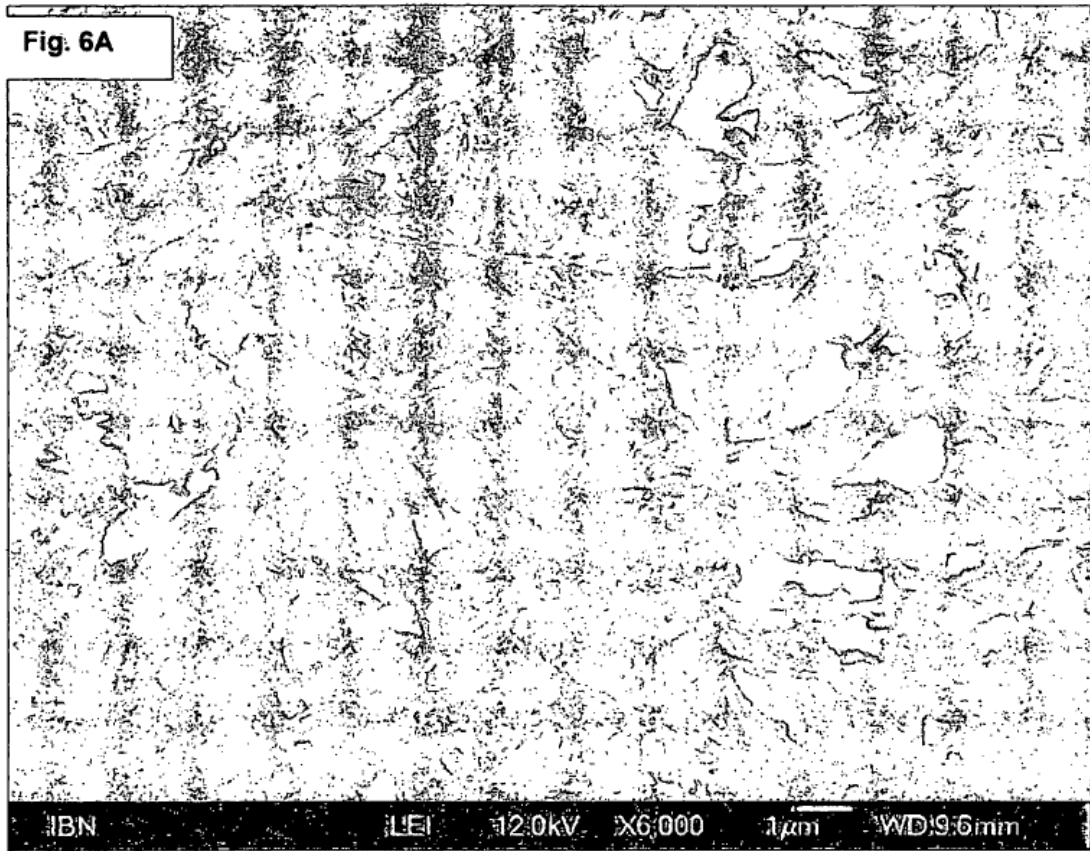
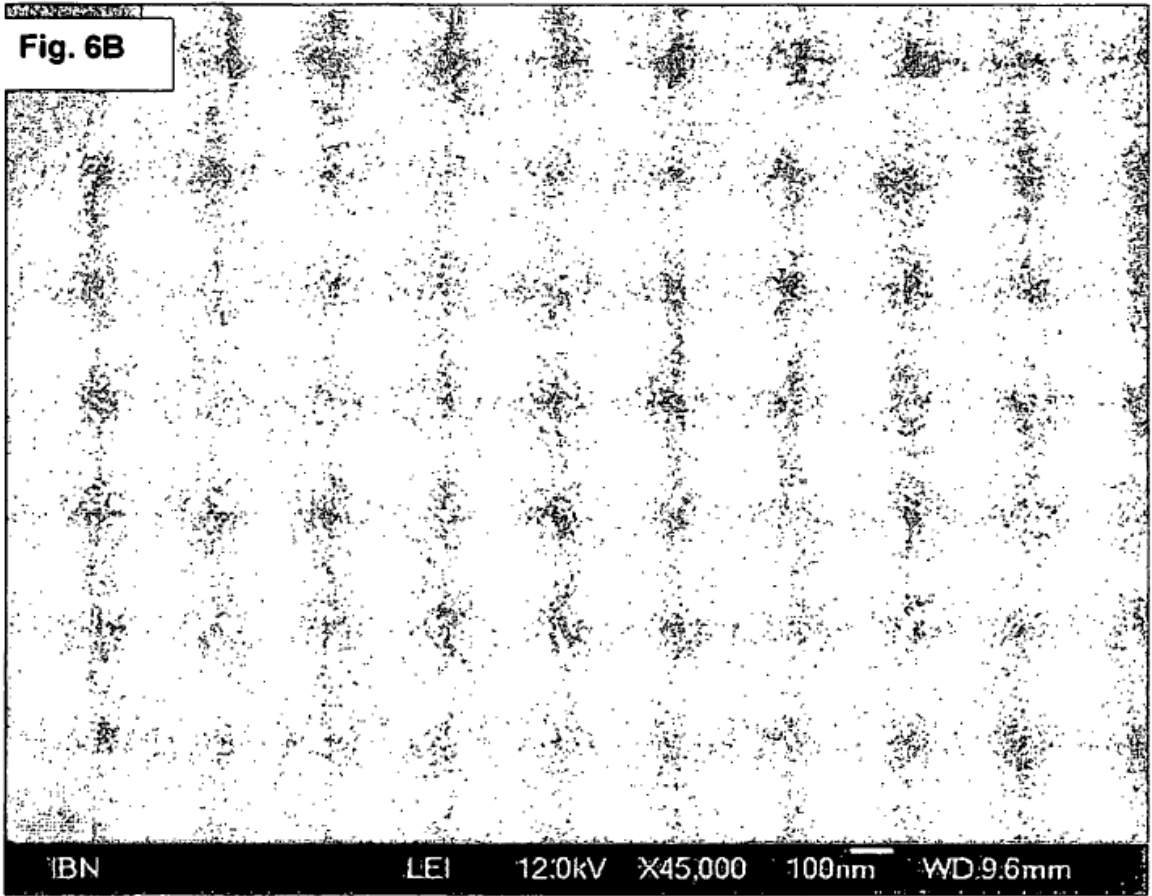


Fig. 5C

Imagen ESEM de geles ACLD6 (L) con una magnificación de 2000X a 4 °C





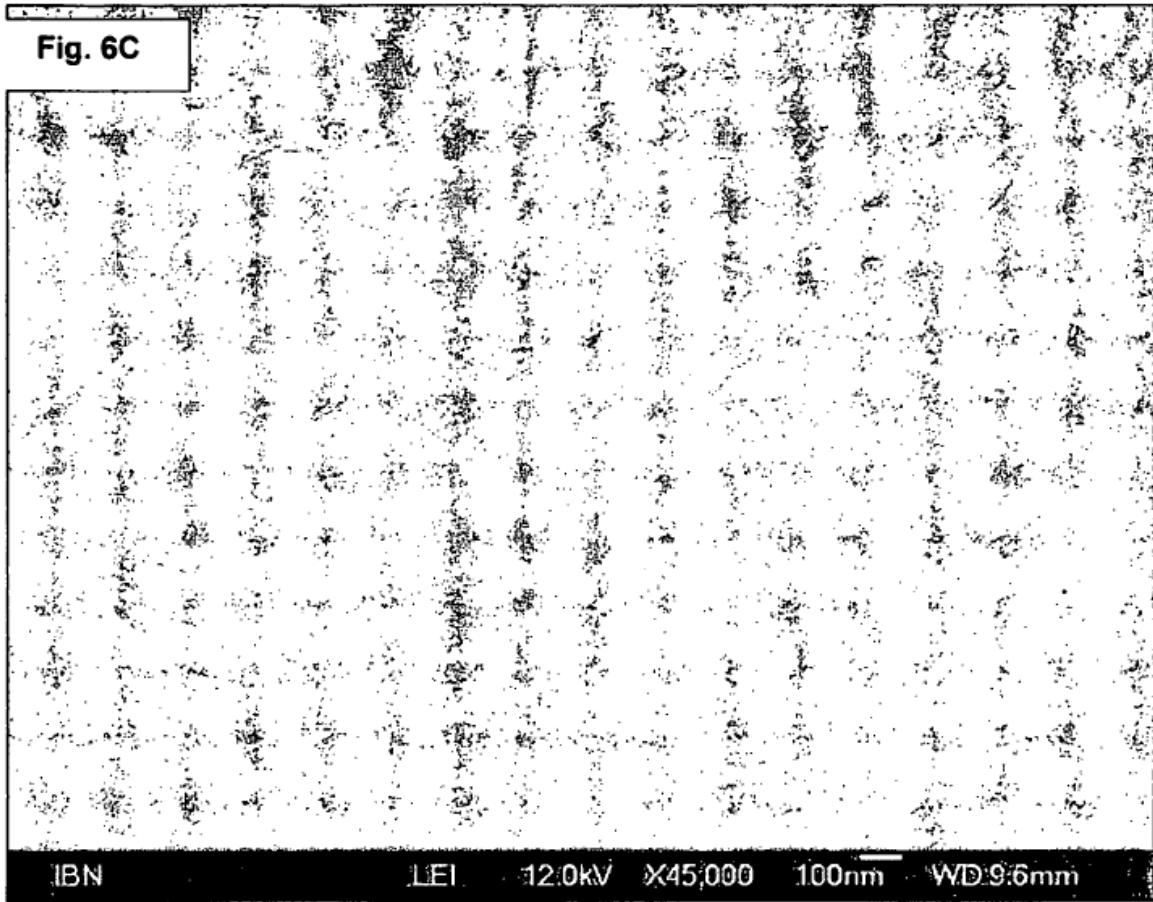
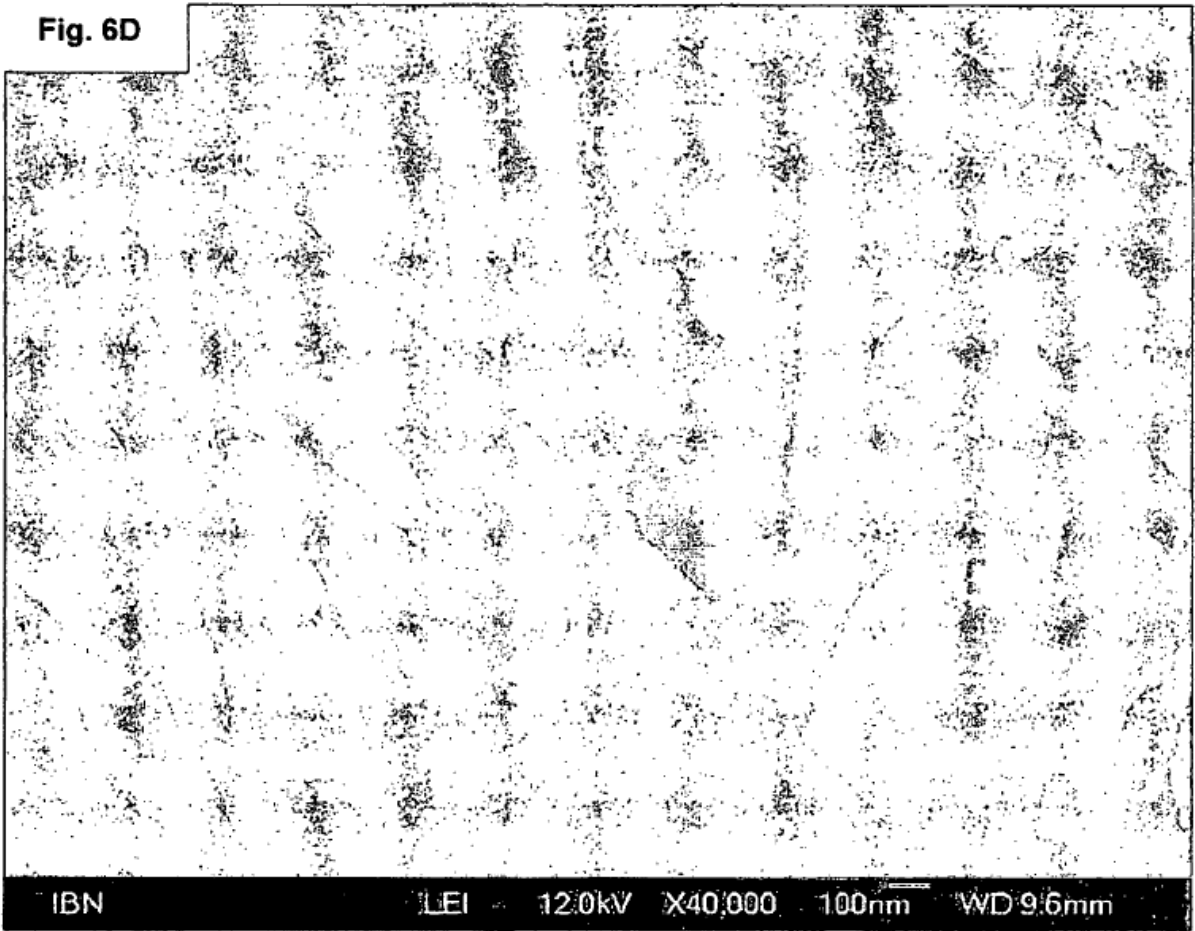
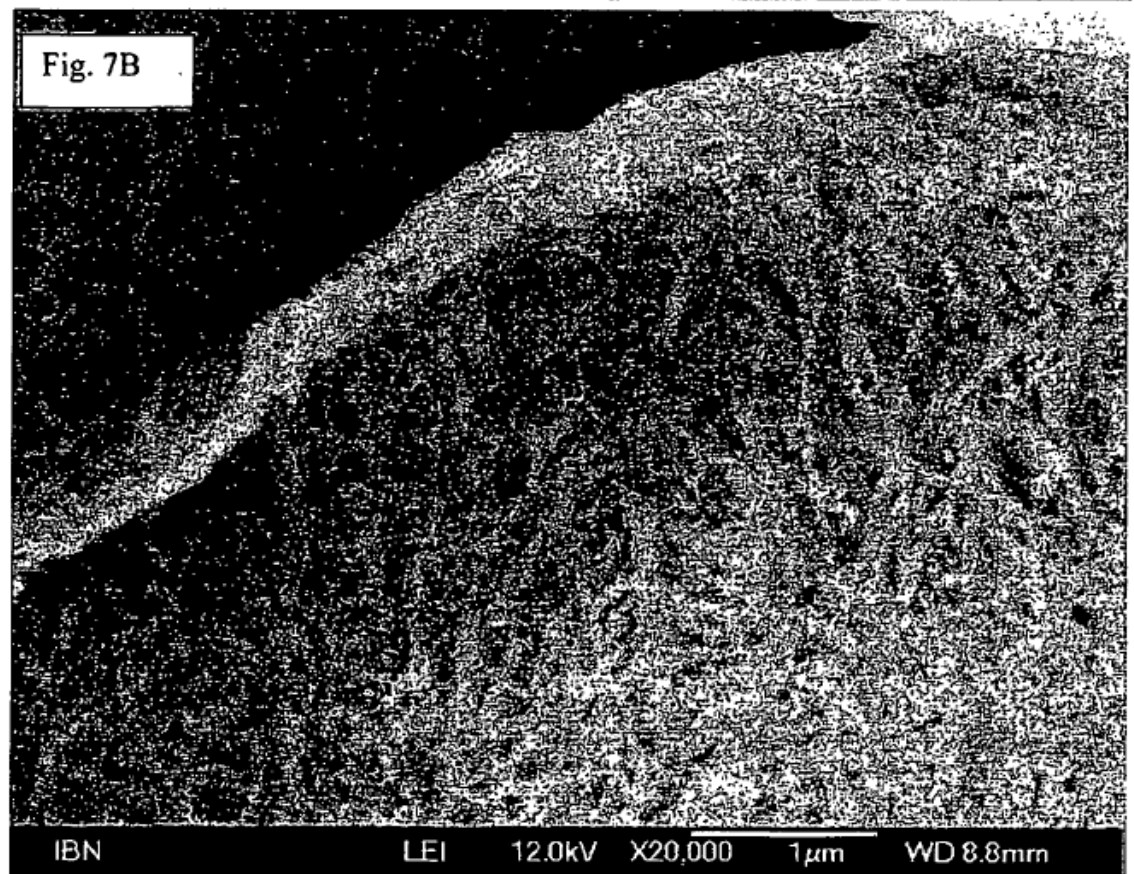
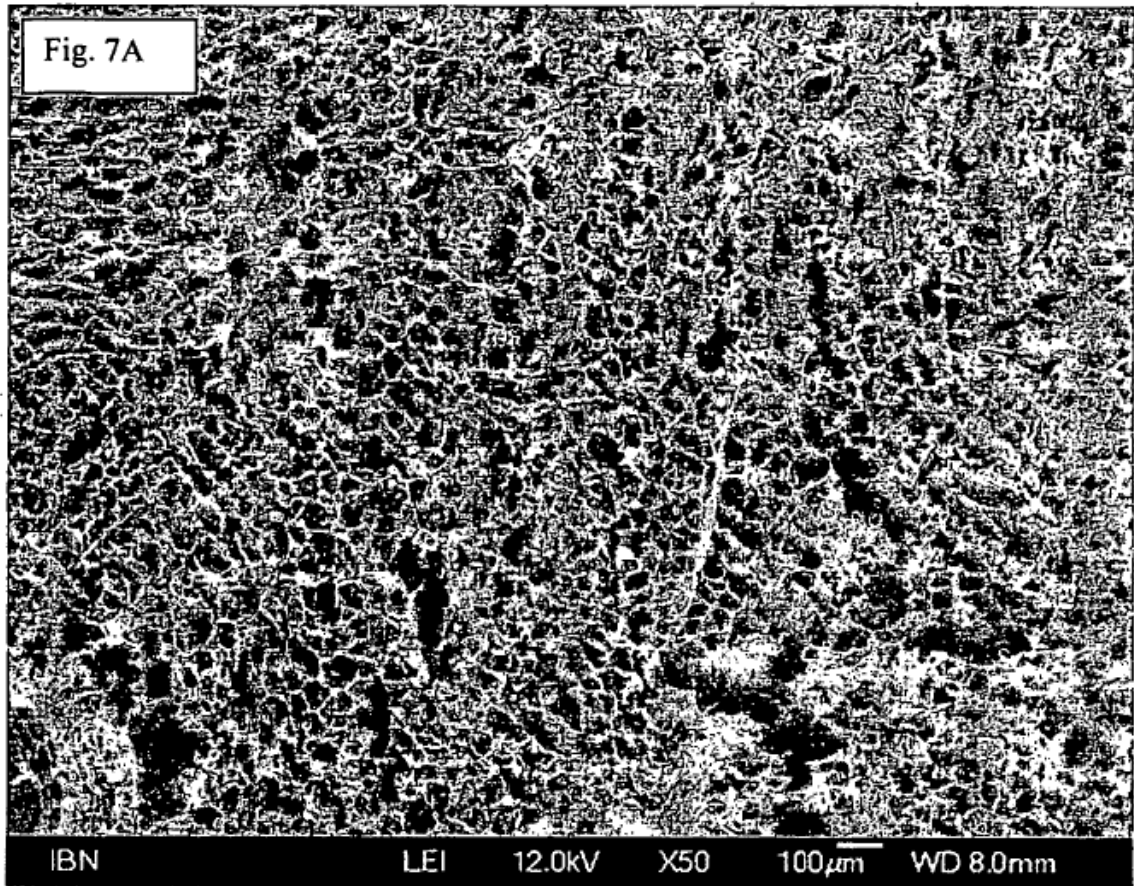
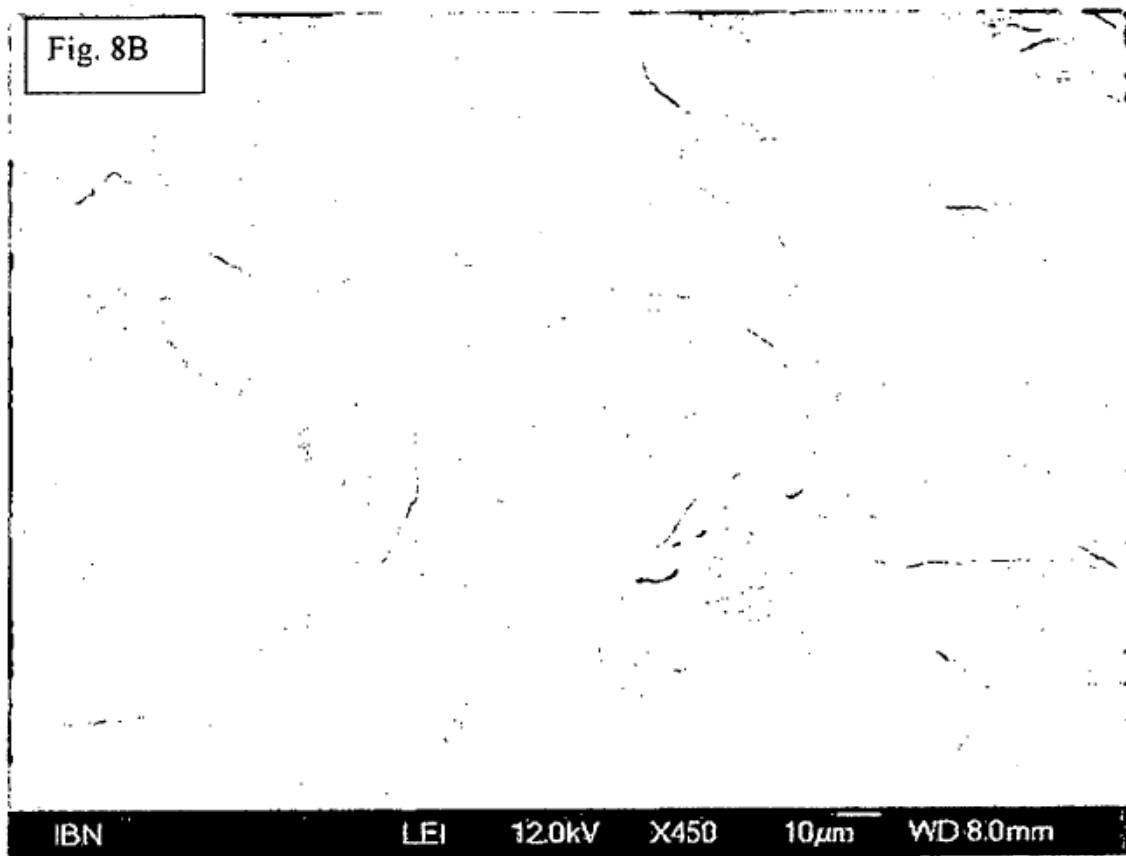
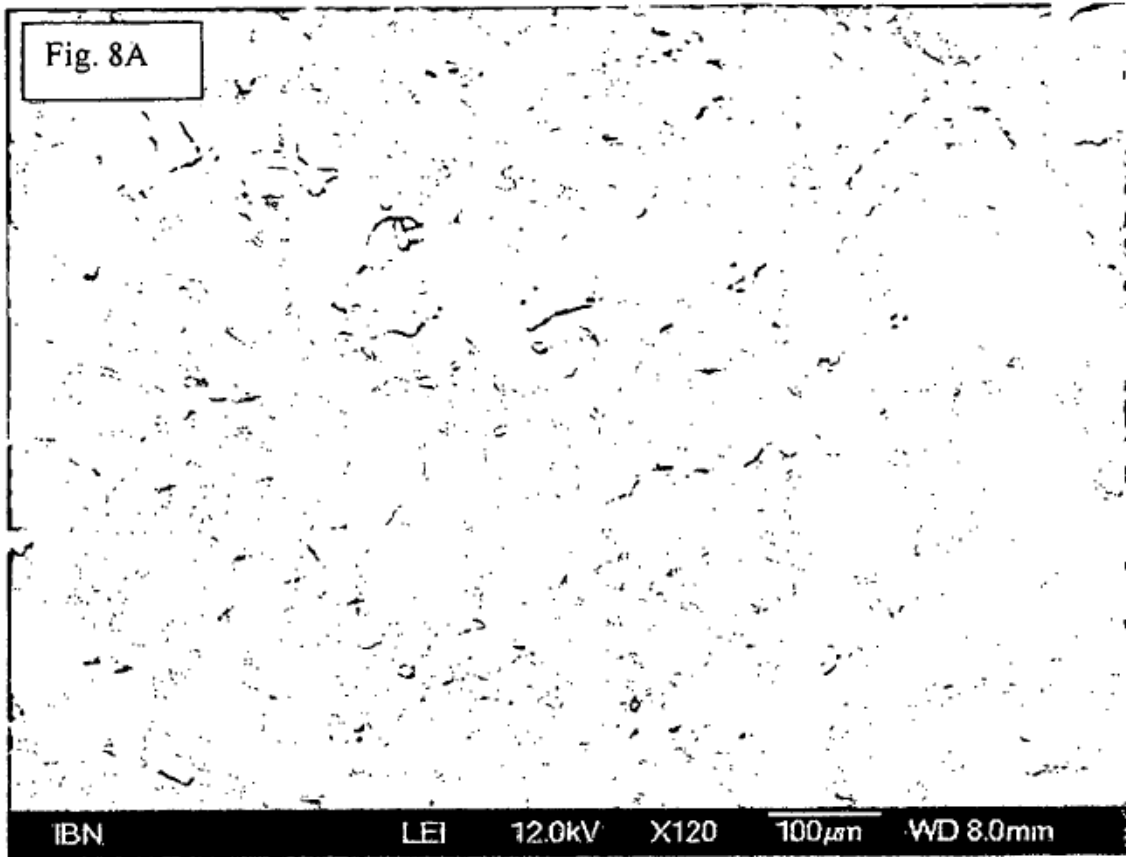


Fig. 6D







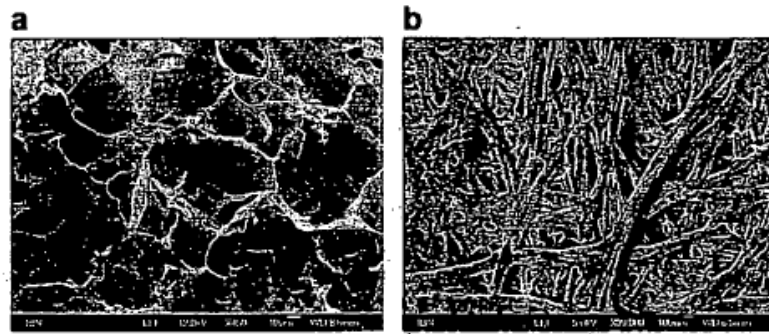


Fig. 9A

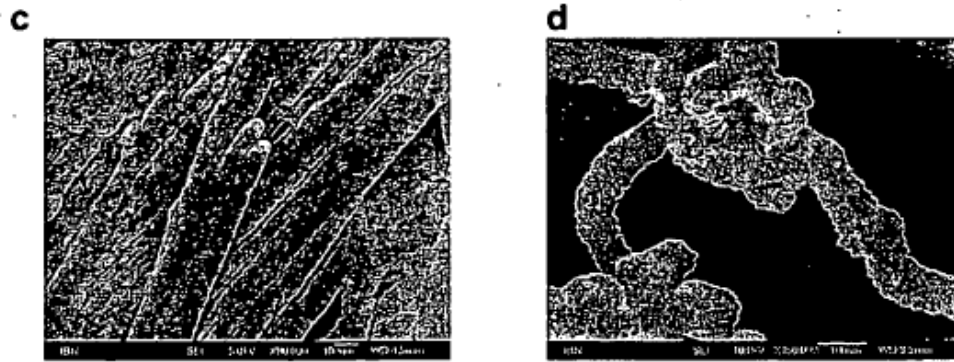


Fig. 9A

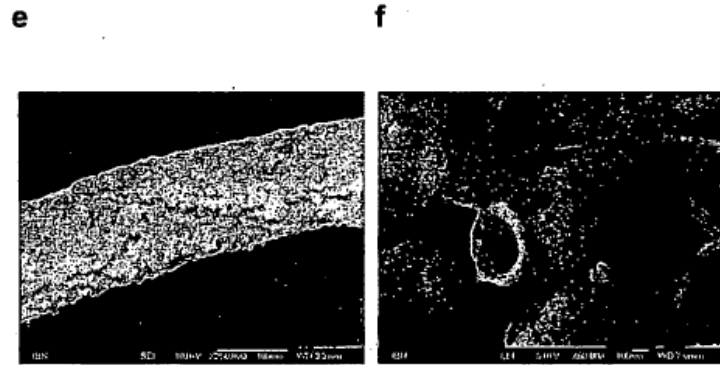
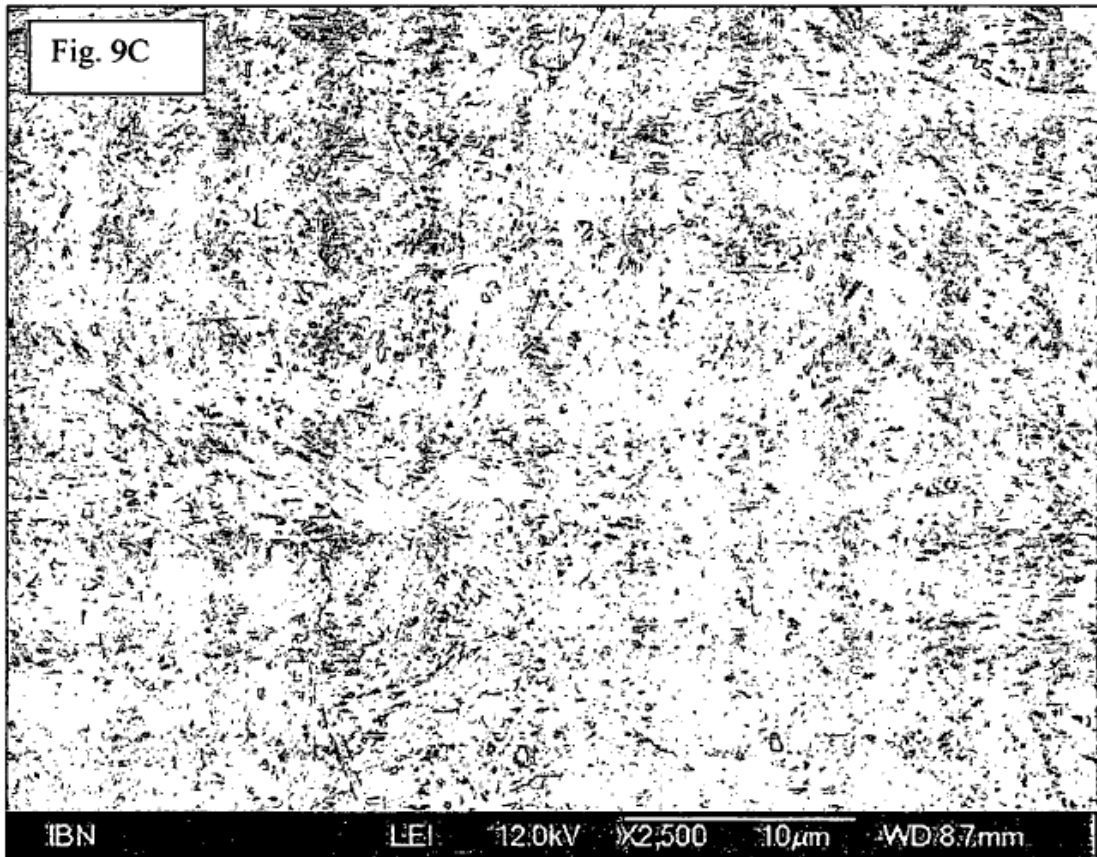
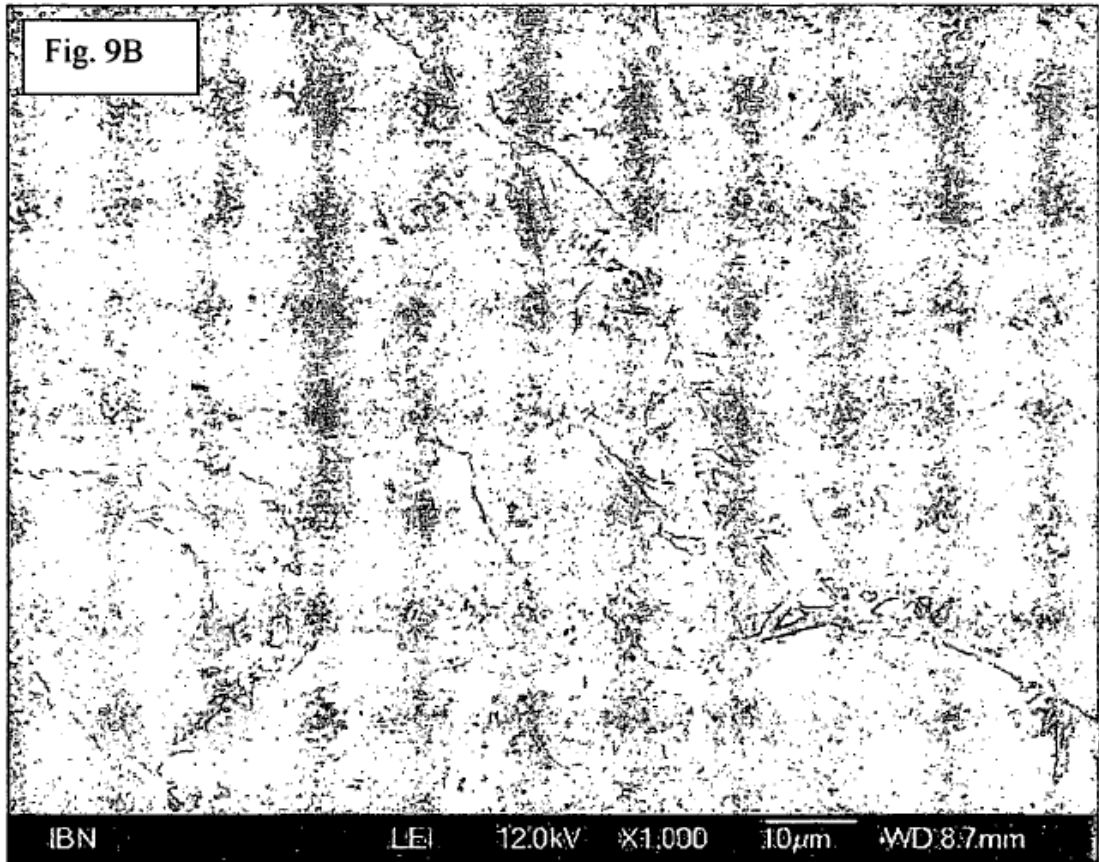
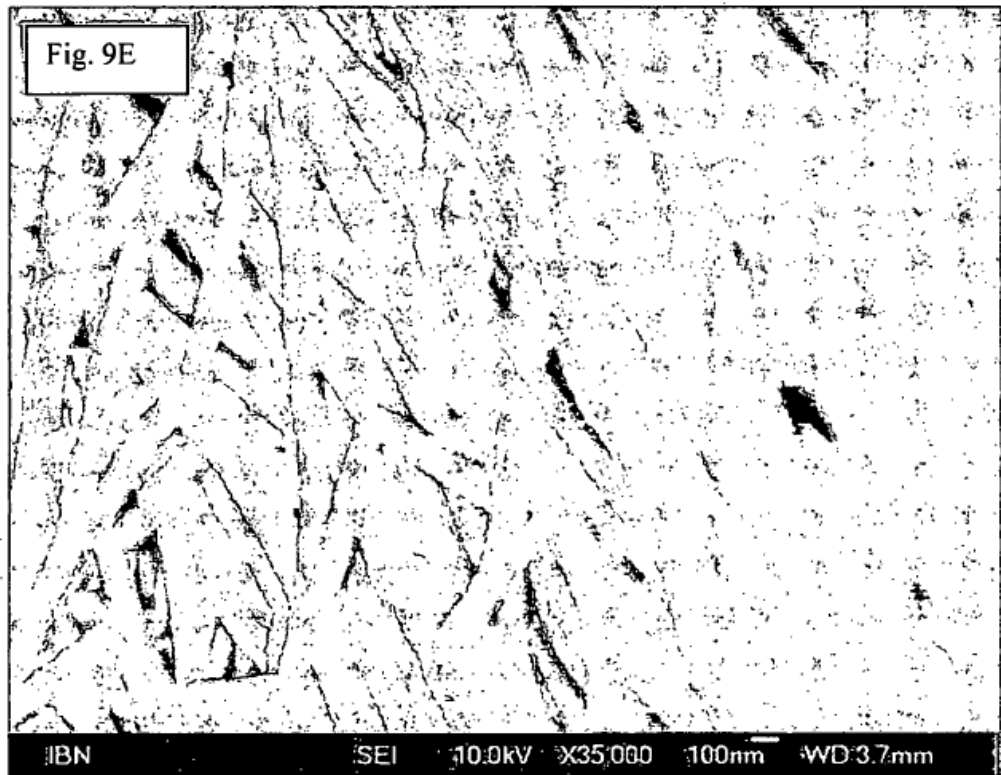
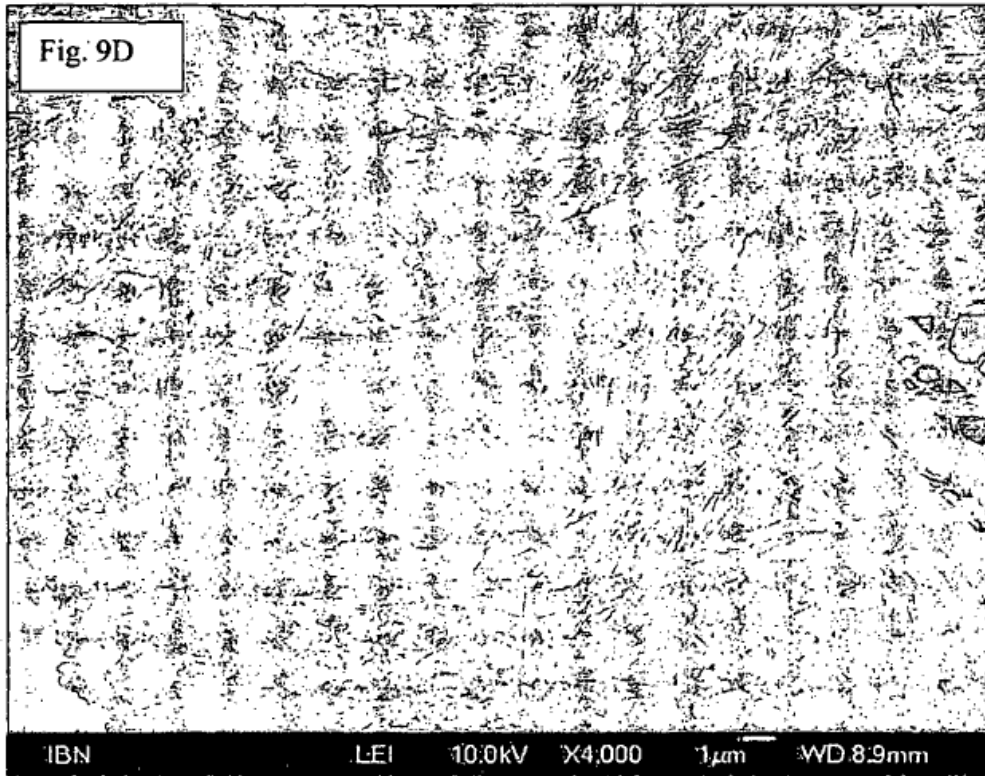


Fig. 9A





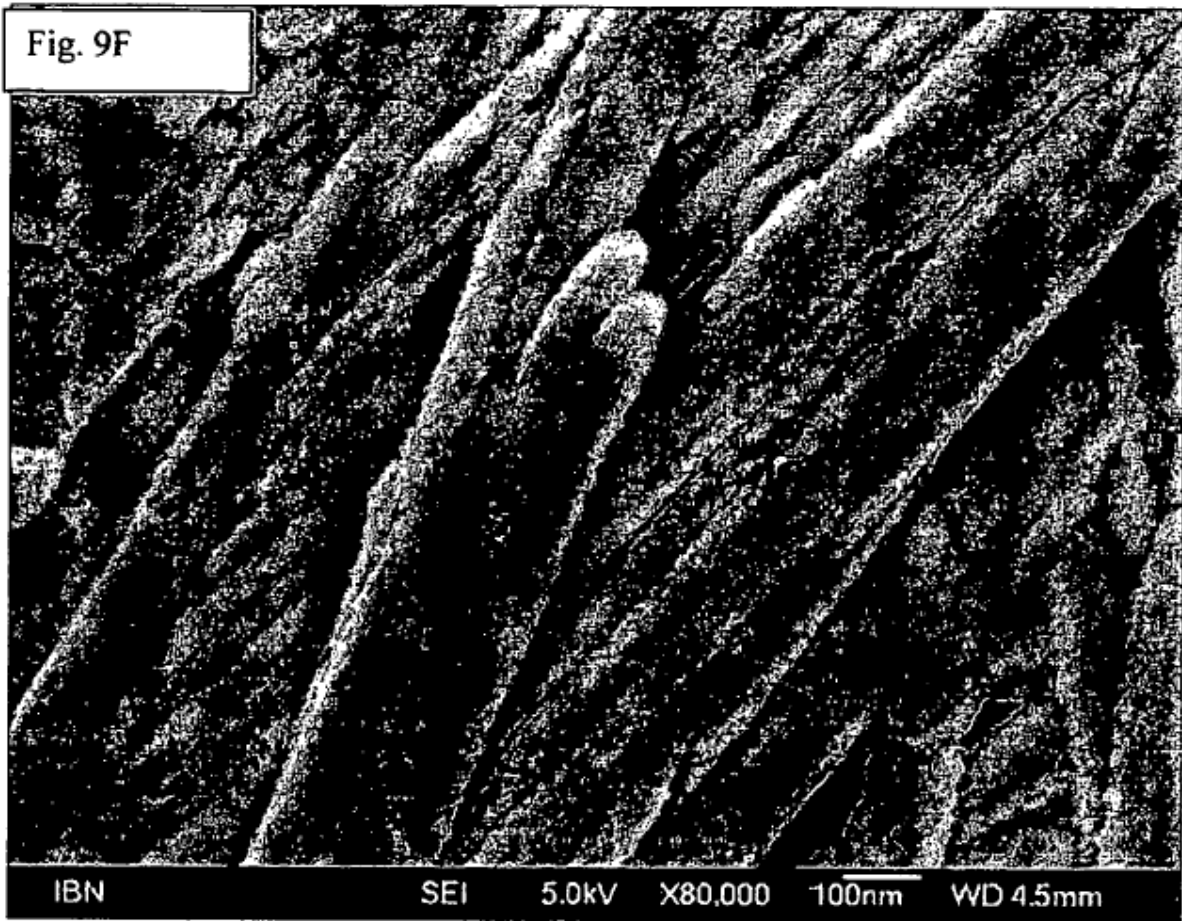
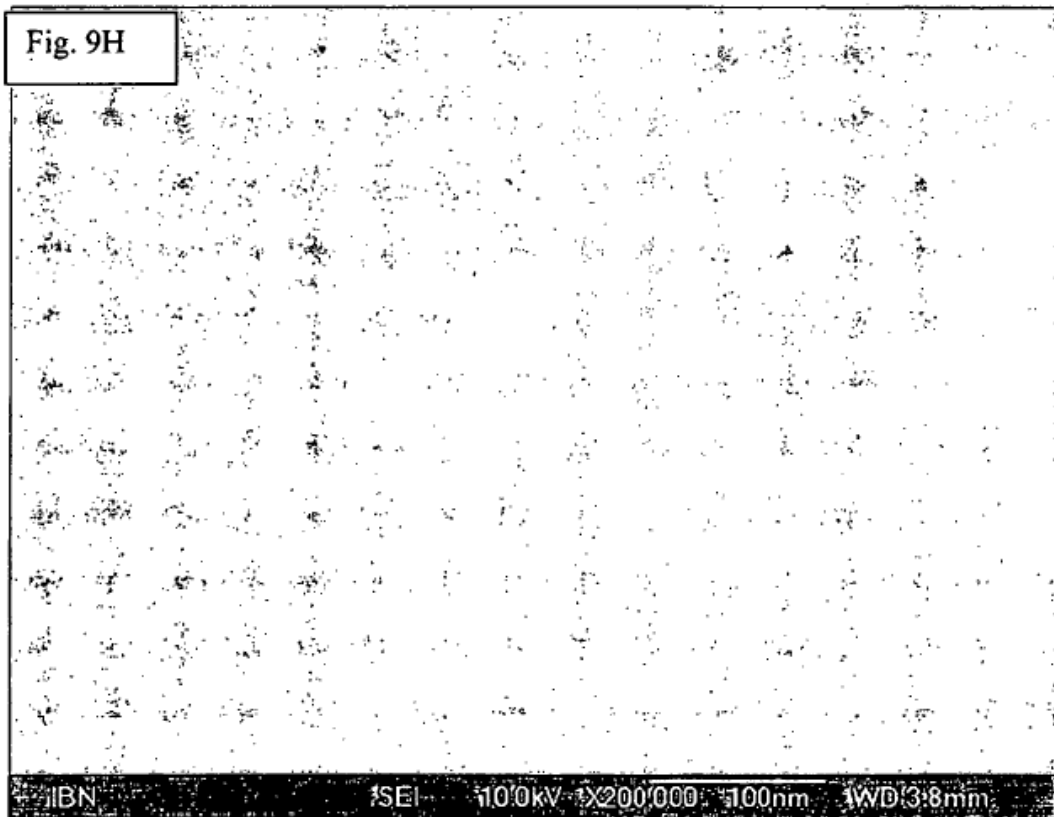
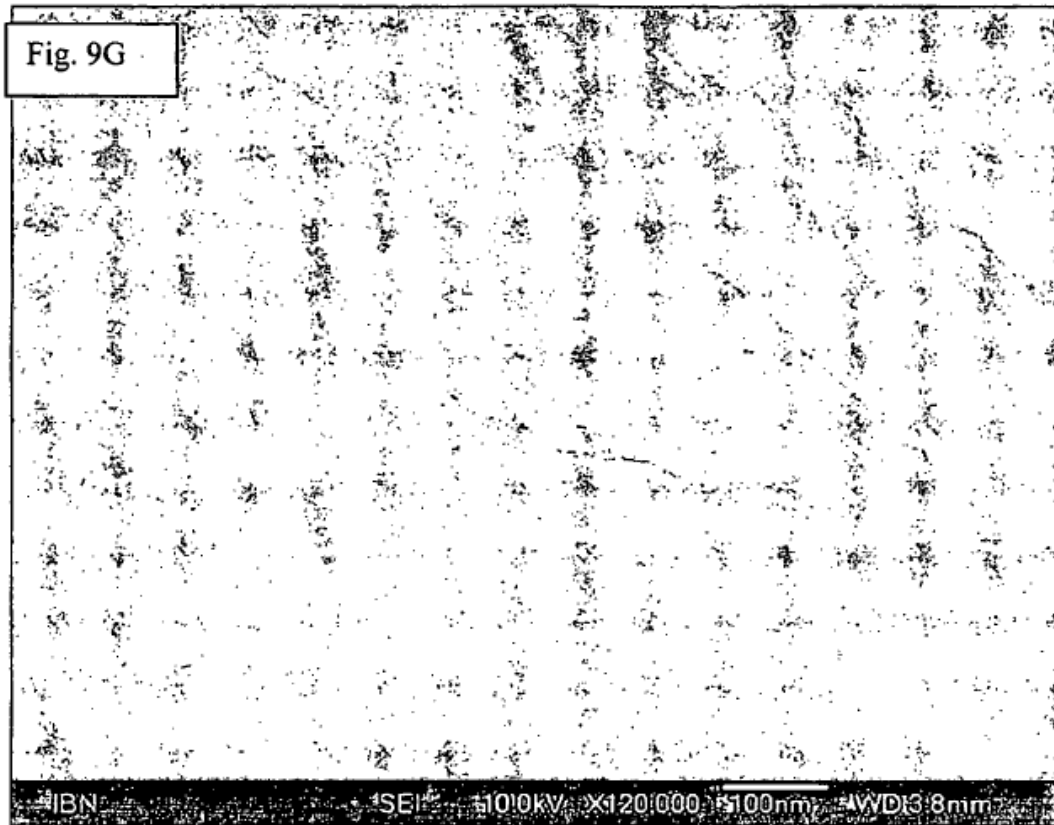


Fig. 9F



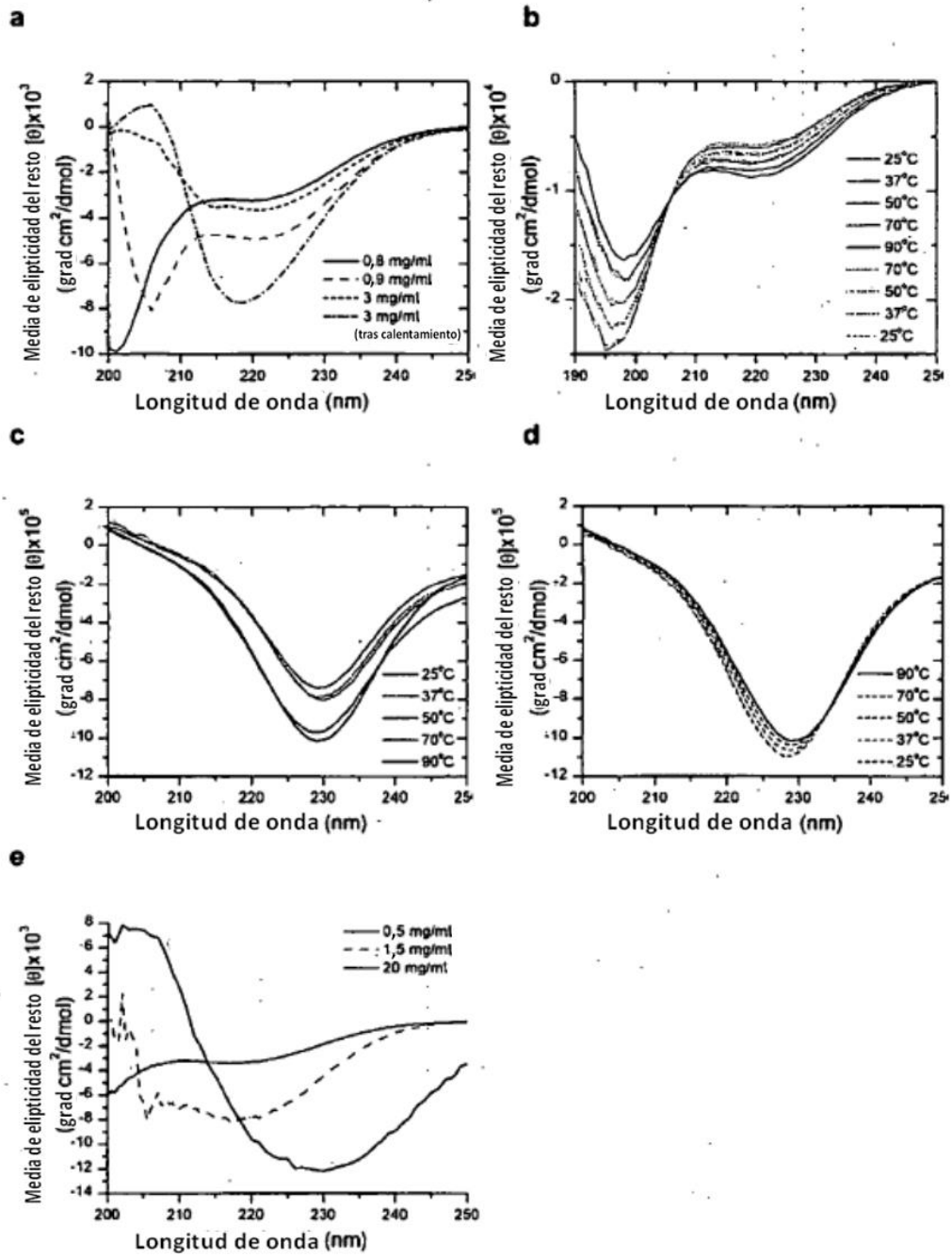


Fig. 10

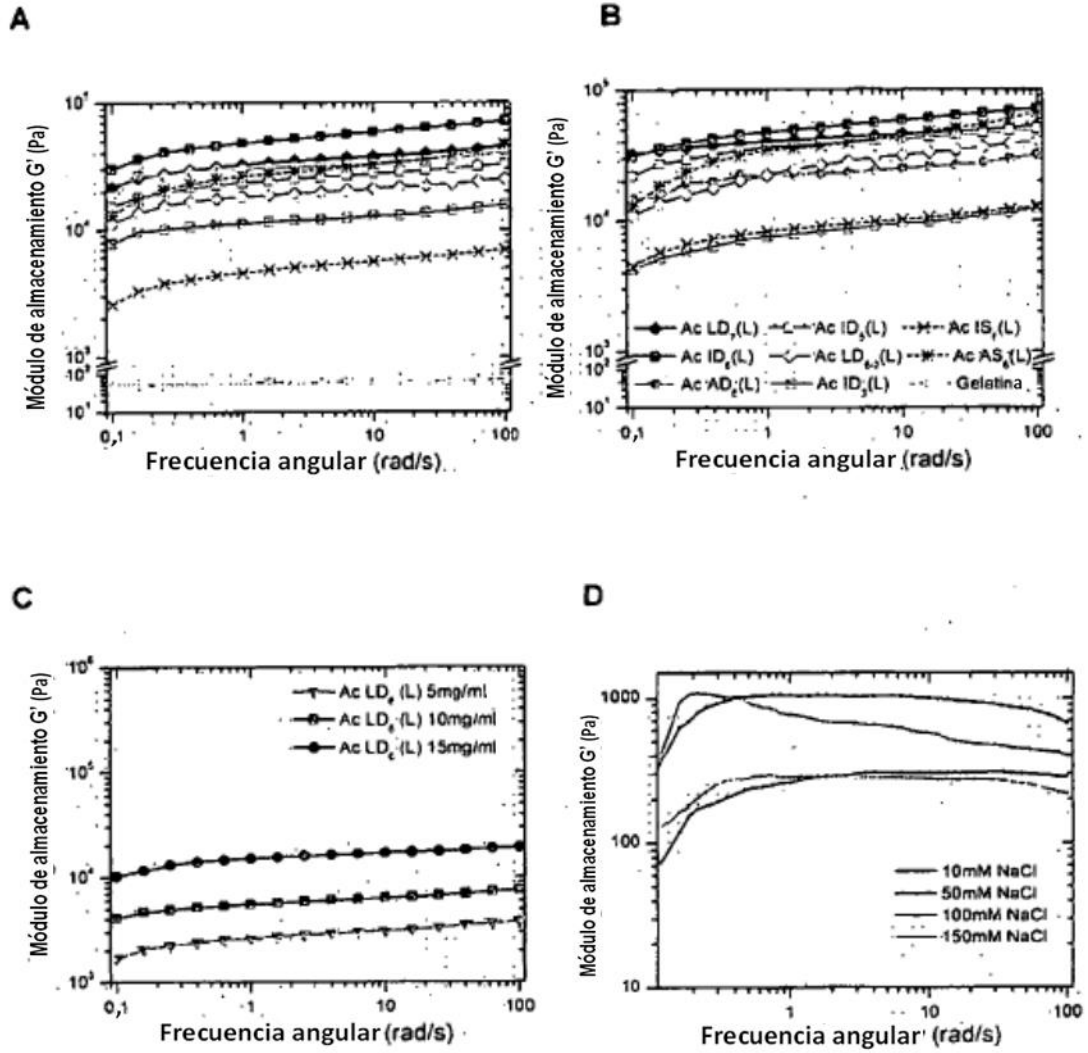


Fig. 11

Fig. 12A Superposición de amplitud en el estudio de barrido de AcAD6 (L) 20 mg/ml a 25 °C y 50 °C

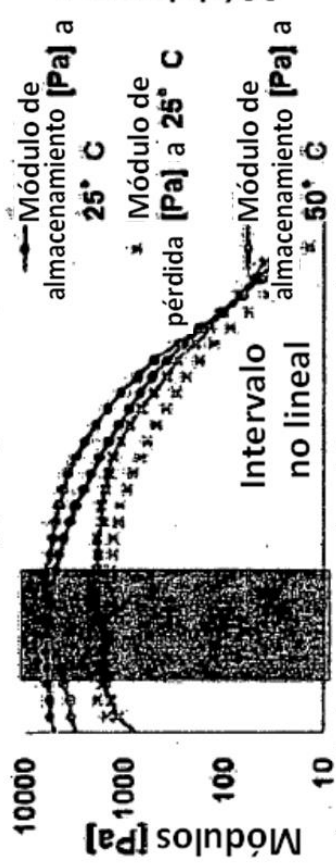


Fig. 12B Superposición de amplitud en el estudio de barrido de AcAD6 (D) 20 mg/ml a 25 °C y 50 °C

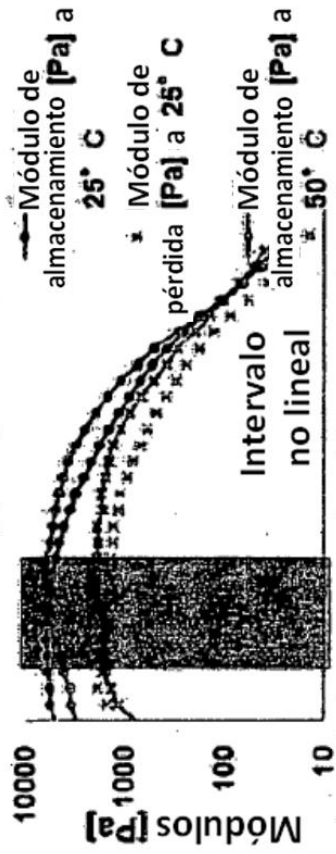


Fig. 12C Superposición de amplitud en el estudio de barrido de AcAD6 (L) 20 mg/ml a 25 °C y 50 °C con 0.1% de tensión a 25 °C

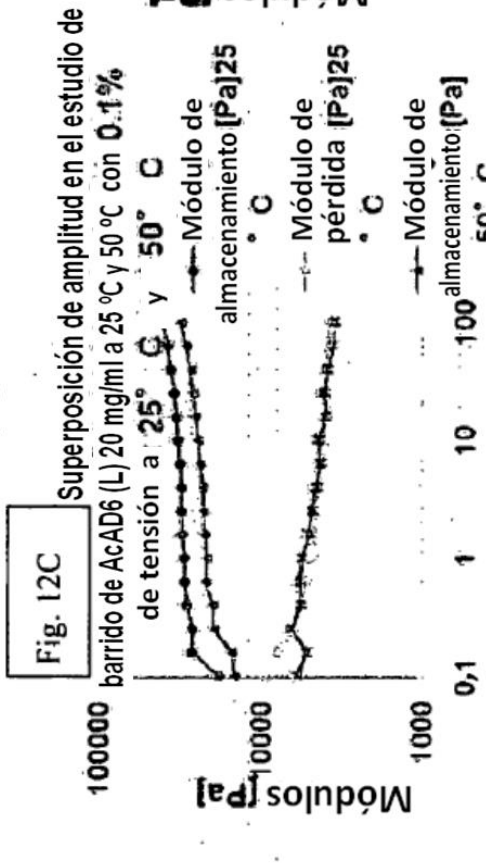
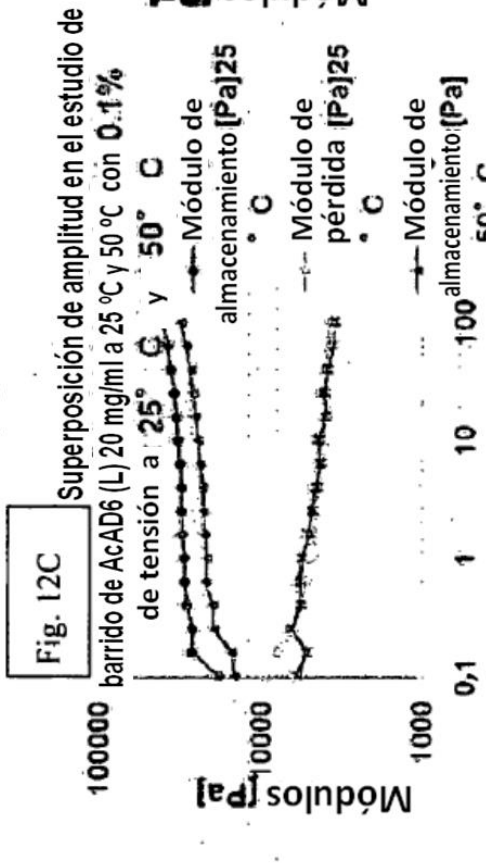
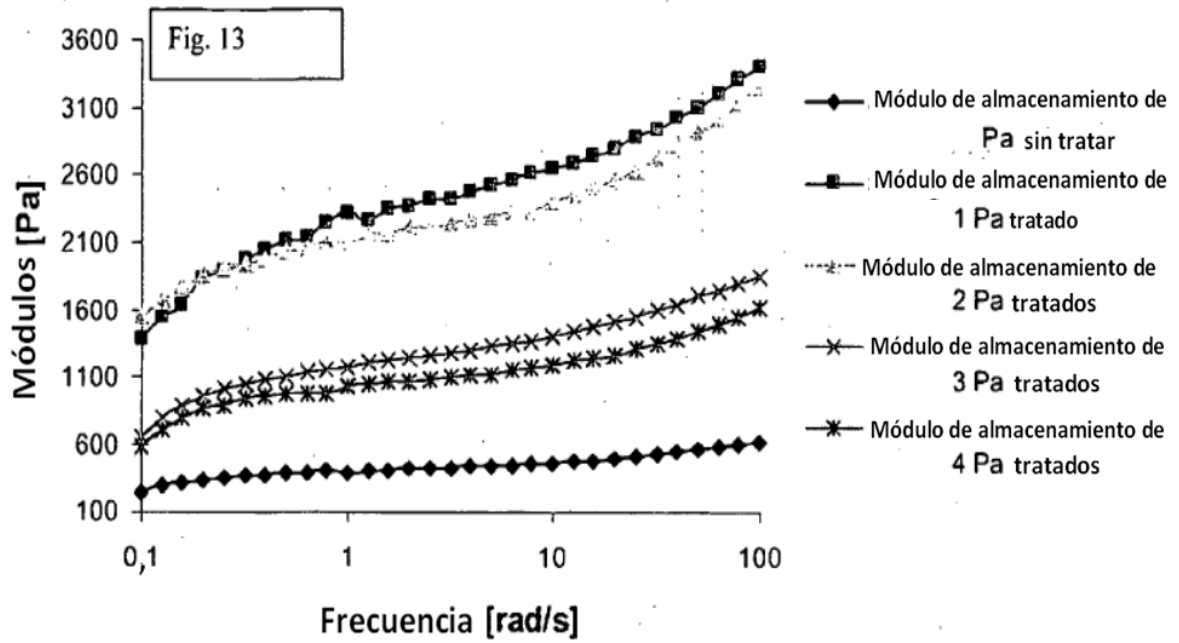


Fig. 12D Superposición de amplitud en el estudio de barrido de AcAD6 (D) 20 mg/ml con 0.1% de tensión a 25 °C





Concentración de gelatina	Frecuencia [rad/s]	Módulo de almacenamiento [Pa]	Módulo de pérdida [Pa]
10 mg/ml	0,1	17,63	2,77
15 mg/ml		36,72	5,48
20 mg/ml		54,36	3,95
10 mg/ml	1	20,87	0,80
15 mg/ml		50,68	5,93
20 mg/ml		57,00	6,95
10 mg/ml	10	21,90	0,86
15 mg/ml		74,35	-15,48
20 mg/ml		62,63	-7,27
10 mg/ml	100	21,68	3,83
15 mg/ml		56,35	8,74
20 mg/ml		73,80	10,60

Fig. 14

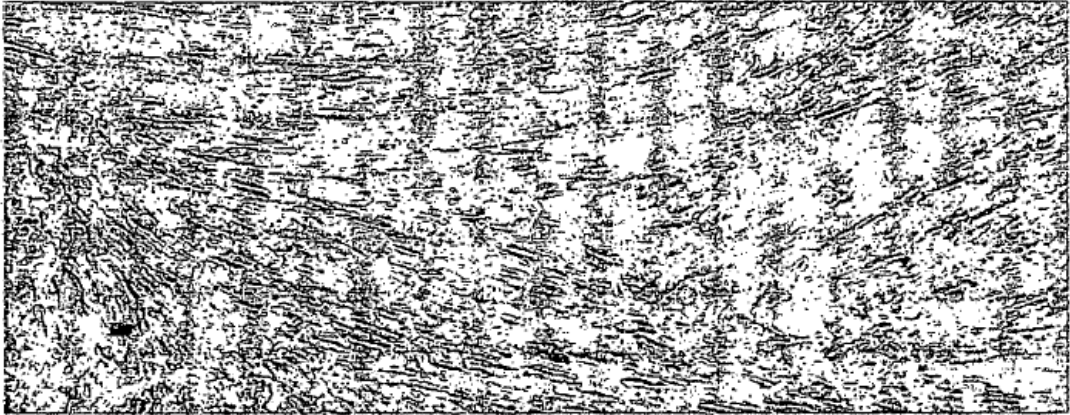


Fig. 15A

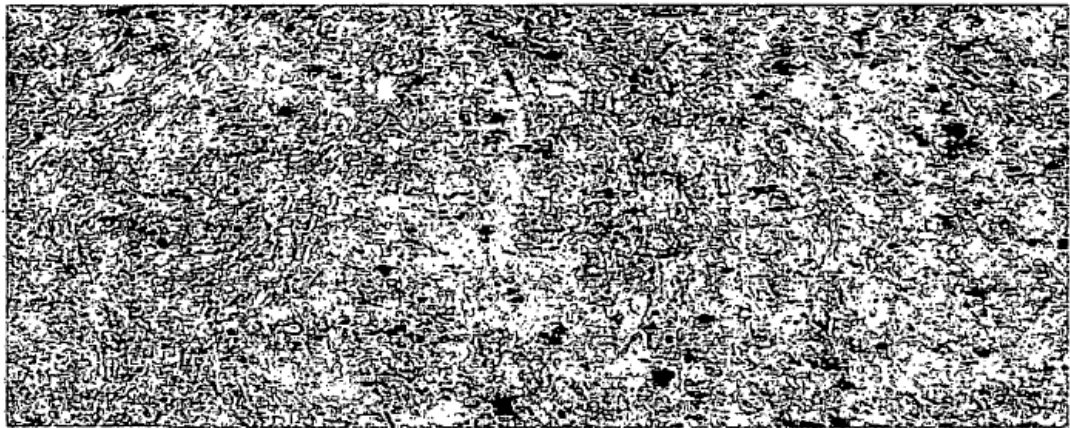


Fig. 15B

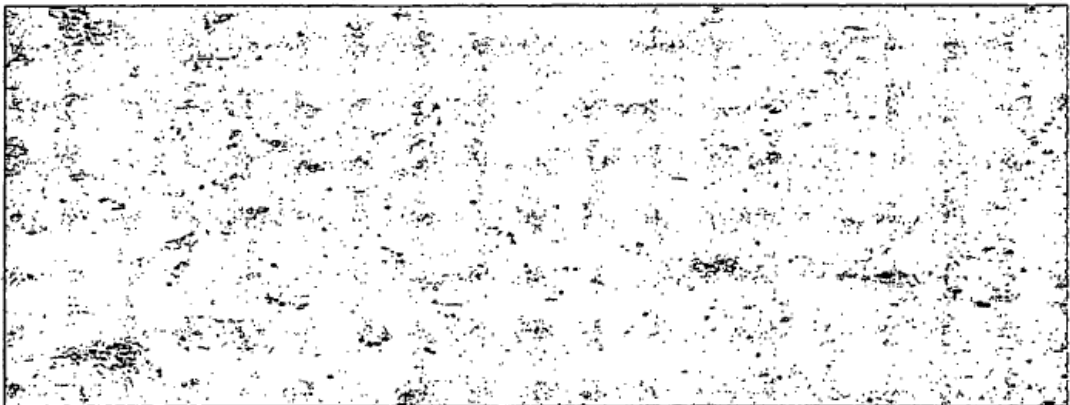


Fig. 15C



Fig. 15D

