

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 625**

51 Int. Cl.:

A61L 15/42 (2006.01)

A61L 26/00 (2006.01)

A61K 38/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.04.2008 E 12196176 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2017 EP 2581097**

54 Título: **Composiciones para prevenir adherencias y otras aplicaciones de barrera**

30 Prioridad:

25.04.2007 US 740284

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

27.10.2017

73 Titular/es:

**ARCH BIOSURGERY, INC. (100.0%)
One Broadway, 14th floor
Cambridge MA 02142, US**

72 Inventor/es:

**ELLIS-BEHNKE, RUTLEDGE;
NORCHI, TERRENCE W y
KELLY, STEPHEN RICHARD**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 639 625 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

Composiciones para prevenir adherencias y otras aplicaciones de barrera

Campo de la invención

5 La presente invención pertenece, en general, al campo de formulaciones para aplicar a tejidos y prevenir adherencias y otras aplicaciones de barrera.

Antecedentes de la invención

10 Las adherencias pueden estar presentes en el nacimiento (congénitas) o se pueden formar después de cirugía o inflamación abdominal. La mayoría de las adherencias típicamente se forman después de cirugía. Las adherencias son más comunes después de procedimientos en el colon, apéndice o útero que después de cirugía de otros órganos, tales como estómago, vesícula biliar o páncreas. El riesgo de desarrollar adherencias aumenta con el paso del tiempo después de la cirugía.

15 Las adherencias abdominales son bandas de tejido cicatricial fibroso que se forman en órganos en el abdomen, haciendo que los órganos se peguen entre sí o a la pared del abdomen. Las adherencias intestinales son bandas de tejido fibroso que conectan los bucles de los intestinos entre sí; los intestinos a otros órganos abdominales; o los intestinos a la pared abdominal. Estas bandas pueden empujar secciones de los intestinos fuera de sitio y pueden bloquear el paso de alimento. En las personas que viven en países desarrollados, este tejido cicatricial se desarrolla lo más habitualmente después de cirugía abdominal, en la que los órganos son manipulados por el equipo quirúrgico y son desplazados temporalmente de sus posiciones normales. El tejido cicatricial también se puede formar en personas que desarrollan peritonitis, una infección que se ha extendido a la membrana que cubre los órganos abdominales. La peritonitis ocurre habitualmente después de apendicitis u otras infecciones abdominales. Otra causa de adherencias es la endometriosis, una afección inflamatoria que afecta a mujeres y puede implicar al abdomen y traumatismo abdominal importante, incluyendo secciones de cesárea.

25 Las adherencias son una causa importante de obstrucción intestinal. Las adherencias pueden causar obstrucción parcial o completa de los intestinos. Los síntomas presentados debido a las adherencias dependen del grado y la localización de la obstrucción. Los síntomas incluyen calambres, dolor abdominal, vómitos, distensión, una incapacidad para pasar gas y estreñimiento. Sin embargo, en un pequeño número de personas que tienen adherencias, las bandas fibrosas del tejido cicatricial bloquean los intestinos bien completa o parcialmente. El bloqueo se llama una obstrucción intestinal, y conduce a la muerte en aproximadamente 5% de los casos. A veces, una zona del intestino que está afectada por adherencias puede estar bloqueada y después desbloqueada, causando síntomas que vienen y van. En aproximadamente 10% de las obstrucciones del intestino delgado, una parte del intestino se retuerce firmemente alrededor de una banda de adherencias. Esto corta el suministro de sangre normal al intestino retorcido, un trastorno conocido como estrangulación, causando que la sección del intestino muera. Cuando se produce esta urgencia, la persona debe someterse a cirugía inmediatamente, La tasa de mortalidad es tan alta como 37% en personas que desarrollan estrangulación.

35 La adhesiolisis epidural percutánea y adhesiolisis endoscópica espinal son técnicas de tratamiento del dolor intervencionistas usadas para tratar a los pacientes con dolor lumbar refractario debido a cicatriz epidural. Las inyecciones de esteroides epidurales estándar a menudo son ineficaces, en especial en pacientes con cirugía de espalda previa. Las adherencias en el espacio epidural pueden prevenir el flujo de medicamento a la zona objetivo; la lisis de estas adherencias puede mejorar el suministro del medicamento a las zonas afectadas, mejorando potencialmente la eficacia terapéutica de los medicamentos inyectados. Sin embargo, sería más preferible la prevención de dichas adherencias.

45 Se han intentado muchos materiales diferentes como medios para prevenir las adherencias. La mayoría de estos son hidrogeles que se aplican en forma de soluciones en el momento de la cirugía. La eficacia de estos materiales varía debido a la rápida degeneración y/o al fracaso en la formación de una barrera suficientemente gruesa. Otros materiales funcionan solo en combinación con fármacos antiproliferativos. No se ha mostrado que ninguno de estos materiales sea eficaz en un entorno altamente fluido, que normalmente está presente durante la cirugía debido a la hemorragia y pérdida de otros fluidos corporales.

50 Las patentes de EE.UU. nº 5.670.483, 6.548.630 y 7.098.028, de Zhang et al., describen péptidos anfifílicos que tienen restos hidrófobos e hidrófilos que alternan. Zhang alega que las membranas son potencialmente útiles en aplicaciones de biomateriales tales como sistemas de suministro de fármacos de difusión lenta, piel artificial y matrices de separación, y como modelos experimentales para la enfermedad de Alzheimer y encefalopatía espongiiforme ovina. Sin embargo, Zhang no divulga el uso de dichos materiales para prevenir adherencias.

55 Los documentos WO 2007/142757 y U.S.S.N. 11/411.745 describen composiciones que incluyen péptidos con monómeros hidrófilos e hidrófobos que alternan, que permiten que se autoensamblen en condiciones fisiológicas, que se formulan para aplicación a heridas.

El documento WO 2006/116524 se refiere a composiciones que incluyen materiales nanoestructurados o

precursores de los mismos, que pueden incluir otras sustancias como vasoconstrictores.

5 El documento WO 2006/014570 se refiere a cadenas de péptidos anfifílicos que tienen aminoácidos hidrófilos e hidrófobos que alternan, en los que el péptido contiene al menos 8 aminoácidos, que son complementarios y estructuralmente compatibles, y se autoensamblan en un armazón macroscópico de lámina beta, en el que en el péptido al menos aproximadamente 75% de las cadenas tienen la misma secuencia.

El documento WO 2004/007532 se refiere a materiales que comprenden cintas, fibrillas o fibras caracterizados porque cada una de las cintas, fibrillas o fibras tiene una disposición antiparalela de los péptidos en una estructura similar a cinta de lámina beta.

Sin embargo, estas aplicaciones no describen el uso de dichos materiales para prevenir las adherencias.

10 Por lo tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar composiciones para prevenir o minimizar las adherencias y para otras aplicaciones de barrera, que se pueden aplicar a tejidos o células que sangran o en presencia de fluidos.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar dicha composición que se puede formular como un vendaje, pulverizador, recubrimiento o polvo.

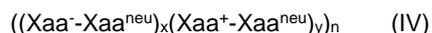
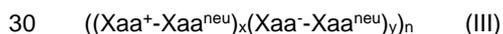
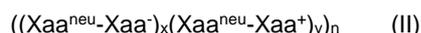
15 Es un objeto adicional más de la presente invención proporcionar una composición que se pueda usar para prevenir adherencias, pero que sea suficientemente transparente para permitir que el médico vea y trabaje a través del material.

Breve sumario de la invención

La invención es como se define en las reivindicaciones que acompañan.

20 Se formulan composiciones que incluyen péptidos que se autoensamblan en condiciones fisiológicas, para aplicar a tejidos para prevenir adherencias u otras aplicaciones de barrera, tales como minimizar la contaminación o infección (p. ej., de bacterias, hongos, virus u otros agente patógenos), limitar la expansión de metástasis después de cirugía de cáncer, o para el suministro de un agente terapéutico, de diagnóstico o profiláctico en una zona confinada, después de detener sustancialmente la hemorragia o pérdida de fluido.

25 En una realización, la composición comprende péptidos que se autoensamblan que tienen una longitud en el intervalo de 6 a 200 aminoácidos y comprenden una secuencia de restos de aminoácidos que conforman una o más de las fórmulas I-IV:



35 en las que Xaa^{neu} representa un resto de aminoácido que tiene una carga neutra; Xaa^+ representa un resto de aminoácido que tiene una carga positiva; Xaa^- representa un resto de aminoácido que tiene una carga negativa; x e y son números enteros que tienen un valor de 1, 2, 3, o 4, independientemente; y n es un número entero que tiene un valor de 1-5,

40 en la que los péptidos que se autoensamblan pueden formar una estructura de barrera autoensamblada, que inhibe o previene el paso de fluido corporal o sustancias corporales a través de la estructura en la que los péptidos que se autoensamblan comprenden además una secuencia de aminoácidos que interacciona con la matriz extracelular, en la que la secuencia de aminoácidos ancla los péptidos que se autoensamblan a la matriz extracelular, para usar en un procedimiento para prevenir las adherencias después de cirugía o herida en un sitio que lo necesite.

45 La concentración de los péptidos que se autoensamblan en cualquier formulación dada puede variar y puede ser aproximadamente 0,1% y 99%, inclusive, preferiblemente entre 0,1% y 10%. En una realización, la concentración de los péptidos que se autoensamblan (p. ej., en una formulación líquida) puede ser aproximadamente 0,1-3,0% (1-30 mg/ml) (p. ej., 0,1-1,0%; 1,0-2,0%; 2,0-3,0% o 1,0-3,0%). La concentración de péptidos que se autoensamblan puede ser mayor en soluciones madre y en formulaciones sólidas (p. ej., en polvo). Las preparaciones sólidas pueden tener una concentración de péptidos que se autoensamblan que se acerca al 100% (p. ej., la concentración de péptidos que se autoensamblan puede ser de 95, 96, 97, 98, 99% o más (p. ej., 99,99%) de la composición). Sea en forma líquida o sólida, los péptidos se pueden llevar a la concentración deseada antes de usar, por adición de un diluyente farmacéuticamente aceptable (p. ej., agua desionizada), cargas o aceite. Las formulaciones pueden incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable o agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico. Estos incluyen, pero no se limitan a antiinflamatorios, agentes vasoactivos, antiinfecciosos, anestésicos, factores de crecimiento y/o células. Se pueden añadir metales como quelantes o para disminuir más la adherencia.

La formulación se puede administrar según sea adecuado para el tratamiento de uno o más trastornos o afecciones, tales como las indicadas antes. Por ejemplo, la formulación se puede aplicar después de reparar una herida o durante cirugía del pulmón, ojo o duramadre, o después de una punción epidural o lumbar, para prevenir o minimizar la formación de adherencias. Los péptidos que se autoensamblan también se pueden usar para prevenir adherencias postlaminectomía (p. ej., adherencias en la cauda equina inducidas por laminectomía y adherencias después de descompresión espinal (p. ej., adherencias de la duramadre). Los péptidos que se autoensamblan también se pueden usar como un bloqueo o filtro del sistema inmunitario, en particular en el caso de lesión de un órgano o tejido, para prevenir la acumulación de glóbulos rojos y/o la agregación de plaquetas en el sitio de la herida. Esto se ha demostrado en heridas en el hígado y cerebro.

En algunas realizaciones, los péptidos que se autoensamblan pueden permitir el paso de materiales seleccionados mientras que previenen el paso o introducción de otros materiales, tales como bacterias, virus, hongos, etc.

La formulación se puede aplicar como un hidrogel, laminado que incluye aceite o como una pulverización. En una realización, la formulación se proporciona como un polvo seco o liofilizado que se puede administrar directamente en forma de un polvo o un comprimido, disco u oblea que se hidrata en el sitio de aplicación, o suspendida o disuelta en un líquido, lo más preferiblemente acuoso, y aplicar como una pulverización, pintura, inyección o un hidrogel que incluye un material tal como quitina, colágeno, alginato o polímero sintético. En una realización preferida, los péptidos que se autoensamblan se proporcionan en combinación con un aceite, cuya combinación forma un laminado. En otra realización más, la formulación se proporciona como un vendaje, espuma o matriz, en la que los péptidos que se autoensamblan se pueden dispersar o absorber. La formulación también podría estar en forma de suturas, cintas o adhesivos. Las formulaciones líquidas se pueden proporcionar en una jeringa o pipeta que tiene un barril que contiene una composición que incluye los péptidos que se autoensamblan y un medio para expulsar la composición de una punta abierta de la jeringa o pipeta (p. ej., un émbolo o pera). La jeringa puede consistir en uno o más compartimentos, de modo que la mezcla de los péptidos que se autoensamblan con uno o más de otros agentes se produce en el momento de la aplicación. Los compartimentos también pueden contener excipientes tal como un material que forma un hidrogel o adhesivo, en un compartimento y los péptidos que se autoensamblan en el otro compartimento. En otra realización, un compartimento puede contener liofilizado o partículas de péptidos que se autoensamblan, y otro compartimento puede contener solución para disolver o hidratar los péptidos, o mezclado con otros polvos para la aplicación en seco. Las composiciones líquidas y en polvo son estables, preferiblemente durante un periodo mayor de un año, más preferiblemente mayor de dos años y lo más preferiblemente mayor de tres años.

Una o más de las composiciones descritas en el presente documento se pueden proporcionar en kits, junto con instrucciones de uso. Por ejemplo, los kits pueden incluir una composición biocompatible que incluye péptidos que se autoensamblan (o una solución concentrada o formulación en polvo de la misma, junto con un diluyente), y un vasoconstrictor, un agente colorante o un agente analgésico o anestésico e instrucciones para su combinación (si no están ya combinados) y uso (p. ej., dilución y administración). Los kits pueden incluir además uno o más agentes adicionales descritos en el presente documento. Estos agentes pueden estar presente dentro de la composición de autoensamblaje o envasados por separado, y pueden incluir uno o más tipos de células biológicas, un antibiótico u otro agente terapéutico, colágeno, un agente antiinflamatorio, un factor de crecimiento o un nutriente. El kit también puede incluir uno o más de una jeringa (p. ej., una jeringa de cilindro o una pera de goma), una aguja, una pipeta, gasas, esponja, algodón, torundas, un vendaje, un desinfectante, un hilo quirúrgico, tijeras, un escalpelo, un fluido estéril, una lata de pulverizador, incluyendo aquellos en los que una solución líquida se pulveriza a través de una bomba manual simple, un recipiente estéril, o guantes desechables. El kit también puede incluir uno o más aditivos para variar la cinética del ensamblaje del material dependiendo del entorno en que se van a usar los péptidos que se autoensamblan.

Descripción detallada de la invención

I. Formulaciones

“Adherencias”, como se usa en el presente documento, se refiere en general a tejido fibroso y/o tejido cicatricial unido a superficies de órganos y/o tejidos, capaces de conectar, cubrir o deformar órganos y/o tejido. Las adherencias pueden ser causadas por infecciones y/o cirugía previas. Las adherencias pueden ocurrir en una variedad de áreas del cuerpo que incluyen, pero no se limitan a la zona pélvica, abdomen, intestino y órganos reproductores, tales como trompas de Falopio u ovarios.

“Biocompatible”, como se usa en el presente documento, se refiere a la compatibilidad con el tejido vivo o un sistema vivo, no siendo tóxico, dañino o fisiológicamente reactivo y no causando rechazo inmunológico.

“Complementario” significa que tiene la capacidad de formar interacciones por enlaces iónicos o de hidrógeno entre restos hidrófilos de péptidos adyacentes en la estructura. Cada resto hidrófilo en un péptido forma enlace de hidrógeno o par iónico con un resto hidrófilo de un péptido adyacente, o está expuesto al disolvente. El emparejamiento también puede implicar fuerzas de Van der Waals.

“Cantidad eficaz”, con referencia a un agente activo tal como un péptido o biomolécula que se autoensambla, agente

farmacéutico, etc., se refiere a la cantidad necesaria para producir una respuesta biológica deseada. Como apreciarán los expertos en la materia, la cantidad eficaz de un agente puede variar dependiendo de factores tales como el punto final biológico deseado, el agente que se va a suministrar, la naturaleza del sitio en el que se va a suministrar el agente, la naturaleza de las afecciones para las que se administra el agente, etc. Por ejemplo, la cantidad eficaz de una composición para el tratamiento de la retinopatía diabética puede ser una cantidad suficiente para promover la recuperación en una mayor extensión que ocurriría en ausencia de la composición.

“Hemostasia” se refiere a la detención de hemorragia.

“Prevenir” se refiere a hacer que no se produzca una afección, estado o enfermedad, o síntoma o manifestación de estas, o empeoramiento de la gravedad de estas. La prevención incluye reducir el riesgo de que se produzca una afección, estado o enfermedad, o síntoma o manifestación de estas, o empeoramiento de la gravedad de estas.

“Reparación”, usado en referencia a la reparación de tejido en diferentes realizaciones de la invención, puede incluir cualquier aspecto de restablecimiento anatómico o funcional de la afección o el tejido antes de una lesión, deterioro u otro daño. Por ejemplo, puede incluir restablecer la continuidad física entre partes del tejido que se separaron por lesión, deterioro u otro daño. Preferiblemente, dicho restablecimiento de la continuidad física incluye la reposición o reconexión de las partes del tejido sin separación apreciable mediante tejido de un tipo que no estaba presente antes de la herida, tal como tejido cicatricial. La reparación puede, pero no es necesario, incluir crecimiento o desarrollo de nuevo tejido. “Reparar” y “curar” se usan de forma intercambiable en el presente documento.

“Autoensamblaje”, como se usa en el presente documento, se refiere al ensamblaje de moléculas en conjuntos unidos de forma no covalente, estables, definidos, que se mantienen juntos entre sí por fuerzas intermoleculares. El ensamblaje puede ser espontáneo o inducido.

II. Materiales que se autoensamblan

A. Péptidos que se autoensamblan

El término “péptido”, como se usa en el presente documento, incluye “polipéptido”, “oligopéptido” y “proteína”, y se refiere a una cadena de al menos dos restos de α -aminoácidos unidos entre sí por enlaces covalentes (p. ej., enlaces peptídicos). Los péptidos útiles pueden variar en longitud siempre que retengan la capacidad de autoensamblaje en una medida útil para uno o más de los propósitos descritos en el presente documento. El número de restos de aminoácidos en el péptido puede estar en el intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 200 restos, preferiblemente de aproximadamente 6 a aproximadamente 64 restos, más preferiblemente de aproximadamente 8 a aproximadamente 36 restos, lo más preferiblemente de aproximadamente 8 a aproximadamente 24 restos. Los péptidos pueden ser de al menos seis aminoácidos de longitud (p. ej., 8 o 10 aminoácidos), al menos 12 aminoácidos de longitud (p. ej., 12 o 14 aminoácidos), o al menos 16 aminoácidos de longitud (p. ej., 16, 18, 20, 22, o 24 aminoácidos). Los péptidos que son de menos de 100 restos de aminoácidos de longitud, más preferiblemente menos de aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, se pueden ensamblar más fácilmente. En una realización, el péptido tiene de aproximadamente 8 a aproximadamente 16 restos. En otra realización, el péptido tiene de aproximadamente 12 a aproximadamente 20 restos. En otra realización más, el péptido tiene de aproximadamente 16 a aproximadamente 20 restos. “Péptido” puede referirse a un péptido individual o a una colección de péptidos que tienen la misma o diferente secuencia, cualquiera de los cuales puede contener restos de α -aminoácidos naturales, restos de α -aminoácidos no naturales y combinaciones de los mismos. Los análogos de α -aminoácidos también son conocidos en la técnica y se pueden usar alternativamente. En particular, se pueden usar, restos de D- α -aminoácidos.

Además, se pueden alterar o derivatizar uno o más de los restos de aminoácidos en un péptido que se autoensambla por la adición de una o más entidades químicas que incluyen, pero no se limitan a grupos acilo, grupos carbohidratos, cadenas de carbohidratos, grupos fosfato, grupos farnesilo, grupos isofarnesilo, grupos ácido graso, o un conector que permita la conjugación o funcionalización del péptido. Por ejemplo, se pueden modificar cualquiera o ambos extremos de un péptido dado. Por ejemplo, los grupos carboxilo y/o amino de los restos carboxilo y amino terminales, respectivamente pueden estar protegidos o no protegidos. También se puede modificar la carga en un extremo. Por ejemplo, un grupo o radical tal como un grupo acilo (RCO-, donde R es un grupo orgánico (p. ej., un grupo acetilo (CH₃CO-)) puede estar presente en el extremo N de un péptido para neutralizar una carga positiva “extra” que de lo contrario puede estar presente (p. ej., una carga que no resulta de la cadena lateral del aminoácido N-terminal). Igualmente, se puede usar un grupo tal como un grupo amina (RNH-, donde R es un grupo orgánico (p. ej., un grupo amino -NH₂)) para neutralizar una carga negativa “extra” que de lo contrario puede estar presente en el extremo C (p. ej., una carga que no resulta de la cadena lateral del resto de aminoácido C terminal). Cuando se usa una amina, el extremo C lleva una amida (-CONHR). La neutralización de las cargas en un extremo puede facilitar el autoensamblaje. Un experto en la materia podrá seleccionar otros grupos adecuados.

Los péptidos útiles también pueden ser ramificados, en cuyo caso contendrán al menos dos polímeros de aminoácidos, cada uno de los cuales consiste en al menos tres restos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Los dos polímeros de aminoácidos pueden estar unidos por un enlace distinto de un enlace peptídico.

Aunque las secuencias de los péptidos pueden variar, las secuencias útiles incluyen las que transmiten una naturaleza anfifílica a los péptidos (p. ej., los péptidos pueden contener aproximadamente el mismo número de restos de aminoácidos hidrófobos e hidrófilos), y los péptidos pueden ser complementarios y estructuralmente compatibles. Los péptidos complementarios tienen la capacidad de formar enlaces iónicos o de hidrógeno entre los restos (p. ej., restos hidrófilos) en péptidos adyacentes en una estructura. Por ejemplo, uno o más restos hidrófilos en un péptido se pueden emparejar por enlace de hidrógeno o de forma iónica con uno o más restos hidrófilos en un péptido adyacente. Los restos hidrófilos son aquellos restos que típicamente contienen un grupo funcional polar o un grupo funcional que está cargado en condiciones fisiológicas. Los grupos funcionales de ejemplo incluyen, pero no se limitan a grupos ácido carboxílico, grupos amino, grupos sulfato, grupos hidroxilo, grupos halógeno, grupos nitro, grupos fosfato, etc. Los restos hidrófobos son aquellos restos que contienen grupos funcionales no polares. Los grupos funcionales de ejemplo incluyen, pero no se limitan a grupos alquilo, grupos alqueno, grupos alquino y grupos fenilo.

En una realización, el resto hidrófilo tiene la fórmula -NH-CH(X)-COO- , en la que X tiene la fórmula $(\text{CH}_2)_y\text{Z}$, en la que $y = 0-8$, preferiblemente 1-6, más preferiblemente 1-4 y lo más preferiblemente 1-3, y Z es un grupo funcional polar o cargado que incluye, pero no se limita a un grupo ácido carboxílico, un grupo amino, un grupo sulfato, un grupo hidroxilo, un grupo halógeno, un grupo nitro, un grupo fosfato, o un grupo funcional que contiene una amina cuaternaria. La cadena de alquilo puede tener una disposición lineal, ramificada o cíclica. X también puede contener uno o más heteroátomos en la cadena de alquilo y/o X puede estar sustituido con uno o más sustituyentes adicionales. En una realización preferida, Z es un grupo ácido carboxílico o un grupo amino. En una realización, el resto hidrófobo tiene la fórmula -NH-CH(X)-COO- , en la que X tiene la fórmula $(\text{CH}_2)_y\text{Z}$, en la que $y = 0-8$, preferiblemente 1-6, más preferiblemente 1-4, y más preferiblemente 1-3, y Z es un grupo funcional no polar, que incluye, pero no se limita a un grupo alquilo, un grupo alqueno, un grupo alquino o un grupo fenilo. La cadena de alquilo, alqueno o alquino puede tener una disposición lineal, ramificada o cíclica. X también puede contener uno o más heteroátomos en la cadena de alquilo y/o X puede estar sustituido con uno o más sustituyentes adicionales. En una realización preferida, X es un grupo alquilo tal como un grupo metilo.

Cuando se usan péptidos que se autoensamblan, se cree que sus cadenas laterales (o grupo R) se reparten en dos fases, una cara polar con cadenas laterales iónicas con carga positiva y/o negativa (p. ej., cadenas laterales que contienen grupos -OH , -NH , $\text{-CO}_2\text{H}$, o -SH), y una cara no polar con cadenas laterales que se consideran neutras o no cargadas a pH fisiológico (p. ej., la cadena lateral de un resto alanina o restos que tienen otros grupos hidrófobos). Los restos de aminoácidos con cargas positivas y negativas en la cara polar de un péptido pueden formar pares iónicos complementarios con restos cargados de forma opuesta de otro péptido. Por lo tanto, estos péptidos se pueden llamar péptidos autocomplementarios iónicos. Si los restos iónicos alternan, con un resto con carga positiva y uno con carga negativa en la cara polar (-+++ -++), los péptidos se pueden describir como "módulo I"; si los restos iónicos alternan con dos restos con carga positiva y dos negativa (-++++) en la cara polar, los péptidos se describen como "módulo II"; si los restos iónicos alternan con tres restos con carga positiva y tres negativa (+++-----) en la cara polar, los péptidos se describen como "módulo III"; si los restos iónicos alternan con cuatro restos con carga positiva y cuatro negativa (++++-----) en la cara polar, se describen como "módulo IV." Un péptido que tiene cuatro unidades que se repiten de la secuencia EAKA (SEQ ID NO: 111) se puede designar EAKA16-I (SEQ. ID NO: 410), y los péptidos que tienen otras secuencias se pueden describir por el mismo convenio.

Restos no emparejados puede interaccionar (p. ej., formar enlaces de hidrógeno, etc.) con el disolvente. Las interacciones péptido-péptido también pueden implicar fuerzas de Van der Waals y/o fuerzas que no constituyen enlaces covalentes. Los péptidos son estructuralmente compatibles cuando son capaces de mantener una distancia intrapéptido suficientemente constante para permitir el autoensamblaje y la formación de estructura. La distancia intrapéptido puede variar. La "distancia intrapéptido", como se usa en el presente documento, se refiere a la media de un número de distancias representativas entre restos de aminoácidos adyacentes. En una realización, la distancia intrapéptido es menor de aproximadamente 4 angstroms, preferiblemente menor de aproximadamente 3, más preferiblemente menor de aproximadamente 2 angstroms, y lo más preferiblemente menor de aproximadamente 1 angstrom. La distancia intrapéptido puede ser, no obstante, mayor que esta. Estas distancias se pueden calcular basándose en la modelización molecular o basándose en un procedimiento simplificado descrito en la patente de EE.UU. N° 5.670.483 de Zhang et al.

Las estructuras descritas en el presente documento se pueden formar por autoensamblaje de los péptidos descritos en las patentes de EE.UU. n° 5.670.483; 5.955.343; 6.548.630; y 6.800.481 de Zhang et al.; Holmes et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:6728-6733 (2000); Zhang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:3334-3338 (1993); Zhang et al., *Biomaterials*, 16:1385-1393 (1995); Caplan et al., *Biomaterials*, 23:219-227 (2002); Leon et al., *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 9:297-312 (1998); y Caplan et al., *Biomacromolecules*, 1:627-631 (2000).

Se pueden usar péptidos que se autoensamblan que contienen restos de aminoácidos hidrófobos e hidrófilos que alternan. Los ejemplos de péptidos hidrófobos e hidrófilos representativos se dan en la tabla 1.

Tabla 1. Péptidos que se autoensamblan representativos

Nº	Secuencia (N→C)
1.	n-SGSGSGSGSGSGSGG-c (SEQ ID NO: 2)
2.	n-SASASASASASASA-c (SEQ ID NO: 3)
3.	n-SVSVSVSVSVSVSV-c (SEQ ID NO: 4)
4.	n-SLSLSLSLSLSLSL-c (SEQ ID NO: 5)
5.	n-SISISISISISISI-c (SEQ ID NO: 6)
6.	n-SMSMSMSMSMSM-c (SEQ ID NO: 7)
7.	n-SFSFSFSFSFSFSF-c (SEQ ID NO: 8)
8.	n-SWSWSWSWSWSWSW-c (SEQ ID NO: 9)
9.	n-SPSPSPSPSPSP-c (SEQ ID NO: 10)
10.	n-TGTGTGTGTGTGTG-c (SEQ ID NO: 11)
11.	n-TATATATATATATA-c (SEQ ID NO: 12)
12.	n-TVTVTVTVTVTVTV-c (SEQ ID NO: 13)
13.	n-TLTLTLTLTLTL-c (SEQ ID NO: 14)
14.	n-TITITITITITITI-c (SEQ ID NO: 15)
15.	n-TMTMTMTMTMTM-c (SEQ ID NO: 16)
16.	n-TFTFTFTFTFTF-c (SEQ ID NO: 17)
17.	n-TWTWTWTWTWTW-c (SEQ ID NO: 18)
18.	n-TPTPTPTPTPTP-c (SEQ ID NO: 19)
19.	n-CGCGCGCGCGCG-c (SEQ ID NO: 20)
20.	n-CACACACACACACA-c (SEQ ID NO: 21)
21.	n-CVCVCVCVCVCV-c (SEQ ID NO: 22)
22.	n-CLCLCLCLCLCL-c (SEQ ID NO: 23)
23.	n-CICICICICICICI-c (SEQ ID NO: 24)
24.	n-CMCMCMCMCMCM-c (SEQ ID NO: 25)
25.	n-CFCFCFCFCFCF-c (SEQ ID NO: 26)
26.	n-CWCWCWCWCWCW-c (SEQ ID NO: 27)
27.	n-CPCPCPCPCPCP-c (SEQ ID NO: 28)
28.	n-YGYGYGYGYGYG-c (SEQ ID NO: 29)
29.	n-YAYAYAYAYAYA-c (SEQ ID NO: 30)
30.	n-YVYVYVYVYVYV-c (SEQ ID NO: 31)
31.	n-YLYLYLYLYLYL-c (SEQ ID NO: 32)
32.	n-YIYIYIYIYIYI-c (SEQ ID NO: 33)
33.	n-YMYMYMYMYMYM-c (SEQ ID NO: 34)
34.	n-YFYFYFYFYFYF-c (SEQ ID NO: 35)
35.	n-YWYWYWYWYWYW-c (SEQ ID NO: 36)
36.	n-YPYPYPYPYPYP-c (SEQ ID NO: 37)
37.	n-NGNGNGNGNGNG-c (SEQ ID NO: 38)
38.	n-NANANANANANA-c (SEQ ID NO: 39)
39.	n-NVNVNVNVNVNV-c (SEQ ID NO: 40)
40.	n-NLNLNLNLNLNL-c (SEQ ID NO: 41)
41.	n-NININININININI-c (SEQ ID NO: 42)
42.	n-NMNMNMNMNMNM-c (SEQ ID NO: 43)
43.	n-NFNFNFNFNFNF-c (SEQ ID NO: 44)
44.	n-NWNWNWNWNWNW-c (SEQ ID NO: 45)
45.	n-NPNPNPNPNPNP-c (SEQ ID NO: 46)
46.	n-QGQGQGQGQGQG-c (SEQ ID NO: 47)
47.	n-QAQAQAQAQAQA-c (SEQ ID NO: 48)
48.	n-QVQVQVQVQVQV-c (SEQ ID NO: 49)
49.	n-QLQLQLQLQLQL-c (SEQ ID NO: 50)
50.	n-QIQIQIQIQIQI-c (SEQ ID NO: 51)
51.	n-QMQMQMQMQMQM-c (SEQ ID NO: 52)
52.	n-QFQFQFQFQFQF-c (SEQ ID NO: 53)
53.	n-QWQWQWQWQWQW-c (SEQ ID NO: 54)
54.	n-QPQPQPQPQPQP-c (SEQ ID NO: 55)
55.	n-AEAKAEAKAEAKA-c (SEQ ID NO: 56)
56.	n-RADARADARADA-c (SEQ ID NO: 1)
57.	n-RAEARAEARAEA-c (SEQ ID NO: 58)
58.	n-KADAKADAKADA-c (SEQ ID NO: 59)

Se pueden usar otros péptidos o proteínas en combinación o de forma alterna con las composiciones o péptidos que se autoensamblan descritos. Se observará que los péptidos adicionales pueden incluir otros péptidos o proteínas que se autoensamblan. Alternativamente, el péptido puede ser péptidos que no se autoensamblan. Los péptidos,

proteínas o variantes químicamente modificadas adicionales de los mismos incluyen, pero no se limitan a los péptidos proporcionados en la tabla 2.

Tabla 2. Péptidos adicionales

1.	Pmp-Y(Me)-I-T-N-C-P-Orn-Y-NH ₂ (SEQ ID NO: 60)
2.	Mpr-Y-F-Q-N-C-P-R (SEQ ID NO: 61)
3.	C-Y-F-Q-N-C-P-R-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 62)
4.	C-Y-F-Q-N-C-P-R (SEQ ID NO: 63)
5.	C-Y-Ile-Q-N-C-P-R-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 64)
6.	Y-F-Q-N-Asu-P-R-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 65)
7.	Y-Ile-Q-N-Asu-P-R-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 66)
8.	Mpr-D-PiridilAnina-F-Q-N-C-P-R-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 67)
9.	Desamino-Pen-Y-F-V-N-C-P-DR-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 68)
10.	Mpr-Y-F-Q-N-C-P-R-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 69)
11.	Mpr-Y-F-Q-N-C-P-DR-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 70)
12.	Mpr-Y-F-Q-N-C-P-K (SEQ ID NO: 71)
13.	C-Y-F-Q-N-C-P-K-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 72)
14.	C-Y-F-Q-N-C-P-K (SEQ ID NO: 73)
15.	Mpr-Y-F-V-N-C-P-DR-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 74)
16.	C-F-Ile-Q-N-C-P-Orn-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 75)
17.	Pmp-DY(OEt)-F-V-N-C-P-Cit-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 76)
18.	Pmp-Y(OEt)-F-V-N-C-P-R-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 77)
19.	Pmp-Y(Me)-F-Q-N-C-P-R-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 78)
20.	Pmp-Y(Me)-I-Q-N-C-P-Orn-G-NH ₂ (SEQ ID NO: 79)
21.	G-DR-G-D-S-P (SEQ ID NO: 80)
22.	G-DR-G-D-S-P-A-S-S-K (SEQ ID NO: 81)
23.	G-P-R
24.	G-Pen-G-R-G-D-S-P-C-A (SEQ ID NO: 82)
25.	GRADSP (SEQ ID NO: 83)
26.	GRGD-DS-P (SEQ ID NO: 84)
27.	GRGDNP (SEQ ID NO: 85)
28.	GRGDS (SEQ ID NO: 86)
29.	GRGDSP (SEQ ID NO: 87)
30.	GRGDSPC (SEQ ID NO: 88)
31.	GRGDSPK (SEQ ID NO: 89)
32.	GRGDTP (SEQ ID NO: 90)
33.	GRGES (SEQ ID NO: 91)
34.	GRGESP (SEQ ID NO: 92)
35.	GRGETP (SEQ ID NO: 93)
36.	KGDS (SEQ ID NO: 94)
37.	GAVSTA (SEQ ID NO: 95)
38.	WTVPTA (SEQ ID NO: 96)
39.	TDVNGDGRHDL (SEQ ID NO: 97)
40.	REDV (SEQ ID NO: 98)
41.	RGDC (SEQ ID NO: 99)
42.	RGDS (SEQ ID NO: 100)
43.	RGDSPASSKP (SEQ ID NO: 101)
44.	RGDT (SEQ ID NO: 102)
45.	RGDV (SEQ ID NO: 103)
46.	RGES (SEQ ID NO: 104)
47.	SDGR (SEQ ID NO: 105)
48.	SDGRG (SEQ ID NO: 106)
49.	YRGDS (SEQ ID NO: 107)
50.	EGVNDNEEGFFSAR (SEQ ID NO: 108)
51.	YADSGEGDFLAEGGGVR (SEQ ID NO: 109)
52.	Glp-GVNDNEEGFFSARY (SEQ ID NO: 110)

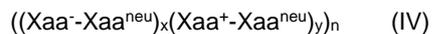
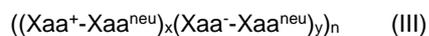
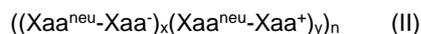
Pmp = fosfato de piridoxamina
Mpr = 3-mercaptopropionilo
Desamino-Pen = desamino-penicilamina
Pen = penicilamina
Asu = aminosuccinilo
OEt = etoxi
Me = metilo
Cit = citrulina

Se pueden generar otros péptidos que se autoensamblan útiles, que difieren, por ejemplo, de los ilustrados por un solo resto de aminoácido o por múltiples restos de aminoácidos (p. ej., por inclusión o exclusión de un cuarteto que se repite). Por ejemplo, se pueden incorporar uno o más restos de cisteína en los péptidos, y estos restos se pueden unir unos con otros por la formación de enlaces disulfuro. Las estructuras unidas de esta forma pueden tener una mayor resistencia mecánica con respecto a estructuras hechas con péptidos comparables que no incluyen restos de cisteína y por lo tanto no son capaces de formar enlaces disulfuro.

Los restos de aminoácidos en los péptidos que se autoensamblan pueden ser restos de aminoácidos que se encuentran de forma natural o no naturales. Los aminoácidos que se encuentran de forma natural pueden incluir restos de aminoácidos codificados por el código genético estándar, así como aminoácidos no estándar (p. ej., aminoácidos que tienen la configuración D en lugar de la configuración L), así como los aminoácidos que se pueden formar por modificaciones de los aminoácidos estándar (p. ej., pirrolisina o selenocisteína). Los aminoácidos no naturales no se encuentran o no se han encontrado en la naturaleza, pero se pueden incorporar en una cadena de péptido. Los aminoácidos no naturales adecuados incluyen, pero no se limitan a D-aloisoleucina ácido (2R,3S)-2-amino-3-metilpentanoico, L-ciclopentilglicina ácido (S)-2-amino-2-ciclopentilacético. Se pueden encontrar otros ejemplos de aminoácidos no naturales en los libros de texto o en internet (p. ej., un sitio mantenido por el Instituto de Tecnología de California que presenta estructuras de aminoácidos no naturales que se han incorporado satisfactoriamente en proteínas funcionales. Los restos de aminoácidos no naturales y derivados de aminoácidos descritos en la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2004/0204561 de Ellison.

Los péptidos que se autoensamblan se pueden sintetizar químicamente o purificar de fuentes naturales o de fuentes producidas de forma recombinante por procedimientos bien conocidos en la materia. Por ejemplo, se pueden sintetizar péptidos usando química de f-moc estándar y purificar usando cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

Los péptidos autocomplementarios tales como EAKA16-I (SEQ. ID NO. 410), RADA16-I (SEQ. ID NO. 1), RAEA16-I (SEQ. ID NO. 58), y KADA16-I (SEQ. ID NO. 59) se describen en Zhang, S., et al. ((1999) "Peptide self-assembly in functional polymer science and engineering". *Reactive & Functional Polymers*, 41, 91-102). Los péptidos que se autoensamblan comprenden una secuencia de restos de aminoácidos que conforman una o más de las fórmulas I-IV.



en las que Xaa^{neu} representa un resto de aminoácido que tiene una carga neutra; Xaa⁺ representa un resto de aminoácido que tiene una carga positiva; Xaa⁻ representa un resto de aminoácido que tiene una carga negativa; x e y son números enteros que tienen un valor de 1, 2, 3, o 4, independientemente; y n es un número entero que tiene un valor de 1-5. Los péptidos con módulo I (es decir, péptidos que tienen grupos R con carga positiva y negativa alternados en un lado (p. ej., la cara polar de la lámina β) se describen mediante cada una de las fórmulas I-IV, donde x e y son 1. Los péptidos de módulo II (es decir, péptidos que tienen dos restos que llevan un tipo de carga (p. ej., una carga positiva) seguido de dos restos que llevan otro tipo de carga (p. ej., una carga negativa) se describen por las mismas fórmulas donde x e y son 2. Los ejemplos de péptidos de módulo III (es decir, péptidos que tienen tres restos que llevan un tipo de carga (p. ej., una carga positiva) seguido de tres restos que llevan otro tipo de carga (p. ej., una carga negativa) incluyen, pero no se limitan a RARARADADADADA (SEQ. ID NO. 112) y RARARADADADADA (SEQ. ID NO. 113).

Otros restos hidrófilos que forman enlaces de hidrógeno que incluyen, pero no se limitan a asparagina y glutamina, se pueden incorporar en los péptidos. Si los restos de alanina en los péptidos se cambian por restos más hidrófobos, tales como leucina, isoleucina, fenilalanina o tirosina, los péptidos resultantes tienen una mayor tendencia a autoensamblarse y formar matrices de péptidos con resistencia mayor. Algunos péptidos que tienen secuencias de aminoácidos y longitudes similares a los péptidos descritos en el presente documento, forman hélices alfa o espirales aleatorias, en lugar de láminas beta, y no forman estructuras macroscópicas. Por lo tanto, además de la autocomplementaridad, es probable que otros factores sean importantes para la formación de estructuras macroscópicas, tales como la longitud del péptido, el grado de interacción intermolecular, y la capacidad para formar matrices escalonadas.

Las estructuras basadas en péptidos se pueden formar de mezclas heterogéneas de péptidos (es decir, mezclas que contienen más de un tipo de péptido que se ajustan a una fórmula dada o dos o más de las fórmulas). En algunas realizaciones, cada uno de los tipos de péptidos en la mezcla es capaz de autoensamblarse solo. En otras realizaciones, uno o más de cada tipo de péptido no se autoensamblarán solos, pero la combinación de péptidos heterogéneos puede autoensamblarse (es decir, péptidos en la mezcla son complementarios y estructuralmente compatibles entre sí). Por lo tanto, se puede usar una mezcla homogénea de péptidos autocomplementarios y

autocompatibles de la misma secuencia o que contienen la misma subunidad que se repite, o una mezcla heterogénea de diferentes péptidos, que son complementarios y estructuralmente compatibles entre sí.

En una realización preferida, se pueden añadir una o más secuencias de aminoácidos cortas que ayudan al autoensamblaje (denominadas secuencias de ayuda al ensamblaje) a una mezcla homogénea o heterogénea de secuencias de aminoácidos que solas no se autoensamblan. Las secuencias de ayuda al ensamblaje contienen aminoácidos que son complementarios de los aminoácidos en las secuencias en la mezcla. Las secuencias de ayuda al ensamblaje pueden contener cualquier número de aminoácidos. Preferiblemente, las secuencias de ayuda al ensamblaje contienen al menos 4 aminoácidos. Las secuencias de ayuda al ensamblaje pueden contener un conector flexible entre los aminoácidos que ayudan al autoensamblaje. Por ejemplo, la secuencia que ayuda al ensamblaje puede contener una pareja, una tríada o un cuarteto de aminoácidos que ayudan al ensamblaje en el extremo de la secuencia que se conectan por un conector flexible. Las secuencias de ayuda al ensamblaje adecuadas incluyen, pero no se limitan a RADA (SEQ ID NO: 57) y EAKA (SEQ ID NO: 1111).

Los conectores adecuados incluyen, pero no se limitan a uniones basadas en éter tales como polietilenglicol (PEG), 3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo (SPDP, espaciador de 3 y 7 átomos), SPDP de cadena larga (espaciador de 12 átomos), (succinimidiloxicarbonil- α -metil-2-(2-piridilditio)tolueno) (SMPT, espaciador de 8 átomos), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC, espaciador de 11 átomos) y 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de sulfosuccinimidilo, (sulfo-SMCC, espaciador de 11 átomos), éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida (MBS, espaciador de 9 átomos), éster de N-(γ -maleimidobutiriloxi)succinimida (GMBS, espaciador de 8 átomos), éster de N-(γ -maleimidobutiriloxi)sulfosuccinimida (sulfo-GMBS, espaciador de 8 átomos), 6-((yodoacetil)amino)hexanoato de succinimidilo (SIAX, espaciador de 9 átomos), 6-(6-(((4-iodoacetil)amino)hexanoil)amino)hexanoato de succinimidilo (SIAXX, espaciador de 16 átomos), y yodoacetato de p-nitrofenilo (NPIA, 2 espaciador de 2 átomos). Un experto en la materia también reconocerá que se puede usar una serie de otros conectores con diferentes números de átomos.

Las composiciones descritas en el presente documento independientemente de la forma precisa (p. ej., sea en una forma líquida o moldeada) e independientemente de las composiciones en general (p. ej., si están combinadas con otro agente, contenidas en un dispositivo o envasadas en un kit) pueden incluir una mezcla de una o más cadenas de péptidos.

Se pueden formar estructuras autoensambladas que tienen diferentes grados de rigidez o elasticidad. Las estructuras típicamente tienen un módulo elástico bajo (p. ej., un módulo elástico en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1000 kPa, preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 kPa, más preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 kPa, medido por procedimientos estándar, tal como en un reómetro de cono-placa estándar). Pueden ser preferidos valores bajos, ya que permiten la deformación de la estructura como resultado de movimiento, en respuesta a la presión, en el caso de contracción celular. Más específicamente, se puede controlar la rigidez de una variedad de formas, que incluyen cambio de la longitud, secuencia y/o concentración de las moléculas precursoras (es decir, péptidos que se autoensamblan). También se pueden usar otros procedimientos para aumentar la rigidez. Por ejemplo, se puede unir a los precursores moléculas de biotina o cualquier otra molécula que posteriormente se pueda reticular o unir de otra forma una con otra. Las moléculas (p. ej., biotina) se pueden incluir en un extremo N- o C- de un péptido o unir a uno o más restos entre los extremos. Cuando se usa biotina, la reticulación se puede lograr por la posterior adición de avidina. Los péptidos que contienen biotina o péptidos que contienen otras moléculas reticulables están dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, se pueden incorporar restos de aminoácidos con grupos polimerizables, que incluyen, pero no se limitan a grupos vinilo, y reticular por exposición a la luz UV. La extensión de la reticulación se puede controlar con precisión por aplicación de la radiación durante un periodo de tiempo predeterminado. La extensión de la reticulación se puede determinar por dispersión de la luz, filtración en gel o microscopía electrónica de barrido, usando procedimientos bien conocidos en la materia. Además, la reticulación se puede examinar por HPLC o análisis de espectrometría de masas de la estructura después de digestión con una proteasa, tal como metaloproteasas de la matriz. La resistencia del material se puede determinar antes y después de la reticulación. Independientemente de si se logra la reticulación mediante un agente químico o energía de la luz, las moléculas se pueden reticular en el transcurso de la creación de un molde o cuando las soluciones que contienen péptidos se aplican al cuerpo. Además, las cadenas de péptidos que se autoensamblan se pueden reticular para formar un patrón de tipo red de araña para reforzar el material in vivo. Las reticulaciones sirven para reforzar el material proporcionando mayor rigidez y resistencia. Por ejemplo, se pueden aplicar péptidos que se autoensamblan a una herida, en los que la periferia de los péptidos que se autoensamblan está funcionalizada con grupos polimerizables. Tras la reticulación, la periferia de los péptidos que se autoensamblan se vuelve más rígida, anclando los péptidos al sitio de la herida, mientras que el interior de los péptidos que se autoensamblan permanece flexible para moverse cuando se mueve el cuerpo.

La semivida (p. ej., la semivida in vivo) de las estructuras también se puede modular incorporando sitios de escisión de proteasa o peptidasa en los precursores que posteriormente forman una estructura dada. Las proteasas o peptidasas que se encuentran de forma natural in vivo o que se introducen (p. ej., por un cirujano) después pueden promover la degradación por escisión de sus sustratos cognados.

Se pueden hacer combinaciones de cualquiera de las modificaciones descritas aquí. Por ejemplo, se pueden usar

péptidos que se autoensamblan que incluyen un sitio de escisión de proteasa y un resto de cisteína y/o un agente de reticulación, kits y dispositivos que los contienen, y procedimientos de uso de los mismos.

Las estructuras de péptidos formadas a partir de cualquiera de los péptidos que se autoensamblan por cualquier procedimiento se pueden caracterizar usando diferentes técnicas biofísicas y ópticas, tales como difracción circular (CD), dispersión de la luz dinámica, infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), microscopía de fuerza atómica (AFM) (tensión), microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Por ejemplo, se pueden usar procedimientos biofísicos para determinar el grado de estructura secundaria de lámina beta en la estructura del péptido. El tamaño de filamentos y de poros, diámetro de las fibras, longitud, elasticidad y fracción en volumen, se pueden determinar usando análisis de imágenes cuantitativo de micrografías electrónicas de barrido y/o transmisión. Las estructuras también se pueden examinar usando varias técnicas de ensayo mecánico estándar para medir la extensión del hinchamiento, el efecto del pH y la concentración de iones en la formación de estructura, el nivel de hidratación en diferentes condiciones, la resistencia a la tracción, así como la forma en la que diferentes características cambian a lo largo del periodo de tiempo requerido para que las estructuras se formen y degraden. Estos procedimientos permiten al experto en la materia determinar cuál de las diferentes alternativas y péptidos descritos en el presente documento, son más adecuados para usar en los diferentes procedimientos, y permite la optimización de diferentes procedimientos.

En otra realización, se describen en el presente documento péptidos que se autoensamblan que se pueden anclar o interactuar con la matriz extracelular (ECM) estructural en los bordes de vasos sanguíneos y/o tejidos. Estos péptidos que se autoensamblan típicamente tienen secciones hidrófobas y/o hidrófilas que permiten que el material reaccione o interactúe con glucoproteínas encontradas en la ECM.

Preferiblemente, los péptidos que se autoensamblan cuando se descomponen no producen ninguna toxicidad secundaria. Además, el producto descompuesto de los péptidos que se autoensamblan sería adecuado para el crecimiento y reparación de tejidos que lo rodean.

1. Otros materiales que se autoensamblan

Otra realización proporciona péptidos que se autoensamblan que tienen un segmento de restos que tienen una carga positiva en condiciones fisiológicas unida a un segmento de restos que tienen una carga negativa en condiciones fisiológicas. El segmento de restos con carga positiva o negativa puede incluir de aproximadamente 2 a aproximadamente 50 restos de aminoácidos, típicamente de aproximadamente 3 a aproximadamente 30 restos, más típicamente de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 restos de aminoácidos. En otra realización, aproximadamente la mitad de los restos del péptido que se autoensambla tienen carga positiva y la otra mitad del péptido que se autoensambla tiene restos de aminoácidos con carga negativa. Una combinación de estos péptidos se puede autoensamblar emparejando el extremo positivo de un primer péptido que se autoensambla con el extremo negativo de un segundo péptido que se autoensambla. El extremo negativo del primer péptido que se autoensambla se emparejará o se alineará con el extremo positivo del segundo péptido que se autoensambla. Los péptidos que se autoensamblan se apilarán o agregarán basándose en los extremos opuestos de los péptidos que se autoensamblan que son atacados basado en la carga en composiciones fisiológicas. Una realización representativa proporciona un péptido que se autoensambla que tiene la siguiente secuencia RRRR-DDDD (SEQ ID NO: 114) o GGGG-SSSS (SEQ ID NO: 115).

En otra realización más, el péptido que se autoensambla tiene una primera región hidrófoba operativamente unida a una primera región hidrófila. La primera región hidrófoba puede incluir un segmento de restos de aminoácidos que tienen cadenas laterales hidrófobas en condiciones fisiológicas. La primera región hidrófila puede incluir un segmento de restos de aminoácidos que tienen cadenas laterales hidrófilas en condiciones fisiológicas. En esta realización, los extremos hidrófobos de los péptidos que se autoensamblan se ensamblarán con otros extremos hidrófobos y los extremos hidrófilos se ensamblarán con otros extremos hidrófilos. El ensamblaje se puede controlar alterando el entorno de los péptidos. Dichos materiales se podrían usar para recubrir el interior de una luz. Los extremos hidrófobos probablemente interactuarían con la ECM de la superficie de la luz sellando la superficie mientras que los extremos hidrófilos se extienden hacia el centro de la luz. Los fluidos continuarían fluyendo a través de la luz. Puesto que los péptidos que se autoensamblan se degradan y/o eliminan de la superficie de la luz, los péptidos fluirían desde otras áreas y de nuevo se anclarían en la superficie de la luz, así la composición actúa como un depósito que proporciona nuevos péptidos según sea necesario. Alternativamente, se podrían administrar péptidos que se autoensamblan adicionales para sustituir péptidos que se gastan o se han degradado. En otra realización, los péptidos que se autoensamblan se pueden usar como parches dinámicos, por ejemplo, en el tratamiento de úlceras o para usar en el intestino.

Otra realización proporciona un péptido que se autoensambla que contiene un segmento de restos que tienen una carga positiva o negativa en condiciones fisiológicas. Las secuencias de aminoácidos representativas para los péptidos que se autoensamblan con carga positiva incluyen, pero no se limitan a KKKK (SEQ ID NO: 116), RRRR (SEQ ID NO: 117), o HHHH (SEQ ID NO: 118). Las secuencias de aminoácidos representativas para los péptidos que se autoensamblan con carga negativa incluyen, pero no se limitan a DDDD (SEQ ID NO: 119) o EEEE (SEQ ID NO: 120). Cuando se combinan, una cadena de restos de aminoácidos con carga positiva se alineará en paralelo y opuesta a una cadena de restos de aminoácidos con carga negativa. En algunas realizaciones, las cadenas de

aminoácidos de carga positiva se alternarán con cadenas de aminoácidos de carga negativa para formar una estructura de múltiples capas.

Otra realización más proporciona péptidos que se autoensamblan que tienen una combinación de restos de aminoácidos polares hidrófilos y restos de aminoácidos no polares hidrófobos en condiciones fisiológicas. El uno o más restos hidrófilos pueden alternar con uno o más restos hidrófobos. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de un péptido que se autoensambla puede ser GQQQ (SEQ ID NO: 121), GGQQGG (SEQ ID NO: 122), GQQGQQG (SEQ ID NO: 123), GGQQGGG (SEQ ID NO: 124), etc. Se observará que el reparto de un péptido que se autoensambla en un entorno polar o no polar, se puede controlar alterando la relación de restos de aminoácidos hidrófobos a restos de aminoácidos hidrófilos, en la que una relación mayor de 1:1 indica que el péptido se reparte más en condiciones hidrófobas comparado con las condiciones hidrófilas. Una relación menor de 1:1 indica que el péptido se reparte más en condiciones hidrófilas comparado con condiciones hidrófobas.

Se pueden hacer combinaciones de cualquiera de las modificaciones descritas aquí. Por ejemplo, se pueden usar péptidos que se autoensamblan que incluyen un sitio de escisión de proteasa y un resto de cisteína y/o un agente de reticulación, kits y dispositivos que los contienen, y procedimientos de uso de los mismos. Las composiciones se pueden usar para prevenir o limitar el movimiento de un fluido corporal, para estabilizar tejido o células, o para prevenir la contaminación cuando se administra a un sitio que lo necesite. Las composiciones pueden ser en forma de un polvo seco, una pastilla, un disco, un comprimido, una cápsula, un líquido, un gel, una crema, una espuma, una pomada, una emulsión, un recubrimiento de una endoprótesis, catéter o implante médico, los péptidos incorporados en una micropartícula, una matriz polimérica, un hidrogel, una tela, un vendaje, una sutura o una esponja.

B. Formación de péptidos que se autoensamblan

Antes del autoensamblaje, los péptidos que se autoensamblan pueden estar contenidos (p. ej., disueltos) en una solución que carece sustancialmente de iones (p. ej., iones monovalentes) o que contiene una concentración suficientemente baja de iones para prevenir el autoensamblaje significativo (p. ej., una concentración de iones menor de 10, 5, 1 o 0,1 mM). El autoensamblaje se puede iniciar o potenciar en cualquier tiempo posterior por la adición de un soluto iónico o diluyente a una solución del material o por un cambio en el pH. Por ejemplo, el NaCl en una concentración de entre aproximadamente 5 mM y 5 M puede inducir ensamblaje de estructuras macroscópicas en un periodo de tiempo corto (p. ej., en unos pocos minutos). Las concentraciones menores de NaCl también pueden inducir el ensamblaje, pero a una velocidad más lenta. Alternativamente, el autoensamblaje se puede iniciar o potenciar introduciendo los péptidos (sea en seco, en un gel semisólido, o disueltos en una solución líquida que carece sustancialmente de iones) en un fluido (p. ej., un fluido fisiológico tal como sangre o jugo gástrico) o una zona (p. ej., una cavidad corporal tal como la nariz o la boca o una cavidad expuesta por un procedimiento quirúrgico) que comprende dichos iones. El gel no tiene que estar preformado antes de la aplicación al sitio deseado. En general, se espera que el autoensamblaje ocurra tras el contacto de los péptidos con dicha solución en cualquier manera.

Se puede usar una amplia variedad de iones, incluyendo aniones y cationes (sean divalentes, monovalentes o trivalentes). Por ejemplo, se puede promover una transición de fase por exposición a cationes monovalentes tales como Li⁺, Na⁺, K⁺, y Cs⁺. La concentración de dichos iones necesaria para inducir o potenciar el autoensamblaje típicamente es al menos 5 mM (p. ej., al menos 10, 20 o 50 mM). Concentraciones menores también facilitan el ensamblaje, aunque a una velocidad reducida. Cuando se desee, los péptidos que se autoensamblan se pueden suministrar con un material hidrófobo (p. ej., un aceite farmacéuticamente aceptable) en una concentración que permite el autoensamblaje, pero a menor velocidad. Cuando los péptidos que se autoensamblan se mezclan con un agente hidrófobo tal como un aceite o lípido, el ensamblaje de los péptidos forma diferentes estructuras. La parte hidrófila de la molécula se ensamblará de modo que se minimice la interacción hidrófoba-hidrófila, creando así una barrera entre los dos entornos. Varios experimentos han mostrado que los péptidos que se autoensamblan se alinearán sobre la superficie del aceite como hielo sobre agua con la parte hidrófoba de la molécula hacia la superficie y la parte hidrófila de la molécula alejándose del aceite, o formará estructuras de tipo toroidal con el material hidrófobo contenido dentro. Este tipo de comportamiento permite la encapsulación de productos terapéuticos y otra molécula de interés para el suministro en el cuerpo.

En otra realización, la composición puede contener un depurador de sales para dirigir el ensamblaje a una configuración preferida. Por ejemplo, los experimentos de dicroísmo circular ("CD") indican que la dinámica del ensamblaje se puede controlar usando depuradores de sales o potenciadores de sales para aumentar la formación de láminas β, hélices α o configuraciones más aleatorias. Las composiciones pueden contener opcionalmente un indicador que muestre la configuración del ensamblado (p. ej., hélice α, lámina β, red, etc.).

Alternativamente, algunos péptidos que se autoensamblan descritos en el presente documento no requieren iones para el autoensamblaje, sino que pueden autoensamblarse debido a interacciones con un disolvente, interacciones hidrófobas, interacciones de cadenas laterales, enlaces de hidrógeno y similares.

Dependiendo de la formulación y las propiedades deseadas de la estructura macroscópica (p. ej., la rigidez del armazón o la velocidad de su formación), la concentración de los precursores (es decir, los péptidos que se autoensamblan) puede variar de aproximadamente 0,01% en p/v (0,1 mg/ml) a aproximadamente 99,99% en p/v

(999,9 mg/ml), inclusive. Por ejemplo, la concentración antes de la formación del armazón puede ser entre aproximadamente 0,1% (1 mg/ml) y 10% (100 mg/ml), inclusive (p. ej., aproximadamente 0,1%-5%; 0,5%-5%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5%; 3,0%; o 4,0% o más). Los precursores (es decir, los péptidos que se autoensamblan) se pueden formular en forma de polvos y administrar en una forma de polvo o resuspendidos. Si están en forma seca, los péptidos pueden después autoensamblarse tras el contacto con fluidos corporales (p. ej., en un sitio de herida).

Los péptidos que se autoensamblan se pueden formar dentro de moldes de forma regular o irregular, que pueden incluir una cavidad corporal o una parte del cuerpo (p. ej., la luz de un vaso sanguíneo) o que pueden ser un material inerte tal como plástico o vidrio. Las estructuras o armazones se pueden hacer para conformarse en una forma predeterminada o para tener un volumen predeterminado. Para formar una estructura con una forma o volumen predeterminado (p. ej., una geometría o dimensiones deseadas, que incluyen láminas finas o películas), se pone una solución acuosa de los péptidos que se autoensamblan en un molde colado preformado, y se induce al autoensamblaje de los péptidos mediante la adición de una pluralidad de iones. Alternativamente, los iones se pueden añadir a la solución poco antes de poner la solución en el molde, siempre que se tenga cuidado de poner la solución en el molde antes de que se produzca ensamblaje sustancial. Cuando el molde es un tejido (p. ej., la luz de un vaso sanguíneo u otro compartimento, sea in situ o no), puede no ser necesaria la adición de una solución iónica. Las características de los péptidos autoensamblados resultantes, el tiempo necesario para el ensamblaje y las dimensiones de la estructura macroscópica que se forma están dirigidas por la concentración y la cantidad de solución que se aplica, la concentración de iones usada para inducir el ensamblaje de la estructura y las dimensiones del aparato de moldeo. El armazón puede lograr una forma de tipo gel o sustancialmente sólida a temperatura ambiente, y se puede aplicar calor para facilitar el moldeo (p. ej., se puede calentar una solución usada en el procedimiento de moldeo (p. ej., una solución que contiene precursores) a una temperatura en el intervalo de hasta aproximadamente la temperatura corporal (aproximadamente 37°C)). Una vez que el armazón ha alcanzado el grado de firmeza deseado, se puede retirar del molde y usar para un propósito descrito en el presente documento. Alternativamente, los péptidos que se autoensamblan descritos en el presente documento se pueden usar para anclar el tejido hospedante a una matriz o armazón de tejido. Por ejemplo, los péptidos que se autoensamblan descritos en el presente documento se pueden usar como un "pegamento" para anclar el tejido hospedante que se va a regenerar a una matriz o armazón de tejido para asegurar que la matriz o armazón permanecen en el sitio en el entorno local en el que se han inyectado o implantado. Las matrices y armazones son bien conocidos en la materia y se pueden preparar de materiales sintéticos, semisintéticos y/o naturales.

Los péptidos que se ensamblan y/o sufren una transición de fase (p. ej., una transición desde un estado líquido a uno semisólido, gel, etc.) cuando se ponen en contacto con el cuerpo o una solución iónica, son útiles para prevenir el movimiento de las sustancias corporales. El autoensamblaje o la transición de fase es producida por componentes encontrados en el cuerpo de un sujeto (p. ej. iones) o por el pH fisiológico y es ayudado por las temperaturas fisiológicas. El autoensamblaje o la transición de fase pueden empezar cuando las composiciones se exponen a o se ponen en contacto con el cuerpo de un sujeto y se pueden facilitar por la aplicación local de calor en la zona cuando la composición se ha depositado (o se depositará). Basado en estudios hasta la fecha, el autoensamblaje se produce rápidamente tras el contacto con tejidos corporales internos sin la aplicación de calor adicional. El tiempo necesario para que se produzca el ensamblaje y/o transición de fase eficaces puede ser de 60 segundos o menos después del contacto con los tejidos internos de un sujeto o condiciones similares a las encontradas dentro del cuerpo (p. ej., en 50, 40, 30, 20, o 10 segundos o menos). En algunas circunstancias, tales como cuando la concentración de los péptidos que se autoensamblan en la composición es baja o cuando el movimiento de la sustancia corporal es sustancial, el autoensamblaje o la transición de fase pueden tardar más en lograr el efecto deseado, por ejemplo, hasta 1 minuto, 5 minutos, 10 minutos, 30 minutos, 1 hora o más. Por ejemplo, una solución que contiene los péptidos que se autoensamblan aplicada a sitios de cortes transversales de vasos sanguíneos en el cerebro, hígado o músculo proporciona la hemostasia completa en tiempos tan cortos como 10 segundos después de la aplicación. Se pueden preferir soluciones que contienen iones cuando las composiciones se usan para proteger a un sujeto de la contaminación, ya que no se producen transiciones de fase, o no se producen fácilmente, cuando se ponen soluciones no iónicas en contacto con la piel.

Las composiciones pueden formar estructuras que son sustancialmente rígidas (p. ej., sólidas o casi sólidas) o que adoptan una forma y volumen definidos (p. ej., estructuras que se adaptan a la forma y volumen del sitio en donde se ha administrado la composición líquida, sea in vivo o ex vivo). El material solidificado puede ser algo deformable o compresible después de autoensamblaje o transición de fase, pero no fluirá sustancialmente de una zona a otra, como pueden hacer composiciones en un punto diferente del continuo de sólido a líquido, lo que puede deberse, al menos en parte, a su capacidad para sufrir transiciones de fase. Como resultado, las composiciones se pueden usar para prevenir el movimiento de una sustancia corporal en un sujeto que lo necesite. El autoensamblaje se puede lograr in vivo o ex vivo por exposición a condiciones dentro de un determinado intervalo de valores fisiológicos (p. ej., condiciones adecuadas para el cultivo celular o tisular) o condiciones no fisiológicas. Las "condiciones no fisiológicas" se refieren a condiciones dentro del cuerpo o en un sitio particular que se desvían de las condiciones fisiológicas en ese sitio. Dichas condiciones pueden ser resultado de traumatismo, cirugía, herida, infección o una enfermedad, trastorno o afección. Por ejemplo, una herida perforante en el estómago en general produce una disminución en el pH ya que el ácido del estómago fluye al sitio de la herida. Los péptidos descritos en el presente documento deberían autoensamblarse en dichas condiciones. Aunque las formulaciones líquidas se dispensan fácilmente, las composiciones administradas también pueden ser en forma de un gel que se puede hacer más rígido

en contacto con el cuerpo del sujeto.

La concentración de los péptidos que se autoensamblan en cualquier formulación dada puede variar y puede ser entre aproximadamente 0,1% (1 mg/ml) y 10% (100 mg/ml), inclusive. Por ejemplo, la concentración de los péptidos que se autoensamblan (p. ej., en una formulación líquida) puede ser aproximadamente 0,1-3,0% (1-30 mg/ml) (p. ej., 0,1-1,0%; 1,0-2,0%; 2,0-3,0% o 1,0-3,0%). La concentración de los péptidos que se autoensamblan puede ser mayor en soluciones madre y en formulaciones sólidas (p. ej., en polvo). En preparaciones sólidas, la concentración de los péptidos que se autoensamblan puede acercarse a 100% (p. ej., la concentración de los péptidos que se autoensamblan puede ser 95, 96, 97, 98, 99% o más (p. ej., 99,99%) de la composición). Sea en forma líquida o sólida, los péptidos que se autoensamblan se pueden llevar a la concentración deseada antes de usar por adición de un diluyente (p. ej., agua desionizada), polvo, agente humectante o un agente terapéutico, de diagnóstico o profiláctico.

Independientemente de la naturaleza precisa de los péptidos que se autoensamblan, tras la exposición a condiciones tales como las descritas en el presente documento, los péptidos pueden formar estructuras membranosas bi o tridimensionales, incluyendo matrices porosas macroscópicas estables o nanofibras entrelazadas no ordenadas (p. ej., fibras de aproximadamente 10-20 μm de diámetro, con un tamaño de poros de aproximadamente 50-100 nm en una dimensión lineal). Las matrices macroscópicas tridimensionales pueden tener dimensiones suficientemente grandes para ser visibles con pocos aumentos (p. ej. aproximadamente 10 veces o menos), y las estructuras membranosas pueden ser visibles a simple vista, incluso si son transparentes. Aunque sean tridimensionales, las estructuras pueden ser extremadamente finas, incluyendo un número limitado de capas de moléculas (p. ej., 2, 3 o más capas de moléculas). Típicamente, cada una de las dimensiones de una estructura dada será de un tamaño de al menos 10 μm (p. ej., dos dimensiones de al menos 100-1000 μm de tamaño (p. ej., 1-10 mm, 10-100 mm, o más)). Las dimensiones relevantes se pueden expresar como longitud, anchura, profundidad, amplitud, altura, radio, diámetro o circunferencia en el caso de estructuras que tienen una forma sustancialmente regular (p. ej., cuando la estructura es una esfera, cilindro, cubo o similares) o una aproximación a cualquiera de los anteriores, cuando las estructuras no tienen una forma regular.

Los péptidos que se autoensamblan pueden formar un material hidratado cuando se ponen en contacto con agua en condiciones tales como las descritas en el presente documento (p. ej., en presencia de una concentración suficiente (p. ej., concentraciones fisiológicas) de iones (p. ej., cationes monovalentes)). Los péptidos que se autoensamblan pueden tener un alto contenido de agua (p. ej., aproximadamente 95% o más (p. ej., aproximadamente 97%, 98%, 99% o más)), y las composiciones pueden estar hidratadas, pero no sustancialmente autoensambladas. Un valor dado puede ser "aproximado" reconociendo el hecho de que las mediciones pueden variar dependiendo, por ejemplo, de las circunstancias en las que se hacen y la experiencia de la persona que toma la medida. En general, un primer valor es aproximadamente igual a un segundo valor cuando el primero está dentro del 10% del segundo (sea mayor que o menor que) salvo que esté claro a partir del contexto que un valor no es aproximado, o cuando, por ejemplo, dicho valor supera 100% de un valor posible.

Las propiedades y resistencia mecánica de las estructuras o armazones se pueden controlar según sea necesario por la manipulación de los componentes en los mismos. Por ejemplo, la rigidez de un gel ensamblado se puede aumentar aumentando la concentración de los péptidos que se autoensamblan en los mismos. Alternativamente, puede ser deseable que diferentes partes de los péptidos que se autoensamblan tengan diferentes propiedades mecánicas. Por ejemplo, puede ser ventajoso disminuir la estabilidad de todos o parte de los péptidos que se autoensamblan manipulando la secuencia de aminoácidos. Esto puede ser deseable cuando los péptidos que se autoensamblan se usan para llenar un hueco, de modo que los bordes de los péptidos que se autoensamblan se unen al sitio del tejido mientras el resto de los péptidos fluyen hacia dentro del hueco. Las secuencias, características y propiedades de los péptidos y las estructuras formadas por los mismos tras el autoensamblaje se describen con más detalle más adelante.

Las composiciones se pueden formular como soluciones madre concentradas o en forma seca, y estas se pueden diluir o disolver para formar composiciones biocompatibles, que son sustancialmente no tóxicas para las células biológicas, in vitro o in vivo. Por ejemplo, las composiciones pueden contener materiales en cantidades que no producen un efecto perjudicial significativo en el cuerpo del receptor (p. ej., una reacción inmunológica o inflamatoria prohibitivamente grave, o formación de tejido cicatricial inaceptable).

Cuando una solución que contiene péptidos no ensamblados se coloca sobre un tejido biológico, los péptidos que tienen suficiente proximidad con el tejido se ensamblan, haciendo que la solución forme gel. Cualquier solución que permanezca distante del tejido permanece líquida, ya que los péptidos que se autoensamblan todavía no se han expuesto a condiciones que promuevan su ensamblaje. Cuando los péptidos que se autoensamblan se alteran (p. ej., realizando un procedimiento quirúrgico), parece que el material líquido forma gel cuando se pone en contacto suficiente con el cuerpo. A veces, las composiciones pueden tener características que van desde un líquido a aquellas de un sólido, las que parecen gel o tipo bálsamo o como una suspensión.

C. Modificación de los materiales que se autoensamblan para dirigirse a tejidos específicos

Los péptidos que se autoensamblan contienen además un componente específico de tejido. El componente

5 específico de tejido pueden ser péptidos que son específicos de células del ojo, cerebro o piel. Por ejemplo, los hidratos de carbono de la superficie celular son componentes principales de la superficie externa de las células de los mamíferos y con mucha frecuencia característicos de los tipos de células. Se supone que los hidratos de carbono específicos del tipo de célula están implicados en la interacción célula-célula. Por lo tanto, el componente específico de tejido puede dirigirse a estos hidratos de carbono de la superficie específicos de célula.

10 Además, se pueden añadir colas hidrófobas a los péptidos que se autoensamblan. Las colas pueden interactuar con membranas celulares, anclando así los péptidos que se autoensamblan sobre la superficie celular. La tabla 3 muestra una lista de péptidos con colas hidrófobas. También se pueden añadir colas hidrófilas a los péptidos, además de colas hidrófobas, para facilitar la interacción con la ECM de diferentes vasos o tejidos, tales como la vejiga.

Tabla 3. Colas hidrófobas

1	G	G	G	G	G	D	G	D	G	D	G	D	G	D	G	D	(SEQ. ID NO. 126)
2	G	G	G	G	G	E	G	E	G	E	G	E	G	E	G	E	(SEQ. ID NO. 127)
3	G	G	G	G	G	K	G	K	G	K	G	K	G	K	G	K	(SEQ. ID NO. 128)
4	G	G	G	G	G	R	G	R	G	R	G	R	G	R	G	R	(SEQ. ID NO. 129)
5	G	G	G	G	G	H	G	H	G	H	G	H	G	H	G	H	(SEQ. ID NO. 130)
6	A	A	A	A	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	(SEQ. ID NO. 131)
7	A	A	A	A	A	E	A	E	A	E	A	E	A	E	A	E	(SEQ. ID NO. 132)
8	A	A	A	A	A	K	A	K	A	K	A	K	A	K	A	K	(SEQ. ID NO. 133)
9	A	A	A	A	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	(SEQ. ID NO. 134)
10	A	A	A	A	A	H	A	H	A	H	A	H	A	H	A	H	(SEQ. ID NO. 135)
11	V	V	V	V	V	D	V	D	V	D	V	D	V	D	V	D	(SEQ. ID NO. 136)
12	V	V	V	V	V	E	V	E	V	E	V	E	V	E	V	E	(SEQ. ID NO. 137)
13	V	V	V	V	V	K	V	K	V	K	V	K	V	K	V	K	(SEQ. ID NO. 138)
14	V	V	V	V	V	R	V	R	V	R	V	R	V	R	V	R	(SEQ. ID NO. 139)
15	V	V	V	V	V	H	V	H	V	H	V	H	V	H	V	H	(SEQ. ID NO. 140)
16	L	L	L	L	L	D	L	D	L	D	L	D	L	D	L	D	(SEQ. ID NO. 141)
17	L	L	L	L	L	E	L	E	L	E	L	E	L	E	L	E	(SEQ. ID NO. 142)
18	L	L	L	L	L	K	L	K	L	K	L	K	L	K	L	K	(SEQ. ID NO. 143)
19	L	L	L	L	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	(SEQ. ID NO. 144)
20	L	L	L	L	L	H	L	H	L	H	L	H	L	H	L	H	(SEQ. ID NO. 145)
21	I	I	I	I	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	(SEQ. ID NO. 146)
22	I	I	I	I	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	(SEQ. ID NO. 147)
23	I	I	I	I	I	K	I	K	I	K	I	K	I	K	I	K	(SEQ. ID NO. 148)
24	I	I	I	I	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	(SEQ. ID NO. 149)
25	I	I	I	I	I	H	I	H	I	H	I	H	I	H	I	H	(SEQ. ID NO. 150)
26	M	M	M	M	M	D	M	D	M	D	M	D	M	D	M	D	(SEQ. ID NO. 151)
27	M	M	M	M	M	E	M	E	M	E	M	E	M	E	M	E	(SEQ. ID NO. 152)
28	M	M	M	M	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	(SEQ. ID NO. 153)
29	M	M	M	M	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	(SEQ. ID NO. 154)
30	M	M	M	M	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	(SEQ. ID NO. 155)
31	F	F	F	F	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D	(SEQ. ID NO. 156)
32	F	F	F	F	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	F	E	(SEQ. ID NO. 157)
33	F	F	F	F	F	K	F	K	F	K	F	K	F	K	F	K	(SEQ. ID NO. 158)
34	F	F	F	F	F	R	F	R	F	R	F	R	F	R	F	R	(SEQ. ID NO. 159)
35	F	F	F	F	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	(SEQ. ID NO. 160)
36	W	W	W	W	W	D	W	D	W	D	W	D	W	D	W	D	(SEQ. ID NO. 161)
37	W	W	W	W	W	E	W	E	W	E	W	E	W	E	W	E	(SEQ. ID NO. 162)
38	W	W	W	W	W	K	W	K	W	K	W	K	W	K	W	K	(SEQ. ID NO. 163)
39	W	W	W	W	W	R	W	R	W	R	W	R	W	R	W	R	(SEQ. ID NO. 164)
40	W	W	W	W	W	H	W	H	W	H	W	H	W	H	W	H	(SEQ. ID NO. 165)
41	P	P	P	P	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	(SEQ. ID NO. 166)
42	P	P	P	P	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	(SEQ. ID NO. 167)
43	P	P	P	P	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	(SEQ. ID NO. 168)
44	P	P	P	P	P	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P	R	(SEQ. ID NO. 169)
45	P	P	P	P	P	H	P	H	P	H	P	H	P	H	P	H	(SEQ. ID NO. 170)
46	A	A	A	A	A	R	A	D	A	R	A	D	A	R	A	D	(SEQ. ID NO. 171)
47	A	A	A	A	A	R	A	R	A	D	A	D	A	R	A	R	(SEQ. ID NO. 172)
48	A	A	A	A	A	E	A	K	A	E	A	K	A	E	A	K	(SEQ. ID NO. 173)
49	A	A	A	A	A	E	A	E	A	K	A	K	A	E	A	E	(SEQ. ID NO. 174)
50	A	A	A	A	A	R	A	E	A	R	A	E	A	R	A	E	(SEQ. ID NO. 175)

ES 2 639 625 T3

51	A	A	A	A	A	R	A	R	A	E	A	E	A	R	A	E	(SEQ. ID NO. 176)
52	A	A	A	A	A	K	A	D	A	K	A	D	A	K	A	D	(SEQ. ID NO. 177)
53	A	A	A	A	A	E	A	H	A	E	A	H	A	E	A	H	(SEQ. ID NO. 178)
54	A	A	A	A	A	E	A	E	A	H	A	H	A	E	A	E	(SEQ. ID NO. 179)
55	A	A	A	A	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	(SEQ. ID NO. 180)
56	A	A	A	A	A	R	A	R	A	R	A	R	A	D	A	D	(SEQ. ID NO. 181)
57	A	A	A	A	A	R	A	R	A	R	A	D	A	D	A	D	(SEQ. ID NO. 182)
58	A	A	A	A	A	H	A	D	A	H	A	D	A	H	A	D	(SEQ. ID NO. 183)
59	A	A	A	A	A	H	A	H	A	H	A	H	A	H	A	H	(SEQ. ID NO. 184)
60	A	A	A	A	A	H	A	D	A	D	A	H	A	D	A	D	(SEQ. ID NO. 185)
61	A	A	A	A	A	H	A	E	A	E	A	H	A	E	A	E	(SEQ. ID NO. 186)
62	G	G	G	G	G	R	G	D	G	R	G	D	G	R	G	D	(SEQ. ID NO. 187)
63	G	G	G	G	G	R	G	R	G	D	G	D	G	R	G	R	(SEQ. ID NO. 188)
64	G	G	G	G	G	E	G	K	G	E	G	K	G	E	G	K	(SEQ. ID NO. 189)
65	G	G	G	G	G	E	G	E	G	K	G	K	G	E	G	E	(SEQ. ID NO. 190)
66	G	G	G	G	G	R	G	E	G	R	G	E	G	R	G	E	(SEQ. ID NO. 191)
67	G	G	G	G	G	R	G	R	G	E	G	E	G	R	G	E	(SEQ. ID NO. 192)
68	G	G	G	G	G	K	G	D	G	K	G	D	G	K	G	D	(SEQ. ID NO. 193)
69	G	G	G	G	G	E	G	H	G	E	G	H	G	E	G	H	(SEQ. ID NO. 194)
70	G	G	G	G	G	E	G	E	G	H	G	H	G	E	G	E	(SEQ. ID NO. 195)
71	G	G	G	G	G	R	G	R	G	R	G	R	G	R	G	R	(SEQ. ID NO. 196)
72	G	G	G	G	G	R	G	R	G	R	G	R	G	D	G	D	(SEQ. ID NO. 197)
73	G	G	G	G	G	R	G	R	G	R	G	D	G	D	G	D	(SEQ. ID NO. 198)
74	G	G	G	G	G	H	G	D	G	H	G	D	G	H	G	D	(SEQ. ID NO. 199)
75	G	G	G	G	G	H	G	H	G	H	G	H	G	H	G	H	(SEQ. ID NO. 200)
76	G	G	G	G	G	H	G	D	G	D	G	H	G	D	G	D	(SEQ. ID NO. 201)
77	G	G	G	G	G	H	G	E	G	E	G	H	G	E	G	E	(SEQ. ID NO. 202)
78	V	V	V	V	V	R	V	D	V	R	V	D	V	R	V	D	(SEQ. ID NO. 203)
79	V	V	V	V	V	R	V	R	V	D	V	D	V	R	V	R	(SEQ. ID NO. 204)
80	V	V	V	V	V	E	V	K	V	E	V	K	V	E	V	K	(SEQ. ID NO. 205)
81	V	V	V	V	V	E	V	E	V	K	V	K	V	E	V	E	(SEQ. ID NO. 206)
82	V	V	V	V	V	R	V	E	V	R	V	E	V	R	V	E	(SEQ. ID NO. 207)
83	V	V	V	V	V	R	V	R	V	E	V	E	V	R	V	E	(SEQ. ID NO. 208)
84	V	V	V	V	V	K	V	D	V	K	V	D	V	K	V	D	(SEQ. ID NO. 209)
85	V	V	V	V	V	E	V	H	V	E	V	H	V	E	V	H	(SEQ. ID NO. 210)
86	V	V	V	V	V	E	V	E	V	H	V	H	V	E	V	E	(SEQ. ID NO. 211)
87	V	V	V	V	V	R	V	R	V	R	V	R	V	R	V	R	(SEQ. ID NO. 212)
88	V	V	V	V	V	R	V	R	V	R	V	R	V	D	V	D	(SEQ. ID NO. 213)
89	V	V	V	V	V	R	V	R	V	R	V	D	V	D	V	D	(SEQ. ID NO. 214)
90	V	V	V	V	V	H	V	D	V	H	V	D	V	H	V	D	(SEQ. ID NO. 215)
91	V	V	V	V	V	H	V	H	V	H	V	H	V	H	V	H	(SEQ. ID NO. 216)
92	V	V	V	V	V	H	V	D	V	D	V	H	V	D	V	D	(SEQ. ID NO. 217)
93	V	V	V	V	V	H	V	E	V	E	V	H	V	E	V	E	(SEQ. ID NO. 218)
94	L	L	L	L	L	R	L	D	L	R	L	D	L	R	L	D	(SEQ. ID NO. 219)
95	L	L	L	L	L	R	L	R	L	D	L	D	L	R	L	R	(SEQ. ID NO. 220)
96	L	L	L	L	L	E	L	K	L	E	L	K	L	E	L	K	(SEQ. ID NO. 221)
97	L	L	L	L	L	E	L	E	L	K	L	K	L	E	L	E	(SEQ. ID NO. 222)
98	L	L	L	L	L	R	L	E	L	R	L	E	L	R	L	E	(SEQ. ID NO. 223)
99	L	L	L	L	L	R	L	R	L	E	L	E	L	R	L	E	(SEQ. ID NO. 224)
100	L	L	L	L	L	K	L	D	L	K	L	D	L	K	L	D	(SEQ. ID NO. 225)
101	L	L	L	L	L	E	L	H	L	E	L	H	L	E	L	H	(SEQ. ID NO. 226)

ES 2 639 625 T3

102	L	L	L	L	L	E	L	E	L	H	L	H	L	E	L	E	(SEQ. ID NO. 227)
103	L	L	L	L	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	(SEQ. ID NO. 228)
104	L	L	L	L	L	R	L	R	L	R	L	R	L	D	L	D	(SEQ. ID NO. 229)
105	L	L	L	L	L	R	L	R	L	R	L	D	L	D	L	D	(SEQ. ID NO. 230)
106	L	L	L	L	L	H	L	D	L	H	L	D	L	H	L	D	(SEQ. ID NO. 231)
107	L	L	L	L	L	H	L	H	L	H	L	H	L	H	L	H	(SEQ. ID NO. 232)
108	L	L	L	L	L	H	L	D	L	D	L	H	L	D	L	D	(SEQ. ID NO. 233)
109	L	L	L	L	L	H	L	E	L	E	L	H	L	E	L	E	(SEQ. ID NO. 234)
110	I	I	I	I	I	R	I	D	I	R	I	D	I	R	I	D	(SEQ. ID NO. 235)
111	I	I	I	I	I	R	I	R	I	D	I	D	I	R	I	R	(SEQ. ID NO. 236)
112	I	I	I	I	I	E	I	K	I	E	I	K	I	E	I	K	(SEQ. ID NO. 237)
113	I	I	I	I	I	E	I	E	I	K	I	K	I	E	I	E	(SEQ. ID NO. 238)
114	I	I	I	I	I	R	I	E	I	R	I	E	I	R	I	E	(SEQ. ID NO. 239)
115	I	I	I	I	I	R	I	R	I	E	I	E	I	R	I	E	(SEQ. ID NO. 240)
116	I	I	I	I	I	K	I	D	I	K	I	D	I	K	I	D	(SEQ. ID NO. 241)
117	I	I	I	I	I	E	I	H	I	E	I	H	I	E	I	H	(SEQ. ID NO. 242)
118	I	I	I	I	I	E	I	E	I	H	I	H	I	E	I	E	(SEQ. ID NO. 243)
119	I	I	I	I	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	(SEQ. ID NO. 244)
120	I	I	I	I	I	R	I	R	I	R	I	R	I	D	I	D	(SEQ. ID NO. 245)
121	I	I	I	I	I	R	I	R	I	R	I	D	I	D	I	D	(SEQ. ID NO. 246)
122	I	I	I	I	I	H	I	D	I	H	I	D	I	H	I	D	(SEQ. ID NO. 247)
123	I	I	I	I	I	H	I	H	I	H	I	H	I	H	I	H	(SEQ. ID NO. 248)
124	I	I	I	I	I	H	I	D	I	D	I	H	I	D	I	D	(SEQ. ID NO. 249)
125	I	I	I	I	I	H	I	E	I	E	I	H	I	E	I	E	(SEQ. ID NO. 250)
126	M	M	M	M	M	R	M	D	M	R	M	D	M	R	M	D	(SEQ. ID NO. 251)
127	M	M	M	M	M	R	M	R	M	D	M	D	M	R	M	R	(SEQ. ID NO. 252)
128	M	M	M	M	M	E	M	K	M	E	M	K	M	E	M	K	(SEQ. ID NO. 253)
129	M	M	M	M	M	E	M	E	M	K	M	K	M	E	M	E	(SEQ. ID NO. 254)
130	M	M	M	M	M	R	M	E	M	R	M	E	M	R	M	E	(SEQ. ID NO. 255)
131	M	M	M	M	M	R	M	R	M	E	M	E	M	R	M	E	(SEQ. ID NO. 256)
132	M	M	M	M	M	K	M	D	M	K	M	D	M	K	M	D	(SEQ. ID NO. 257)
133	M	M	M	M	M	E	M	H	M	E	M	H	M	E	M	H	(SEQ. ID NO. 258)
134	M	M	M	M	M	E	M	E	M	H	M	H	M	E	M	E	(SEQ. ID NO. 259)
135	M	M	M	M	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	(SEQ. ID NO. 260)
136	M	M	M	M	M	R	M	R	M	R	M	R	M	D	M	D	(SEQ. ID NO. 261)
137	M	M	M	M	M	R	M	R	M	R	M	D	M	D	M	D	(SEQ. ID NO. 262)
138	M	M	M	M	M	H	M	D	M	H	M	D	M	H	M	D	(SEQ. ID NO. 263)
139	M	M	M	M	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	(SEQ. ID NO. 264)
140	M	M	M	M	M	H	M	D	M	D	M	H	M	D	M	D	(SEQ. ID NO. 265)
141	M	M	M	M	M	H	M	E	M	E	M	H	M	E	M	E	(SEQ. ID NO. 266)
142	F	F	F	F	F	R	F	D	F	R	F	D	F	R	F	D	(SEQ. ID NO. 267)
143	F	F	F	F	F	R	F	R	F	D	F	D	F	R	F	R	(SEQ. ID NO. 268)
144	F	F	F	F	F	E	F	K	F	E	F	K	F	E	F	K	(SEQ. ID NO. 269)
145	F	F	F	F	F	E	F	E	F	K	F	K	F	E	F	E	(SEQ. ID NO. 270)
146	F	F	F	F	F	R	F	E	F	R	F	E	F	R	F	E	(SEQ. ID NO. 271)
147	F	F	F	F	F	R	F	R	F	E	F	E	F	R	F	E	(SEQ. ID NO. 272)
148	F	F	F	F	F	K	F	D	F	K	F	D	F	K	F	D	(SEQ. ID NO. 273)
149	F	F	F	F	F	E	F	H	F	E	F	H	F	E	F	H	(SEQ. ID NO. 274)
150	F	F	F	F	F	E	F	E	F	H	F	H	F	E	F	E	(SEQ. ID NO. 275)
151	F	F	F	F	F	R	F	R	F	R	F	R	F	R	F	R	(SEQ. ID NO. 276)
152	F	F	F	F	F	R	F	R	F	R	F	R	F	D	F	D	(SEQ. ID NO. 277)

ES 2 639 625 T3

153	F	F	F	F	F	R	F	R	F	R	F	D	F	D	F	D	(SEQ. ID NO. 278)
154	F	F	F	F	F	H	F	D	F	H	F	D	F	H	F	D	(SEQ. ID NO. 279)
155	F	F	F	F	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H	(SEQ. ID NO. 280)
156	F	F	F	F	F	H	F	D	F	D	F	H	F	D	F	D	(SEQ. ID NO. 281)
157	F	F	F	F	F	H	F	E	F	E	F	H	F	E	F	E	(SEQ. ID NO. 282)
158	W	W	W	W	W	R	W	D	W	R	W	D	W	R	W	D	(SEQ. ID NO. 283)
159	W	W	W	W	W	R	W	R	W	D	W	D	W	R	W	R	(SEQ. ID NO. 284)
160	W	W	W	W	W	E	W	K	W	E	W	K	W	E	W	K	(SEQ. ID NO. 285)
161	W	W	W	W	W	E	W	E	W	K	W	K	W	E	W	E	(SEQ. ID NO. 286)
162	W	W	W	W	W	R	W	E	W	R	W	E	W	R	W	E	(SEQ. ID NO. 287)
163	W	W	W	W	W	R	W	R	W	E	W	E	W	R	W	E	(SEQ. ID NO. 288)
164	W	W	W	W	W	K	W	D	W	K	W	D	W	K	W	D	(SEQ. ID NO. 289)
165	W	W	W	W	W	E	W	H	W	E	W	H	W	E	W	H	(SEQ. ID NO. 290)
166	W	W	W	W	W	E	W	E	W	H	W	H	W	E	W	E	(SEQ. ID NO. 291)
167	W	W	W	W	W	R	W	R	W	R	W	R	W	R	W	R	(SEQ. ID NO. 292)
168	W	W	W	W	W	R	W	R	W	R	W	R	W	D	W	D	(SEQ. ID NO. 293)
169	W	W	W	W	W	R	W	R	W	R	W	D	W	D	W	D	(SEQ. ID NO. 294)
170	W	W	W	W	W	H	W	D	W	H	W	D	W	H	W	D	(SEQ. ID NO. 295)
171	W	W	W	W	W	H	W	H	W	H	W	H	W	H	W	H	(SEQ. ID NO. 296)
172	W	W	W	W	W	H	W	D	W	D	W	H	W	D	W	D	(SEQ. ID NO. 297)
173	W	W	W	W	W	H	W	E	W	E	W	H	W	E	W	E	(SEQ. ID NO. 298)
174	P	P	P	P	P	R	P	D	P	R	P	D	P	R	P	D	(SEQ. ID NO. 299)
175	P	P	P	P	P	R	P	R	P	D	P	D	P	R	P	R	(SEQ. ID NO. 300)
176	P	P	P	P	P	E	P	K	P	E	P	K	P	E	P	K	(SEQ. ID NO. 301)
177	P	P	P	P	P	E	P	E	P	K	P	K	P	E	P	E	(SEQ. ID NO. 302)
178	P	P	P	P	P	R	P	E	P	R	P	E	P	R	P	E	(SEQ. ID NO. 303)
179	P	P	P	P	P	R	P	R	P	E	P	E	P	R	P	E	(SEQ. ID NO. 304)
180	P	P	P	P	P	K	P	D	P	K	P	D	P	K	P	D	(SEQ. ID NO. 305)
181	P	P	P	P	P	E	P	H	P	E	P	H	P	E	P	H	(SEQ. ID NO. 306)
182	P	P	P	P	P	E	P	E	P	H	P	H	P	E	P	E	(SEQ. ID NO. 307)
183	P	P	P	P	P	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P	R	(SEQ. ID NO. 308)
184	P	P	P	P	P	R	P	R	P	R	P	R	P	D	P	D	(SEQ. ID NO. 309)
185	P	P	P	P	P	R	P	R	P	R	P	D	P	D	P	D	(SEQ. ID NO. 310)
186	P	P	P	P	P	H	P	D	P	H	P	D	P	H	P	D	(SEQ. ID NO. 311)
187	P	P	P	P	P	H	P	H	P	H	P	H	P	H	P	H	(SEQ. ID NO. 312)
188	P	P	P	P	P	H	P	D	P	D	P	H	P	D	P	D	(SEQ. ID NO. 313)
189	P	P	P	P	P	H	P	E	P	E	P	H	P	E	P	E	(SEQ. ID NO. 314)
190	S	S	S	S	S	R	S	D	S	R	S	D	S	R	S	D	(SEQ. ID NO. 315)
191	S	S	S	S	S	R	S	R	S	D	S	D	S	R	S	R	(SEQ. ID NO. 316)
192	S	S	S	S	S	E	S	K	S	E	S	K	S	E	S	K	(SEQ. ID NO. 317)
193	S	S	S	S	S	E	S	E	S	K	S	K	S	E	S	E	(SEQ. ID NO. 318)
194	S	S	S	S	S	R	S	E	S	R	S	E	S	R	S	E	(SEQ. ID NO. 319)
195	S	S	S	S	S	R	S	R	S	E	S	E	S	R	S	E	(SEQ. ID NO. 320)
196	S	S	S	S	S	K	S	D	S	K	S	D	S	K	S	D	(SEQ. ID NO. 321)
197	S	S	S	S	S	E	S	H	S	E	S	H	S	E	S	H	(SEQ. ID NO. 322)
198	S	S	S	S	S	E	S	E	S	H	S	H	S	E	S	E	(SEQ. ID NO. 323)
199	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	(SEQ. ID NO. 324)
200	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	S	R	S	D	S	D	(SEQ. ID NO. 325)
201	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	S	D	S	D	S	D	(SEQ. ID NO. 326)
202	S	S	S	S	S	H	S	D	S	H	S	D	S	H	S	D	(SEQ. ID NO. 327)
203	S	S	S	S	S	H	S	H	S	H	S	H	S	H	S	H	(SEQ. ID NO. 328)

ES 2 639 625 T3

204 S S S S S H S D S D S H S D S D (SEQ. ID NO. 329)
 205 S S S S S H S E S E S H S E S E (SEQ. ID NO. 330)
 206 T T T T T R T D T R T D T R T D (SEQ. ID NO. 331)
 207 T T T T T R T R T D T D T R T R (SEQ. ID NO. 332)
 208 T T T T T E T K T E T K T E T K (SEQ. ID NO. 333)
 209 T T T T T E T E T K T K T E T E (SEQ. ID NO. 334)
 210 T T T T T R T E T R T E T R T E (SEQ. ID NO. 335)
 211 T T T T T R T R T E T E T R T E (SEQ. ID NO. 336)
 212 T T T T T K T D T K T D T K T D (SEQ. ID NO. 337)
 213 T T T T T E T H T E T H T E T H (SEQ. ID NO. 338)
 214 T T T T T E T E T H T H T E T E (SEQ. ID NO. 339)
 215 T T T T T R T R T R T R T R T R (SEQ. ID NO. 340)
 216 T T T T T R T R T R T R T D T D (SEQ. ID NO. 341)
 217 T T T T T R T R T R T D T D T D (SEQ. ID NO. 342)
 218 T T T T T H T D T H T D T H T D (SEQ. ID NO. 343)
 219 T T T T T H T H T H T H T H T H (SEQ. ID NO. 344)
 220 T T T T T H T D T D T H T D T D (SEQ. ID NO. 345)
 221 T T T T T H T E T E T H T E T E (SEQ. ID NO. 346)
 222 C C C C C R C D C R C D C R C D (SEQ. ID NO. 347)
 223 C C C C C R C R C D C D C R C R (SEQ. ID NO. 348)
 224 C C C C C E C K C E C K C E C K (SEQ. ID NO. 349)
 225 C C C C C E C E C K C K C E C E (SEQ. ID NO. 350)
 226 C C C C C R C E C R C E C R C E (SEQ. ID NO. 351)
 227 C C C C C R C R C E C E C R C E (SEQ. ID NO. 352)
 228 C C C C C K C D C K C D C K C D (SEQ. ID NO. 353)
 229 C C C C C E C H C E C H C E C H (SEQ. ID NO. 354)
 230 C C C C C E C E C H C H C E C E (SEQ. ID NO. 355)
 231 C C C C C R C R C R C R C R C R (SEQ. ID NO. 356)
 232 C C C C C R C R C R C R C D C D (SEQ. ID NO. 357)
 233 C C C C C R C R C R C D C D C D (SEQ. ID NO. 358)
 234 C C C C C H C D C H C D C H C D (SEQ. ID NO. 359)
 235 C C C C C H C H C H C H C H C H (SEQ. ID NO. 360)
 236 C C C C C H C D C D C H C D C D (SEQ. ID NO. 361)
 237 C C C C C H C E C E C H C E C E (SEQ. NO. ID 362)
 238 Y Y Y Y Y R Y D Y R Y D Y R Y D (SEQ. ID NO. 363)
 239 Y Y Y Y Y R Y R Y D Y D Y R Y R (SEQ. ID NO. 364)
 240 Y Y Y Y Y E Y K Y E Y K Y E Y K (SEQ. ID NO. 365)
 241 Y Y Y Y Y E Y E Y K Y K Y E Y E (SEQ. ID NO. 366)
 242 Y Y Y Y Y R Y E Y R Y E Y R Y E (SEQ. ID NO. 367)
 243 Y Y Y Y Y R Y R Y E Y E Y R Y E (SEQ. ID NO. 368)
 244 Y Y Y Y Y K Y D Y K Y D Y K Y D (SEQ. ID NO. 125)
 245 Y Y Y Y Y E Y H Y E Y H Y E Y H (SEQ. ID NO. 369)
 246 Y Y Y Y Y E Y E Y H Y H Y E Y E (SEQ. ID NO. 370)
 247 Y Y Y Y Y R Y R Y R Y R Y R Y R (SEQ. ID NO. 371)
 248 Y Y Y Y Y R Y R Y R Y R Y D Y D (SEQ. ID NO. 372)
 249 Y Y Y Y Y R Y R Y R Y D Y D Y D (SEQ. NO. ID 373)
 250 Y Y Y Y Y H Y D Y H Y D Y H Y D (SEQ. ID NO. 374)
 251 Y Y Y Y Y H Y H Y H Y H Y H Y H (SEQ. ID NO. 375)
 252 Y Y Y Y Y H Y D Y D Y H Y D Y D (SEQ. ID NO. 376)
 253 Y Y Y Y Y H Y E Y E Y H Y E Y E (SEQ. ID NO. 377)
 254 N N N N N R N D N R N D N R N D (SEQ. ID NO. 378)

255	N	N	N	N	N	R	N	R	N	D	N	D	N	R	N	R	(SEQ. ID NO. 378)
256	N	N	N	N	N	E	N	K	N	E	N	K	N	E	N	K	(SEQ. ID NO. 380)
257	N	N	N	N	N	E	N	E	N	K	N	K	N	E	N	E	(SEQ. ID NO. 381)
258	N	N	N	N	N	R	N	E	N	R	N	E	N	R	N	E	(SEQ. ID NO. 382)
259	N	N	N	N	N	R	N	R	N	E	N	E	N	R	N	E	(SEQ. ID NO. 383)
260	N	N	N	N	N	K	N	D	N	K	N	D	N	K	N	D	(SEQ. ID NO. 384)
261	N	N	N	N	N	E	N	H	N	E	N	H	N	E	N	H	(SEQ. ID NO. 385)
262	N	N	N	N	N	E	N	E	N	H	N	H	N	E	N	E	(SEQ. ID NO. 386)
263	N	N	N	N	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R	(SEQ. ID NO. 387)
264	N	N	N	N	N	R	N	R	N	R	N	R	N	D	N	D	(SEQ. ID NO. 388)
265	N	N	N	N	N	R	N	R	N	R	N	D	N	D	N	D	(SEQ. ID NO. 389)
266	N	N	N	N	N	H	N	D	N	H	N	D	N	H	N	D	(SEQ. ID NO. 390)
267	N	N	N	N	N	H	N	H	N	H	N	H	N	H	N	H	(SEQ. ID NO. 391)
268	N	N	N	N	N	H	N	D	N	D	N	H	N	D	N	D	(SEQ. ID NO. 392)
269	N	N	N	N	N	H	N	E	N	E	N	H	N	E	N	E	(SEQ. ID NO. 393)
270	Q	Q	Q	Q	Q	R	Q	D	Q	R	Q	D	Q	R	Q	D	(SEQ. ID NO. 394)
271	Q	Q	Q	Q	Q	R	Q	R	Q	D	Q	D	Q	R	Q	R	(SEQ. ID NO. 395)
272	Q	Q	Q	Q	Q	E	Q	K	Q	E	Q	K	Q	E	Q	K	(SEQ. ID NO. 396)
273	Q	Q	Q	Q	Q	E	Q	E	Q	K	Q	K	Q	E	Q	E	(SEQ. ID NO. 397)
274	Q	Q	Q	Q	Q	R	Q	E	Q	R	Q	E	Q	R	Q	E	(SEQ. ID NO. 398)
275	Q	Q	Q	Q	Q	R	Q	R	Q	E	Q	E	Q	R	Q	E	(SEQ. ID NO. 399)
276	Q	Q	Q	Q	Q	K	Q	D	Q	K	Q	D	Q	K	Q	D	(SEQ. ID NO. 400)
277	Q	Q	Q	Q	Q	E	Q	H	Q	E	Q	H	Q	E	Q	H	(SEQ. ID NO. 401)
278	Q	Q	Q	Q	Q	E	Q	E	Q	H	Q	H	Q	E	Q	E	(SEQ. ID NO. 402)
279	Q	Q	Q	Q	Q	R	Q	R	Q	R	Q	R	Q	R	Q	R	(SEQ. ID NO. 403)
280	Q	Q	Q	Q	Q	R	Q	R	Q	R	Q	R	Q	D	Q	D	(SEQ. ID NO. 404)
281	Q	Q	Q	Q	Q	R	Q	R	Q	R	Q	D	Q	D	Q	D	(SEQ. ID NO. 405)
282	Q	Q	Q	Q	Q	H	Q	D	Q	H	Q	D	Q	H	Q	D	(SEQ. ID NO. 406)
283	Q	Q	Q	Q	Q	H	Q	H	Q	H	Q	H	Q	H	Q	H	(SEQ. ID NO. 407)
284	Q	Q	Q	Q	Q	H	Q	D	Q	D	Q	H	Q	D	Q	D	(SEQ. ID NO. 408)
285	Q	Q	Q	Q	Q	H	Q	E	Q	E	Q	H	Q	E	Q	E	(SEQ. ID NO. 409)

Los péptidos que se autoensamblan en general son secuencias lineales. Sin embargo, los péptidos que se autoensamblan pueden estar en forma de secuencias no lineales, que contienen opcionalmente colas hidrófobas, que interaccionan con la ECM. En una realización, la secuencia está en forma de un "rastrillo", en el que las puntas del rastrillo son las secuencias hidrófobas, que interaccionan con la ECM para anclar los péptidos que se autoensamblan al tejido o vaso. El mango del rastrillo contiene una secuencia que se autoensambla. En otra realización, el mango del rastrillo es una secuencia hidrófoba que interacciona con la ECM y las puntas del rastrillo son secuencias que se autoensamblan. Las secuencias que se autoensamblan pueden autoensamblarse solas o en presencia de una o más secuencias que ayudan al ensamblaje.

10 D. Agentes terapéuticos, profilácticos y de diagnóstico

Las formulaciones también pueden incluir otros agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico. En realizaciones preferidas, estos pueden ser agentes antiinflamatorios, agentes vasoactivos, agentes antiinfecciosos, anestésicos, factores de crecimiento, vitaminas, nutrientes y/o células.

15 Estos pueden ser péptidos o proteínas, polisacáridos o sacáridos, nucleótidos de ácidos nucleicos, proteoglicanos, lípidos, hidratos de carbono o una molécula pequeña, típicamente un compuesto orgánico, que tiene enlaces múltiples carbono-carbono, que se pueden aislar de la naturaleza o se pueden preparar por síntesis química. Las moléculas pequeñas tienen pesos moleculares relativamente bajos (p. ej., menos de aproximadamente 1500 g/mol) y no son péptidos o ácidos nucleicos. La sustancia puede ser una biomolécula, que es una molécula tal como un péptido, proteoglicano, lípido, hidrato de carbono o ácido nucleico que tiene características típicas de moléculas encontradas en organismos vivos. Como las moléculas pequeñas, las biomoléculas pueden ser naturales o pueden ser artificiales (es decir, pueden ser moléculas que no se han encontrado en la naturaleza). Por ejemplo, una proteína que tiene una secuencia que no se ha encontrado en la naturaleza (p. ej., una que no se encuentra en bases de datos de secuencias disponibles al público) o que tiene una secuencia conocida modificada de una forma no natural por la mano del hombre (p. ej., una secuencia modificada alterando el proceso postraduccional tal como

glucosilación) es una biomolécula artificial. Las moléculas de ácido nucleico que codifican dichas proteínas (p. ej., un oligonucleótido, opcionalmente contenido en un vector de expresión) también son biomoléculas y se pueden incorporar en las composiciones descritas en el presente documento. Por ejemplo, una composición puede incluir una pluralidad de materiales que se autoensamblan y células que expresan, o que son manipuladas genéticamente para que expresen una biomolécula proteína (en virtud de contener una secuencia de ácido nucleico que codifica la biomolécula proteína).

Se pueden incorporar muchos agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico en la formulación. Los vasoconstrictores representativos incluyen epinefrina y fenilefrina; los agentes colorantes representativos incluyen arsenazo III, clorofosfonazo III, antipirilazo 111, murexida, negro de eriocromo T, azul de eriocromo SE, oxiacetazo I, carboxiazazo III, tropolona, azul de metilthimol y negro para mordiente 32; los agentes anestésicos representativos incluyen benzocaína, bupivacaína, picrato de butamben, cloroprocaína, cocaína, curare, dibucaína, diclonina, etidocaína, lidocaína, mepivacaína, pramoxina, prilocaína, procaína, propoxicaína, ropivacaína, tetracaína, o combinaciones de los mismos. La aplicación local del agente anestésico puede ser todo lo que se requiera en algunas situaciones, por ejemplo, para una quemadura u otra herida en la piel, incluyendo úlceras de decúbito; heridas, tales como dolor por cáncer; o para cirugías mínimamente invasivas. La combinación de anestésicos locales con los péptidos que se autoensamblan, sea combinados en virtud de estar presentes en la misma formulación o en virtud de coadministración, puede ayudar a contener el anestésico dentro del cuerpo y reducir la cantidad que entra en la circulación.

Se pueden incluir vasoconstrictores tales como fenilefrina para prolongar el efecto de la anestesia local (p. ej., 0,1-0,5% de fenilefrina). Otros agentes analgésicos distintos de un agente anestésico local, tales como esteroides, agentes antiinflamatorios no esteroideos tales como indometacina, factor activador de plaquetas (PAF) tales como lexipafant, CV 3988, y/o inhibidores de receptores de PAF tales como SRI 63-441.

Se puede incluir un agente antiinfeccioso o antimicrobiano (p. ej., un agente antibiótico, antibacteriano, antivírico o antifúngico) para administración sistémica o local. Los ejemplos incluyen antibióticos β -lactámicos tales como penicilinas y cefalosporinas; otros inhibidores de la síntesis de la pared celular tales como vancomicina; cloranfenicol; tetraciclinas; macrólidos; clindamicina; estreptograminas; aminoglucósidos; espectinomocina; sulfonamidas; trimetoprim; quinolonas; anfotericina B; flucitosina; azoles tales como ketoconazol, itraconazol, fluconazol, clotrimazol, y miconazol; griseofulvina; terbinafina; y nistatina. El antimicrobiano se puede administrar por vía tópica (p. ej., para tratar infecciones de la piel o quemaduras) o para ayudar a prevenir la infección en un sitio de inserción de catéter (p. ej., un catéter intravenoso). Los antimicrobianos tópicos adecuados incluyen kanamicina, neomicina, bacitracina, polimixina, sulfonamidas tópicas tales como acetato de mafenida o sulfadiazina de plata, y sulfato de gentamicina. El antimicrobiano también puede ser un agente de amplio espectro. Por ejemplo, se puede usar una cefalosporina de segunda, tercera o cuarta generación. Estos agentes pueden ser activos frente a una amplia variedad de bacterias incluyen tanto especies Gram positivas como Gram negativas. Dichos agentes antibacterianos pueden ser particularmente adecuados cuando los presentes armazones se usan para inhibir el movimiento del contenido intestinal tal como durante la resección intestinal u otra cirugía que altere deliberadamente o accidentalmente la integridad de la pared intestinal. Un experto en la materia podría seleccionar agentes antimicrobianos adecuados considerando factores tales como los antecedentes del paciente (p. ej., antecedentes de reacción alérgica a dichos agentes), el sitio donde se van a aplicar los péptidos, y el tipo de agente infeccioso que es probable que esté presente. Las composiciones que contienen agentes antimicrobianos pueden prevenir infecciones en una variedad de formas que incluyen: (1) matar el agente infeccioso debido a la actividad del agente antimicrobiano; (2) prevenir la infección por ensamblaje de los péptidos para formar una barrera que bloquea la infiltración del agente infeccioso en el tejido bloqueando que la secuencia específica de tejido en el agente infeccioso interaccione con el tejido; (3) hacer que el agente infeccioso cambie su orientación con respecto al tejido debido a la carga del material que se autoensambla y por lo tanto bloquee la infiltración del agente infeccioso en el tejido; (4) encapsular el agente infeccioso dentro de los péptidos que se autoensamblan para prevenir la infiltración del agente infeccioso; y combinaciones de los mismos. Los péptidos que se autoensamblan también se pueden usar para prevenir la contaminación o infección por otros materiales biológicos y/o peligrosos.

Cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento, cuando contienen solo péptidos que se autoensamblan y una o más moléculas bioactivas (y sea en una forma líquida, semisólida o sólida), puede incluir un agente colorante. Los agentes colorantes adecuados incluyen colorantes alimentarios disponibles en el mercado, colorantes naturales y sintéticos, y moléculas fluorescentes. Preferiblemente, el agente colorante no es tóxico o está incluido en concentraciones bajas para minimizar cualquier efecto tóxico. El uso de un agente colorante permite la visualización mejorada de una zona que está cubierta por una estructura o armazón y puede facilitar la retirada, si se desea dicha retirada. El agente colorante puede ser uno que cambia de color cuando se pone en contacto con una zona contaminada (p. ej., se puede producir un cambio de color por la propia contaminación (p. ej., por la sangre o bacterias presentes en el sitio de la herida)). Por ejemplo, un producto metabólico de una bacteria puede producir un cambio de color. Las condiciones tales como el pH o estado de oxidorreducción inducido por los contaminantes también se pueden detectar. Los indicadores de ejemplo incluyen arsenazo III, clorofosfonazo III, antipirilazo III, murexida, negro de eriocromo T y azul de eriocromo SE para el Mg^{2+} , oxiacetazo I, carboxiazazo III, tropolona, azul de metilthimol y negro para mordiente 32. El azul de alamar, un indicador de oxidorreducción, y el rojo fenol también son útiles en las composiciones y procedimientos. En otra realización, el agente colorante puede estar en forma de

nanopartículas que reflejan una longitud de onda de luz y tras agregación (es decir, autoensamblaje de los péptidos) refleja una longitud de onda de luz diferente.

Se pueden incluir muchos otros agentes activos en las composiciones. Por ejemplo, se pueden incluir una serie de factores de crecimiento para acelerar uno o más aspectos de la cicatrización (p. ej., angiogénesis, migración celular, extensión del proceso y proliferación celular). Estos tipos de composiciones se pueden “incluir” como otras pueden, en virtud de la inclusión en las composiciones o en virtud de la coadministración en los procedimientos presentes. Los ejemplos incluyen factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), un factor de crecimiento transformante (TGF) tal como factor de crecimiento transformante β , un factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), un factor de crecimiento epidérmico (EGF), un factor de crecimiento nervioso (NGF), un factor de crecimiento similar a insulina (p. ej., factor de crecimiento similar a insulina I), un factor de crecimiento glial (GGF), un factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), etc. Se apreciará que en muchos casos estos términos se refieren a una variedad de especies moleculares diferentes. Por ejemplo, se conocen varios factores de crecimiento transformantes R en la materia. Un experto en la materia se guiará en la selección de un factor de crecimiento adecuado considerando, por ejemplo, el sitio en el que se va a administrar la composición. Por ejemplo, se puede incluir un EGF en composiciones aplicadas a la piel; se puede incluir un NGF y/o GGF en composiciones aplicadas a los nervios o al sistema nervioso; etc.

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

Las composiciones también se pueden usar en combinación con o en lugar de compuestos tales como cianoacrilatos, celulosa oxidada, sellantes de fibrina, gel de colágeno, polvo de trombina, polvos de polisacárido microporoso, factores de coagulación (p. ej., factor V, factor VIII, fibrinógeno o protrombina) y polvos de zeolita.

En una realización, se pueden añadir vitaminas a los péptidos que se autoensamblan tales como vitamina K después de cirugía del hígado. Además, se pueden añadir otras vitaminas para facilitar la reconstrucción del tejido o piel, cuando se aplican vía tópica en combinación con el material. Esto podría ser después de herida o en el curso normal de la hidratación tópica.

El uno o más agentes terapéuticos, de diagnóstico y/o profilácticos se pueden administrar simultáneamente con los péptidos que se autoensamblan en la misma formulación, se pueden administrar simultáneamente en formulaciones separadas o secuencialmente. Alternativamente, el o los agentes activos se pueden acoplar covalentemente con el péptido que se autoensambla.

Se entenderá que las moléculas terapéuticas en general se administran en una cantidad eficaz con el fin de lograr un resultado clínicamente significativo, y las dosificaciones y concentraciones efectivas son conocidas en la materia. Estas dosificaciones y concentraciones pueden guiar la selección de las dosificaciones y concentraciones en el presente contexto. Se pueden proporcionar moléculas bioactivas en una variedad de concentraciones adecuadas y en cantidades adecuadas (p. ej., en el intervalo de microgramos o miligramos, o mayor). Como guía se pueden consultar textos tales como Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10^a Ed., y Katzung, Basic and Clinical Pharmacology.

Células

Cuando se suministran células a un paciente (p. ej., para promover la cicatrización de tejido), se pueden usar células autólogas. En una realización, las células podrían ser células hematopoyéticas del paciente, dispersadas en los péptidos que se autoensamblan e implantadas. En otra realización, las células pueden ser glóbulos rojos de la médula.

Los armazones moldeados descritos antes, composiciones líquidas, geles, sólidos (p. ej., polvos) u otras realizaciones semisólidas pueden incluir una o más sustancias adicionales tales como moléculas bioactivas o células. En algunos casos, la célula puede segregar la molécula bioactiva de forma natural o después de modificación genética (p. ej., para expresar y/o segregar una proteína recombinante). Las estructuras descritas en el presente documento pueden soportar la unión, viabilidad y crecimiento de células; esto se ha observado cuando las células se cultivan en la superficie del material o cuando las células crecen dentro del material (p. ej., cuando se encapsulan). Además, las estructuras pueden servir como sustratos para el crecimiento de neuritas y la formación de sinapsis cuando crecen las neuronas sobre o dentro de las mismas. Por lo tanto, las moléculas bioactivas y células se pueden encapsular dentro de las estructuras peptídicas y mantener la función y viabilidad sustanciales cuando están así encapsuladas (véase, p. ej., U.S.S.N. 09/778.200 y 10/196.942).

E. Formulaciones

En la realización preferida, la formulación es un líquido o polvo reconstituible, aplicado por vía tópica. En una

- realización, se proporciona la formulación como un polvo seco o liofilizado que se puede administrar directamente como un polvo que se hidrata en el sitio de aplicación, o suspendido o disuelto en un líquido, lo más preferiblemente acuoso, y aplicado como pulverización, pintura o inyección, o un hidrogel tal como quitina, colágeno, alginato o polímero sintético. En otra realización, la formulación se administra como una pastilla comprimida, disco o comprimido. En otra realización más, la formulación se proporciona como un recubrimiento sobre un dispositivo, por ejemplo, una endoprótesis o un catéter, que se puede disolver en una solución acuosa y secar sobre el dispositivo, o mezclar con un vehículo polimérico y aplicar al dispositivo. En otra realización más, la formulación se proporciona en un vendaje, espuma o matriz, en el que los péptidos se pueden dispersar o absorber. La formulación también podría estar en forma de suturas, cinta o adhesivo.
- 5
- 10 Convencionalmente, los anestésicos locales se suministran por administración tópica (p. ej., formulados como una pomada, crema o solución) o inyectados en una zona donde residen las fibras nerviosas que se desean bloquear. La formulación se puede administrar a una quemadura o úlcera, en especial cuando se formula con anestésicos, agentes antiinflamatorios, factores de crecimiento, y antiinfecciosos, en forma de una espuma, matriz o vendaje, para detener la hemorragia o pérdida de fluido intersticial.
- 15 Una o más de las composiciones descritas en el presente documento se pueden juntar en kits, junto con instrucciones de uso. Por ejemplo, los kits pueden incluir una composición biocompatible que incluye péptidos que se autoensamblan (o una solución concentrada o formulación en polvo de los mismos, junto con un diluyente) y un vasoconstrictor, un agente colorante, o un agente analgésico o anestésico e instrucciones para su combinación (si no están ya combinados) y uso (p. ej., dilución y administración). Los kits pueden incluir además uno o más agentes
- 20 adicionales descritos en el presente documento. Estos agentes pueden estar presentes dentro de la composición basada en péptidos o envasada por separado, y pueden incluir uno o más tipos de células biológicas, un antibiótico u otro agente terapéutico, colágeno, un agente antiinflamatorio, un factor de crecimiento o un nutriente. El kit puede incluir también uno o más de una jeringa (p. ej., una jeringa de cilindro o una pera de goma), una aguja, una pipeta, gasas, esponjas o algodón, torundas, un vendaje, un tapón de hemorragia nasal, un desinfectante, hilo quirúrgico, tijeras, un escalpelo, un fluido estéril, una lata de pulverizador, incluyendo aquellos en los que una
- 25 solución líquida se pulveriza a través de una bomba manual simple, un recipiente estéril, o guantes desechables.
- La formulación se puede administrar según sea adecuado para el tratamiento de uno o más trastornos. Por ejemplo, la formulación se puede aplicar para reparar una herida o cirugía que se esté realizando del pulmón o la duramadre, o después de una punción epidural o espinal, para detener la pérdida de líquido cefalorraquídeo. La formulación se puede dispersar en una sutura o adhesivo para administrar en el momento de o suministrada después de sutura o pegado de una herida, limitando así la hemorragia, pérdida de fluidos tisulares, u otros fluidos tales como los
- 30 producidos por tejidos parenquimatosos tales como hígado, páncreas y tracto gastrointestinal. La formulación se puede aplicar en cualquier sitio de hemorragia, en un vendaje, gasa, esponja u otro material, para el control inmediato de la hemorragia, o suministrar más tarde para controlar la hemorragia si el tratamiento inicial tal como la sutura o presión es insuficiente. Telas secas, espumas deshidratadas o hidrogeles o vendajes que contienen la formulación pueden ser parte del botiquín de primeros auxilios para el tratamiento de lesiones, por ejemplo, en la guerra, en sitios de accidente o clínicas donde puede ser necesario el tratamiento rápido y el sitio de almacenamiento es limitado.
- 35
- En algunas realizaciones, las composiciones que incluyen péptidos que se autoensamblan se pueden asociar con esponjas quirúrgicas. Por ejemplo, se pueden absorber composiciones líquidas en esponjas disponibles en el mercado antes o durante su uso. Los estudios indican que se puede lograr satisfactoriamente la hemostasia sin esponjas tradicionales, pero puede haber casos donde la inclusión de las composiciones que contienen péptidos que se autoensamblan puede ser beneficiosa (p. ej., cuando un paciente está experimentando hemorragia profunda o cuando el objetivo del tratamiento es la estabilización temporal). Las composiciones usadas pueden incluir
- 40 cualquiera de los agentes no fibrosos descritos en el presente documento. Las esponjas pueden ser cualquiera conocida en la materia, incluyendo esponjas tejidas y no tejidas y las diseñadas específicamente para cirugías dentales u oftálmicas. Véase, p. ej., las patentes de EE.UU. nº 4.098.728; 4.211.227; 4.636.208; 5.180.375; y 6.711.879.
- 45
- En realizaciones que presentan vendajes o apósitos, el vendaje o apósito puede incluir una primera capa de forma y tamaño suficiente para cubrir una herida o una parte sustancial de la misma (p. ej., la parte más dañada del tejido o la zona que sangra más profusamente). La primera capa puede tener una superficie superior, una superficie inferior y un perímetro que está, opcionalmente, total o parcialmente cubierto con un adhesivo. Una segunda capa de vendaje o apósito se puede fijar de forma desprendible a la superficie inferior de la primera capa, opcionalmente excluyendo el perímetro o cualquier parte del perímetro que lleve adhesivo, y puede incluir una composición líquida
- 50 o no líquida (p. ej., un gel, pasta, espuma, crema, pomada o composición en polvo) que incluye péptidos que se autoensamblan. La composición se pondrá en contacto con la herida tras la aplicación del vendaje o apósito y se puede transferir desde el vendaje o apósito al sitio de la herida tras la eliminación de la primera capa o la primera y segunda capas. En configuraciones más simples, la composición que comprende los péptidos que se autoensamblan se puede asociar con la parte inferior de la primera capa (p. ej., interior al perímetro adhesivo), y se puede omitir la segunda capa. En cualquier caso, cualquiera de la primera y/o la segunda capa puede incluir una
- 55 ventana transparente, a través de la cual se puede ver parte o toda la herida de debajo. La composición que incluye péptidos que se autoensamblan se puede añadir al vendaje antes de envasarlo o justo antes de usar. En otra
- 60

realización, la formulación puede incluir una barrera física adicional, tal como una capa de película de silicona, para prevenir la pérdida de fluido por secado, después de que se haya detenido el flujo activo de fluidos por aplicación de la formulación.

5 Las formulaciones se pueden administrar también como formulaciones de liberación inmediata o controlada. Una forma farmacéutica de liberación retardada es una que libera el fármaco (o fármacos) en un momento distinto de inmediatamente después de la administración. Una forma farmacéutica de liberación prolongada es una que permite al menos una reducción de dos veces de la frecuencia de dosificación comparado con el fármaco presentado como una forma farmacéutica convencional (p. ej., como una solución o forma farmacéutica sólida convencional, de liberación de fármaco inmediata). Una forma farmacéutica de liberación modificada es una para la que las
10 características de liberación del fármaco en el tiempo, curso y/o situación se eligen para lograr objetivos terapéuticos o convenientes no ofrecidos por las formas farmacéuticas convencionales tales como soluciones, pomadas o formas farmacéuticas de disolución inmediata. Las formas farmacéuticas de liberación retrasada o extendida y sus combinaciones son tipos de formas farmacéuticas de liberación modificada.

15 Los materiales que forman matrices son materiales que forman geles viscosos, fuertes, tras la hidratación y proporcionan el control de la difusión y liberación de fármaco. En sistemas de matrices hidrófilas, los materiales que forman la matriz se incorporan uniformemente por todo el comprimido. Tras el contacto con agua, la capa exterior del comprimido se hidrata parcialmente, formando una capa de gel. La velocidad de difusión del o de los fármacos fuera de la capa de gel y la velocidad de erosión de la capa de gel determinan la disolución completa del comprimido y las velocidades de suministro del fármaco. Los ejemplos de materiales que forman matrices incluyen éteres de
20 celulosa que son solubles en agua tales como metilcelulosa, etilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa.

Las formulaciones se preparan usando una "barrera" farmacéuticamente aceptable compuesta de materiales que se consideran seguros y eficaces y se pueden administrar a un individuo sin causar efectos secundarios biológicos indeseables o interacciones no queridas. El "vehículo" son todos los componentes presentes en la formulación farmacéutica distintos de principio o principios activos. El término "vehículo" incluye, pero no se limita a diluyentes, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, cargas, composiciones que forman matrices y composiciones de recubrimiento.
25

"Vehículo" también incluye todos los componentes de la composición de recubrimiento que pueden incluir plastificantes, pigmentos, colorantes, agentes estabilizantes y deslizantes. Las formulaciones farmacéuticas de liberación retardada se pueden preparar como se describe en referencias tales como "Pharmaceutical dosage form tablets", eds. Liberman et al. (New York, Marcel Dekker, Inc., 1989), "Remington--The science and practice of pharmacy", 20th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md., 2000, y "Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems", 6th Edition, Ansel et al., (Media, Pa.: Williams and Wilkins, 1995) que proporcionan información sobre vehículos, materiales, equipo y procedimientos para preparar comprimidos y cápsulas y formas farmacéuticas de liberación retardada de comprimidos, cápsulas y gránulos.
30

35 Los ejemplos de materiales de recubrimiento adecuados incluyen, pero no se limitan a polímeros de celulosa tales como acetato ftalato de celulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa; poli(acetato ftalato de vinilo), polímeros y copolímeros de ácido acrílico, resinas metacrílicas que están disponibles en el mercado con el nombre comercial Eudragit™ (Roth Pharma, Westerstadt, Alemania), zeína, laca y polisacáridos. Además, el material de recubrimiento puede contener vehículos convencionales tales como plastificantes, pigmentos, colorantes, deslizantes, agentes de estabilización, formadores de perlas y tensioactivos. Los excipientes farmacéuticamente aceptables opcionales presentes en los comprimidos, perlas, gránulos o partículas que contienen fármaco incluyen, pero no se limitan a diluyentes, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, colorantes, estabilizantes y tensioactivos.
40

Los diluyentes, también denominados "cargas", típicamente son necesarios para aumentar el volumen de una forma farmacéutica sólida de modo que se proporciona un tamaño práctico para la compresión de comprimidos o la formación de perlas y gránulos. Los diluyentes adecuados incluyen, pero no se limitan a fosfato de dicalcio dihidrato, sulfato de calcio, lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, celulosa microcristalina, caolín, cloruro sódico, almidón seco, almidones hidrolizados, almidón pregelatinizado, dióxido de silicio, óxido de titanio, silicato de aluminio y magnesio y azúcar en polvo.
45

50 Se usan aglutinantes para impartir cualidades cohesivas a una formulación farmacéutica sólida, y así asegurar que un comprimido o perla o gránulo permanecen intactos después de la formación de las formas farmacéuticas. Los materiales aglutinantes adecuados incluyen, pero no se limitan a almidón, almidón pregelatinizado, gelatina, azúcares (que incluyen sacarosa, glucosa, dextrosa, lactosa y sorbitol), polietilenglicoles, ceras, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, tragacanto, alginato sódico, celulosa, incluyendo hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etilcelulosa, y Veegum, y polímeros sintéticos tales como copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, poli(ácido acrílico)/poli(ácido metacrílico) y polivinilpirrolidona. Algunos de los materiales, que son adecuados como aglutinantes, también se pueden usar como materiales formadores de matrices tales como la hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa y celulosa microcristalina.
55

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

5 Se usan disgregantes para facilitar la disgregación o "rotura" de la forma farmacéutica después de administración, y en general incluyen, pero no se limitan a almidón, glicolato sódico de almidón, carboximetilalmidón sódico, carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilcelulosa, almidón pregelatinizado, arcillas, celulosa, alginina, gomas o polímeros reticulados, tales como PVP reticulado (Polyplasdone™ XL from GAP Chemical Corp).

Se usan estabilizantes para inhibir o retardar las reacciones de descomposición del fármaco que incluyen, a modo de ejemplo, reacciones oxidativas.

10 Los tensioactivos pueden ser agentes tensioactivos aniónicos, catiónicos, anfóteros o no iónicos. Los ejemplos de tensioactivos aniónicos incluyen sales de sodio, potasio, amonio de sulfonatos de alquilo de cadena larga y sulfonatos de alquil-arilo tales como dodecilbencenosulfonato; dialquil-sulfosuccinatos de sodio, tales como dodecilbencenosulfonato sódico; dialquil-sulfosuccinatos de sodio, tales como bis-(2-etiltioxil)-sulfosuccinato de sodio; y alquilsulfatos tales como laurilsulfato sódico. Los tensioactivos catiónicos incluyen, pero no se limitan a compuestos de amonio cuaternario tales como cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, bromuro de cetrimonio, cloruro de estearil-dimetilbencil-amonio, polioxietileno y cocoamina. Los ejemplos de tensioactivos no iónicos incluyen monoestearato de etilenglicol, miristato de propilenglicol, monoestearato de glicerilo, estearato de glicerilo, poligliceril-4-oleato, acilato de sorbitán, acilato de sacarosa, laurato de PEG-150, monolaurato de PEG400, monolaurato polioxietilénico, polisorbatos, octilfeniléter polioxietilénico, éter de cetilo PEG-1000, éter de tricedilo polioxietilénico, éter de polipropilenglicol y butilo, Poloxamer™ 401, monoisopropanolamida de estearoilo, y amida sebáica hidrogenada polioxietilénica. Los ejemplos de tensioactivos anfóteros incluyen N-dodecil-β-alanina, N-lauril-β-iminodipropionato de sodio, miristoanfoacetato, laurilbetaina y laurilsulfobetaina.

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

En un tipo de formulación los péptidos que se autoensamblan se pueden usar como un aditivo para crema para el afeitado o loción de manos, para formar una barrera para pérdida de fluidos y como barrera para las adherencias y contaminación.

30 Las formulaciones de liberación prolongada en general se preparan como sistemas de difusión u osmóticos, por ejemplo, como se describe en "Remington--The science and practice of pharmacy" (20th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000). Un sistema de difusión típicamente consiste en dos tipos de dispositivos, un depósito y una matriz, y es bien conocido y está descrito en la materia. Los dispositivos de matriz en general se preparan por compresión del fármaco con un vehículo polímero que se disuelve lentamente en forma de un comprimido. Los tres tipos principales de materiales usados en la preparación de dispositivos de matriz son plásticos insolubles, polímeros hidrófilos, y compuestos grasos. Las matrices plásticas incluyen acrilato de metilo-metacrilato de metilo, poli(cloruro de vinilo) y polietileno. Los polímeros hidrófilos incluyen polímeros celulósicos tales como metil y etilcelulosa, hidroxialquilcelulosas tales como hidroxipropilcelulosa y hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y Carbopol™ 934, poli(óxidos de etileno) y mezclas de los mismos. Los compuestos grasos incluyen, pero no se limitan a diferentes ceras tales como cera de carnauba y triestearato de glicerilo y sustancias de tipo cera incluyendo aceite de ricino hidrogenado o aceite vegetal hidrogenado, o mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el material plástico es un polímero acrílico farmacéuticamente aceptable, que incluye, pero no limitado a copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de metilo, metacrilatos de etoxietilo, metacrilato de cianoetilo, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de ácido metacrílico y alquilamina, poli(metacrilato de metilo), poli(ácido metacrílico)(anhídrido), polimetacrilato, poli(acrilamida), poli(ácido anhídrido metacrílico) y copolímeros de metacrilato de glicidilo. En algunas realizaciones, el polímero acrílico está compuesto de uno o más copolímeros de metacrilato de amonio. Los copolímeros de metacrilato de amonio son bien conocidos en la técnica y se describen en NF XVII como copolímeros completamente polimerizados de ésteres de ácido acrílico y metacrílico con bajo contenido de grupos amonio cuaternarios.

50 Alternativamente, las formulaciones de liberación prolongada se pueden preparar usando sistemas osmóticos o aplicando un recubrimiento semipermeable a la forma farmacéutica. En este último caso, el perfil de liberación de fármaco deseado se puede lograr combinando materiales de recubrimiento de permeabilidad baja y permeabilidad alta en proporción adecuada.

55 Se puede añadir una porción de liberación inmediata al sistema de liberación prolongada aplicando o bien una capa de liberación inmediata en la parte superior del núcleo de liberación prolongada usando un recubrimiento o procedimiento por compresión o un sistema de múltiples unidades tales como una cápsula que contiene perlas de liberación prolongada e inmediata. Los comprimidos de liberación prolongada que contiene polímeros hidrófilos se preparan por técnicas conocidas habitualmente en la materia tales como compresión directa, granulación por vía húmeda o granulación por vía seca. Sus formulaciones normalmente incorporan polímeros, diluyentes, aglutinantes

y lubricantes, así como el principio farmacéutico activo. Los diluyentes habituales incluyen sustancias inertes en polvo tales como almidones, celulosa en polvo, en especial celulosa cristalina y microcristalina, azúcares tales como fructosa, manitol y sacarosa, harinas de cereales y polvos comestibles similares. Los diluyentes típicos incluyen, por ejemplo, diferentes tipos de almidón, lactosa, manitol, caolín, fosfato o sulfato de calcio, sales inorgánicas tales como cloruro sódico y azúcar en polvo. También son útiles derivados de celulosa en polvo. Los aglutinantes de comprimidos típicos incluyen sustancias tales como almidón, gelatina y azúcares tales como lactosa, fructosa y glucosa. También se pueden usar gomas naturales y sintéticas, que incluye goma arábica, alginatos, metilcelulosa y polivinilpirrolidona. También pueden servir como aglutinantes polietilenglicol, polímeros hidrófilos, etilcelulosa y ceras. Un lubricante es necesario en una formulación de comprimido para prevenir que el comprimido y los punzones se peguen en la matriz. El lubricante se elige de sólidos deslizantes tales como talco, estearato magnético y de calcio, ácido esteárico y aceites vegetales hidrogenados. Los comprimidos de liberación prolongada que contienen materiales céreos en general se preparan usando procedimientos conocidos en la materia tales como un procedimiento de mezcla directa, un procedimiento de congelación y un procedimiento de dispersión acuosa. En el procedimiento de congelación, el fármaco se mezcla con un material céreo y se congela por pulverización o se congela y criba y procesa.

Los pesos de recubrimientos preferidos para materiales de recubrimiento particulares los pueden determinar fácilmente los expertos en la materia, evaluando los perfiles de liberación individuales para comprimidos, perlas y gránulos preparados con diferentes cantidades de varios materiales de recubrimiento. Es la combinación de materiales, el procedimiento y la forma de aplicación que producen las características de liberación deseadas, lo que uno solo puede determinar a partir de estudios clínicos. La composición de recubrimiento puede incluir aditivos convencionales, tales como plastificantes, pigmentos, colorantes, agentes estabilizantes, deslizantes, etc. Un plastificante normalmente está presente para reducir la fragilidad del recubrimiento, y en general representará aproximadamente de 10% en peso a 50% en peso, con respecto al peso seco del polímero. Los ejemplos de plastificantes típicos incluyen polietilenglicol, propilenglicol, triacetina, ftalato de dimetilo, ftalato de dietilo, ftalato de dibutilo, sebazato de dibutilo, citrato de trietilo, citrato de tributilo, acetil-citrato de trietilo, aceite de ricino y monoglicéridos acetilados. Preferiblemente se usa un agente estabilizante para estabilizar las partículas en la dispersión. Los agentes estabilizantes típicos son emulsionantes no iónicos tales como ésteres de sorbitán, polisorbatos y polivinilpirrolidona. Los agentes deslizantes se recomiendan para reducir los efectos de pegajosidad durante la formación de película y secado y en general representarán aproximadamente de 25% en peso a 100% en peso del peso del polímero en la solución de recubrimiento. Un agente deslizante eficaz es el talco. También se pueden usar otros agentes deslizantes como estearato magnésico y monoestearatos de glicerol. También se pueden usar pigmentos tales como dióxido de titanio. También se pueden añadir pequeñas cantidades de un agente antiespumante, tal como una silicona (p. ej., simeticona) a la composición de recubrimiento.

Matrices poliméricas

Se pueden usar matrices tanto no biodegradables como biodegradables para el suministro de los péptidos que se autoensamblan, aunque se prefieren las matrices biodegradables. Estas pueden ser polímeros naturales o sintéticos, aunque se prefieren los polímeros sintéticos debido a la mejor caracterización de los perfiles de degradación y de liberación. El polímero se selecciona basado en el periodo a lo largo del cual se desea la liberación. En algunos casos la liberación lineal puede ser la más útil, aunque en otros una liberación en pulsos o "liberación en masa" puede proporcionar resultados más eficaces. El polímero puede estar en forma de un hidrogel (típicamente absorbiendo hasta aproximadamente 90% en peso de agua) y opcionalmente puede estar reticulado con iones multivalentes o polímeros.

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

Los ejemplos de polímeros no biodegradables incluyen acetato de etilo y vinilo, poli(ácido (met)acrílico), poliamidas, copolímeros y mezclas de los mismos. Los ejemplos de polímeros biodegradables incluyen polímeros sintéticos tales como polímeros de ácido láctico y ácido glicólico, polianhídridos, poli(orto)ésteres, poliuretanos, poli(ácido bórico), poli(ácido valérico), y poli(lactida-co-caprolactona), y polímeros naturales tales como alginato y otros polisacáridos incluyendo dextrano y celulosa, colágeno, derivados químicos de los mismos (sustituciones, adiciones de grupos químicos, por ejemplo, alquilo, alquilenos, hidroxilaciones, oxidaciones y otras modificaciones hechas rutinariamente por los expertos en la materia), albúmina y otras proteínas hidrófilas, zeína y otras prolaminas y proteínas hidrófobas, copolímeros y mezclas de los mismos. En general estos materiales se degradan por hidrólisis enzimática

o exposición al agua in vivo, por erosión superficial o en masa.

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

La matriz puede estar en forma de micropartículas tales como microesferas, donde los péptidos se dispersan dentro de una matriz polimérica sólida o microcápsulas, donde el núcleo es de un material diferente que la cubierta polimérica y el péptido se dispersa o suspende en el núcleo, que puede ser de naturaleza líquida o sólida. Salvo que se defina específicamente en el presente documento las micropartículas, microesferas y microcápsulas se usan de forma intercambiable. Alternativamente, el polímero se puede moldear como un bloque o película, en el intervalo de los nanómetros a cuatro centímetros, producir un polvo por molienda u otras técnicas estándar, o incluyen un gel tal como un hidrogel. El polímero también puede estar en forma de un recubrimiento o parte de una endoprótesis o catéter, injerto vascular u otro dispositivo prostético.

Las matrices se pueden formar por evaporación de disolvente, secado por atomización, extracción de disolvente y otros procedimientos conocidos para el experto en la materia.

Las microesferas bioerosionables se pueden preparar usando cualquiera de los procedimientos desarrollados para hacer microesferas para el suministro de fármacos, por ejemplo, como describen Mathiowitz and Langer, *J. Controlled Release* 5,13-22 (1987); Mathiowitz, et al., *Reactive Polimers* 6, 275-283 (1987); y Mathiowitz, et al., *J. Appl. Polimer Sci.* 35, 755-774 (1988). La selección del procedimiento depende de la selección del polímero, morfología externa y cristalinidad que se desee, como describen, por ejemplo, Mathiowitz, et al., *Scanning Microscopy* 4,329-340 (1990); Mathiowitz, et al., *J. Appl. Polymer Sci.* 45, 125-134 (1992); y Benita, et al., *J. Pharm. Sci.* 73, 1721-1724 (1984). En la evaporación de disolvente, descrita, por ejemplo, en Mathiowitz, et al., (1990), Benita, y patente de EE.UU. nº 4.272.398 de Jaffe, el polímero se disuelve en un disolvente orgánico volátil. El péptido sea en forma soluble o disperso como partículas finas, se añade a la solución de polímero y la mezcla se suspende en una fase acuosa que contiene un agente tensioactivo tal como poli(alcohol vinílico). La emulsión resultante se agita hasta que la mayor parte del disolvente orgánico se evapora, dejando microesferas sólidas. En general, el polímero se puede disolver en cloruro de metileno. Se pueden obtener microesferas con diferentes tamaños (1-1000 micrómetros) y morfologías que es útil para polímeros relativamente estables tales como poliésteres y poliestireno. Sin embargo, polímeros lábiles tales como polianhídridos pueden degradarse debido a la exposición al agua. Para estos polímeros, puede ser preferida la encapsulación de fundido en caliente y la eliminación del disolvente.

En la encapsulación de fundido en caliente, primero se funde el polímero y después se mezcla con las partículas sólidas de péptidos. La mezcla se suspende en un disolvente no miscible como aceite de silicona, y, con agitación continua, se calienta a 5°C por encima del punto de fusión del polímero. Una vez se ha estabilizado la emulsión, se enfría hasta que las partículas de polímero solidifican. Las microesferas resultantes se lavan por decantación con éter de petróleo para dar un polvo fluido. Se pueden obtener microesferas con diámetros entre 1 y 1000 micrómetros por este procedimiento. La superficie externa de las esferas preparadas por esta técnica normalmente es lisa y densa. Este procedimiento es útil con polímeros lábiles en agua, pero su uso es limitado con polímeros con pesos moleculares entre 1000 y 50000. La eliminación de disolvente se diseñó principalmente para usar con polianhídridos. En este procedimiento, el fármaco se dispersa o disuelve en una solución de un polímero seleccionado en un disolvente orgánico volátil tal como cloruro de metileno. Después la mezcla se suspende en aceite, tal como aceite de silicona, por agitación, para formar una emulsión. En el espacio de 24 horas, el disolvente se difunde en la fase de aceite y las gotitas de emulsión se endurecen en microesferas de polímero sólidas. A diferencia de la evaporación de disolvente, este procedimiento se puede usar para hacer microesferas a partir de polímeros con puntos de fusión altos y un amplio intervalo de pesos moleculares. Se pueden obtener microesferas que tienen un diámetro entre 1 y 300 micrómetros con este procedimiento. La morfología externa de las esferas depende mucho del tipo de polímero usado. En el secado por atomización, el polímero se disuelve en cloruro de metileno (0,04 g/ml). Una cantidad conocida de fármaco activo se suspende (si es insoluble) o se codisuelve (si es soluble) en la solución de polímero. La solución o la dispersión después se secan por atomización. Se pueden preparar microesferas con doble pared de acuerdo con la patente de EE.UU. nº 4.861.627 de Mathiowitz.

Las microesferas de hidrogel hechas de polímeros de tipo gel tales como alginato o polifosfazinas u otros polímeros dicarboxílicos, se pueden preparar disolviendo el polímero en una solución acuosa, suspendiendo el material que se va a incorporar en la mezcla y extruyendo la mezcla de polímero a través de un dispositivo de formación de microgotas, equipado con un chorro de nitrógeno gaseoso. Las microesferas resultantes caen en baño de endurecimiento iónico, de agitación lenta, como describen, por ejemplo, Salib, et al., *Pharmazeutische Industrie* 40-11A, 1230 (1978). Se pueden preparar microesferas de chitosán disolviendo el polímero en solución ácida y reticulación con tripolifosfato. Por ejemplo, las microesferas de carboximetilcelulosa (CMC) se preparan disolviendo el polímero en una solución ácida y precipitando las microesferas con iones de plomo. Se puede preparar alginato/polietilenimida (PEI) para reducir la cantidad de grupos carboxilo en las microcápsulas de alginato.

Otros sistemas de suministro que incluyen películas, recubrimientos, pellets, bloques, y dispositivos, se puede fabricar usando disolvente o moldeo de fundido y extrusión, así como procedimientos estándar para hacer materiales compuestos. El polímero se puede producir mezclando primero monómeros y péptidos como describen Sawhney et al., y polimerizando los monómeros con luz UV. La polimerización se puede llevar a cabo in vitro así como in vivo.

5 F. Dispositivos para la administración

Las formulaciones líquidas se pueden proporcionar en una jeringa o pipeta que tiene un barril que contiene una composición que incluye los péptidos que se autoensamblan y un medio para expulsar la composición de una punta abierta de la jeringa o pipeta (p. ej., un émbolo o pera). La jeringa puede constar de uno o más compartimentos, de modo que la mezcla de los péptidos que se autoensamblan con uno o más de otros agentes se produce en el momento de la aplicación. Los compartimentos también pueden contener un excipiente tal como un material de formación de hidrogel o adhesivo en un compartimento y los péptidos que se autoensamblan en el otro compartimento. En otra realización, un compartimento puede contener polvo liofilizado o partículas de los péptidos que se autoensamblan, y el otro compartimento puede contener solución para disolver o hidratar los péptidos, u otros polvos para mezclar con los péptidos que se autoensamblan para la aplicación en seco. La composición dentro del barril puede incluir además cualquiera de los agentes no fibrosos descritos en el presente documento (p. ej., uno o más de un vasoconstrictor, un agente colorante, un agente anestésico o analgésico, un antibiótico y otro agente terapéutico, colágeno, un agente antiinflamatorio, un factor de crecimiento o un nutriente).

Los péptidos que se autoensamblan se pueden aplicar como un recubrimiento por pulverización o inmersión del dispositivo en los péptidos, se pueden impregnar los péptidos en un vendaje, gasa u otro material absorbente, los péptidos se pueden mezclar con un material polimérico. Los péptidos que se autoensamblan también se pueden formular como una espuma farmacéutica. Las espumas farmacéuticas son formas farmacéuticas presurizadas que, tras el accionamiento de la válvula, emiten una dispersión fina de materiales líquidos y/o sólidos en un medio gaseoso. En una realización, la espuma contiene los péptidos que se autoensamblan, en una forma líquida o sólida, opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos. Los propulsores adecuados incluyen, pero no se limitan a hidrofluoroalcanos (HFA), tales como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134a) y 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (HFA 227), hidrocarburos y dióxido de carbono.

III. Procedimientos de administración

A. Sitios de administración

Los péptidos que se autoensamblan se pueden aplicar en una variedad de superficies diferentes para prevenir o controlar el paso de fluido o para funcionar como una barrera. La cantidad de péptidos que se autoensamblan está determinada en parte por la función de los péptidos en el control del flujo de fluido, así como las propiedades de cualesquiera otros materiales o estructuras asociadas con los péptidos que se autoensamblan, solos o en combinación con otros materiales bioactivos. Los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para detener el movimiento de fluidos hacia dentro o hacia fuera de tejidos/órganos.

En una primera realización, los péptidos que se autoensamblan se usan para prevenir o controlar la hemorragia. Los péptidos que se autoensamblan se pueden aplicar como un polvo, líquido, un gel, o como parte de una sustancia tal como un vendaje o membrana. Este se puede aplicar a un vaso sanguíneo, sea dentro de la luz, por ejemplo, en el momento de la angioplastia, administrado por o como un recubrimiento sobre una endoprótesis o catéter, o en el exterior del vaso, típicamente en el sitio de anastomosis. Los péptidos que se autoensamblan se pueden aplicar a los tejidos antes, durante o después de cirugía para prevenir la hemorragia, que es especialmente problemática con tejidos como el hígado, riñón o bazo, u otras cirugías donde hay riesgo de transfusión, o para sellar y proteger un tejido, por ejemplo, que es para trasplante o reacoplamiento. En otra realización, los péptidos que se autoensamblan se pueden usar como un aditivo de una crema para el afeitado donde actúan como agentes hemostáticos para detener el sangrado debido a cortes con la maquinilla de afeitar, una barrera para prevenir la contaminación de los cortes con la maquinilla de afeitar y/o un lubricante.

Los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para detener el flujo de fluidos distintos de la sangre. Los péptidos que se autoensamblan se pueden aplicar a quemaduras para detener la pérdida de fluido intersticial. Los péptidos que se autoensamblan se pueden aplicar a la duramadre o al pulmón como un sellante de la duramadre o pulmón. En una realización, los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para reparar un pulmón después de una herida punzante, restableciendo así su capacidad para funcionar.

Los péptidos que se autoensamblan también se pueden usar en cirugía oral general, periodoncia, y odontología como una barrera.

El uso de péptidos que se autoensamblan en individuos con coagulación deteriorada (hemofilia, von Willebrands, deficiencia de vitamina K, proteína S o proteína C, hepatitis fulminante, coagulación intravascular diseminada ("DIC"), síndrome hemolítico-urémico ("HUS")) también es una utilidad importante puesto que el mecanismo de acción es independiente de la ruta de coagulación normal. Por ejemplo, las composiciones se pueden usar para sustituir una barrera semipermeable dañada, tal como en células, para restablecer el entorno local y facilitar la

supervivencia y reparación celular.

En otra realización, los péptidos que se autoensamblan se aplican típicamente por pulverización o inyección, al exterior de un tejido, tal como un tumor, para prevenir la rotura o metástasis en el momento de la cirugía. Los péptidos que se autoensamblan controlan la hemorragia durante la resección del tumor, y también limitan la metástasis. Esto también minimiza la respuesta inmunitaria que puede ser causada por un láser durante la resección tumoral. Los péptidos que se autoensamblan también son útiles para mantener los tumores sueltos juntos de modo que no se quede nada cuando son resecados. Hay varios tipos de tumores que son notoriamente duros de resecar debido a que no se mantienen estrechamente unidos (es decir, no son masas sólidas). Los péptidos que se autoensamblan se espera que sean particularmente útiles en la resección tumoral en el cerebro, y pueden ser útiles de una forma de dosis-respuesta para la resección de tumores subcutáneos. Esto puede hacer que sea más fácil resecar melanomas en la piel, debido a que parece que los péptidos que se autoensamblan también facilitan la cicatrización de la piel. Además, los péptidos que se autoensamblan que contienen un segmento director específico para un tumor se pueden unir al tumor haciendo que el tumor se agregue de modo que pueda ser resecado. Los péptidos que se autoensamblan también pueden inmovilizar células que se rompen del tumor durante la resección para detener o ralentizar la metástasis. Los péptidos que se autoensamblan también pueden incluir un marcador reactivo con algunos tipos de antígenos en la superficie de células tumorales, produciendo un cambio colorimétrico que muestra que se han retirado todas las células o que hay más que deben ser resecadas. La adición de un indicador a los péptidos que se autoensamblan, así como la capacidad de los péptidos para actuar como una barrera podría reducir la necesidad de una segunda y tercera operaciones, así como las complicaciones debidas a la contaminación del exterior dentro del campo quirúrgico. Los péptidos que se autoensamblan también se pueden usar para suministrar materiales tales como ADN en el sitio de la herida durante un periodo de tiempo prolongado in vitro y para múltiples tratamientos in vivo. Otra ventaja de los péptidos que se autoensamblan es que se pueden inyectar y gelificar en el sitio, de modo que los péptidos se pueden aplicar y volver a aplicar durante la cirugía, según sea necesario.

En otra realización más, los péptidos que se autoensamblan son particularmente adecuados para funcionar como una barrera para prevenir la contaminación, sea al tejido o desde el tejido, por ejemplo, durante cirugía intestinal. Los péptidos que se autoensamblan se pueden aplicar para preparar un sitio interno previamente a la cirugía, en especial sitios tales como el seno de cavidades, y para cirugías tales como cirugía transuretral y tranvaginal. Los péptidos que se autoensamblan también serían particularmente útiles en la cirugía cardiovascular, donde tanto las propiedades de barrera como de hemostasia podrían ser de valor, por ejemplo, para pacientes con válvula cardiaca que son propensos a consecuencias adversas tales como abscesos del anillo de la válvula (recubrimiento de válvula, adición de antibiótico), endocarditis (recubrimiento de válvula), disección de raíz aórtica (proporción de hemostasia inmediata). En otra realización más, se puede aplicar una mezcla de secuencias de aminoácidos complementarias que no se autoensamblan al tejido para bloquear la infección del tejido por bacterias. El hecho de que las secuencias sean complementarias puede dar como resultado la formación de una barrera más eficaz que las secuencias complementarias que se autoensamblan.

Los péptidos que se autoensamblan en combinación con un metal tal como plata tienen propiedades antiadherentes y pueden inhibir la angiogénesis. Por consiguiente, pueden ser útiles para disminuir las cicatrices y adherencias. Los péptidos que se autoensamblan se aplican después de cirugía, o a una herida tal como una quemadura para disminuir la cicatriz, la pérdida de fluido y limitar la infección. Esto tiene aplicación además en cirugía plástica, en especial para la protección de zonas limpiadas y desbridadas antes del cierre o trasplante de piel, por ejemplo, en abdominoplastia, lifting facial, sitios donadores de colgajos, latissimus dorsi para la reconstrucción de mama.

En otra realización más, los péptidos que se autoensamblan se administran como una suspensión que puede beber un paciente para reducir la hemorragia de estómago, por ejemplo, de una úlcera o disminuir la acidez. Alternativamente, los péptidos que se autoensamblan se podrían proporcionar como un enema o supositorio para tratar hemorroides o para llenar divertículos. En otra realización más, los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para prevenir la infertilidad debido a adherencias en las trompas de Falopio o conductos deferentes.

El autoensamblaje no es irreversible, las sustancias contenidas pueden ser liberadas. Por ejemplo, las moléculas o células pueden ser liberadas de las estructuras in vivo (p. ej., las moléculas pequeñas se pueden difundir y las moléculas mayores y células pueden ser liberadas al degradarse las estructuras).

En otra realización más, los péptidos que se autoensamblan se usan como un neuroprotector para minimizar el daño y las cicatrices después de lesión neuronal. Las estructuras basadas en péptidos promueven la reparación y regeneración de tejido neuronal (p. ej., cuando los péptidos que se autoensamblan se aplican a una lesión en el cerebro como se describe en U.S.S.N. 10/968.790). El pequeño tamaño de las fibras dentro de las estructuras y/o la estructura de "onda" abierta de los materiales permite la prolongación de los procesos celulares y permite la difusión adecuada de nutrientes y productos de desecho de una forma que proporciona ventajas únicas para la regeneración de tejido neural.

En el curso de la promoción de la reparación de heridas, las composiciones pueden no solo mejorar el resultado final (p. ej., menor formación de cicatriz que produzca un resultado que se parezca mucho más al tejido original), sino que también reduce el tiempo requerido para la cicatrización. Estos resultados no se podrían haber predicho basándose

en los resultados logrados después de aplicación al sistema nervioso central lesionado, dadas las diferencias sustanciales entre los tejidos neurales y no neurales.

5 Finalmente, los péptidos que se autoensamblan se podrían usar como “nanopaños” (“*nanodrapes*”) para prevenir la contaminación cruzada. Por ejemplo, los péptidos que se autoensamblan se podrían aplicar como un recubrimiento en el exterior del cuerpo y después inducir el autoensamblaje. Los péptidos que se autoensamblan pueden detener el movimiento de líquidos en el cuerpo, reduciendo así la posibilidad de contaminación cruzada.

B. Dosis eficaces

10 En general, la cantidad de péptidos que se autoensamblan necesaria variará dependiendo de diferentes factores tales como el tamaño o extensión de una lesión (que, a su vez, se puede expresar en términos de longitud de una incisión, el calibre o número de vasos sanguíneos dañados, el grado de una quemadura, el tamaño y profundidad de una úlcera, abrasión u otra lesión). La cantidad puede variar, por ejemplo, desde unos pocos microlitros hasta varios mililitros o más, p. ej., decenas o cientos de mililitros. El dispositivo usado para suministrar los péptidos que se autoensamblan variará de acuerdo con la cantidad. Por ejemplo, una jeringa se puede usar convenientemente para suministrar cantidades más pequeñas, mientras que un tubo o frasco compresible sería más adecuado para suministrar cantidades mayores. Una cantidad eficaz (sea en relación a una estructura, precursores de la misma u otra molécula bioactiva presente en la formulación), significa la cantidad necesaria para producir una respuesta biológica mejorada o deseada.

20 Como apreciarán los expertos en la materia, la cantidad eficaz de péptidos que se autoensamblan puede variar dependiendo de factores tales como el punto final biológico deseado, los péptidos que se van a suministrar, la naturaleza del sitio al que se van a suministrar los péptidos, y la naturaleza de la afección para la que se administra el agente. Por ejemplo, una cantidad eficaz de una composición para acelerar la hemostasia puede ser una cantidad suficiente para disminuir la cantidad de sangre perdida entre el momento en que empieza la hemorragia y el momento en el que termina la hemorragia en al menos 25% con respecto a la cantidad de sangre perdida después de tratamiento con solución salina fría o sin tratamiento. Una cantidad eficaz de una composición para acelerar la hemostasia también puede ser una cantidad suficiente para disminuir el tiempo requerido para lograr que cese la hemorragia visible en al menos 25% con respecto al tiempo requerido después de tratamiento con solución salina fría o sin tratamiento. Una cantidad eficaz de una composición para promover la cicatrización de heridas puede ser una cantidad suficiente para disminuir el tiempo necesario para lograr un porcentaje de reducción predeterminado en el tamaño de una herida en al menos 25% con respecto al tiempo requerido en ausencia de dicho tratamiento.

30 La cantidad de la composición proporcionada puede variar dependiendo de la gravedad de la afección del sujeto y debería ser suficiente para inhibir el movimiento no deseado en una extensión que beneficie al sujeto. La sustancia corporal puede ser sangre, líquido cefalorraquídeo, pus, exudado seroso, bilis, jugo pancreático o una sustancia normalmente contenida en el tracto gastrointestinal (p. ej., el estómago o intestino) o tracto urinario.

C. Cómo se administra

35 La composición se puede proporcionar sobre la superficie del cuerpo del sujeto y/o se puede proporcionar dentro de una cavidad generada por fuerza (p. ej., por un traumatismo inesperado o un procedimiento quirúrgico). De esta forma, el movimiento no deseado de las sustancias corporales puede ser inhibido en el contexto de una amplia variedad de situaciones, que incluyen lesión traumática, una afección médica (p. ej., una afección médica crónica o prolongada asociada con hemorragia), o procedimiento quirúrgico (p. ej., cirugía ortopédica, cirugía dental, cirugía cardíaca, cirugía oftálmica o cirugía plástica o reconstructiva). Por ejemplo, cuando el movimiento no deseado de la sustancia corporal es el resultado de un traumatismo, el sujeto puede tener una parte del cuerpo parcial o completamente seccionada, una laceración, abrasión o herida punzante. Cuando las composiciones se aplican a una superficie del cuerpo, no solo pueden inhibir el movimiento no deseado de una sustancia corporal, sino que también ayudan a proteger al sujeto de la contaminación. Por ejemplo, la aplicación de los péptidos que se autoensamblan a la piel impedirá el movimiento de una sustancia extraña no deseada en la piel o el cabello a una herida. Cuando el movimiento no deseado de la sustancia corporal es resultado de una afección médica crónica, el sujeto puede experimentar hemorragia recurrente. Por ejemplo, el sujeto puede estar sufriendo hemorragias en relación con venas varicosas, incluyendo telangiectasias, hemorroides, hemorragia en los pulmones (debido, por ejemplo, a cáncer de pulmón, bronquitis o una enfermedad bacteriana o vírica, incluyendo neumonía o gripe) o varices esofágicas. Las afecciones médicas asociadas con la hemorragia recurrente se pueden tratar con las composiciones descritas en el presente documento, incluyendo las que contienen los péptidos que se autoensamblan y un vasoconstrictor (p. ej., fenilefrina, que puede constituir aproximadamente 0,25-0,5% de la composición). Cuando se produce la hemorragia en la orofaringe o pulmones, las composiciones se pueden administrar por un inhalador dosificador. Si la afección del paciente se ha deteriorado hasta el punto de que se requiere respiración artificial, las composiciones se pueden administrar a través de un respirador o por lavado.

El movimiento no deseado de la sustancia corporal también puede tener lugar durante un procedimiento quirúrgico, y ese procedimiento puede implicar una incisión dentro del sistema nervioso del sujeto, ojo, oído, nariz, boca, faringe, sistema respiratorio, sistema cardiovascular, sistema digestivo, sistema urinario, sistema reproductor, sistema musculoesquelético, hígado, o tegumento. Los procedimientos se pueden llevar a cabo independientemente si el

movimiento de la sustancia corporal era o no deliberado. Las composiciones descritas en el presente documento se pueden aplicar antes o después de que se produzca el movimiento no deseado (p. ej., durante un procedimiento quirúrgico antes del corte transversal deliberado de un vaso sanguíneo o después del corte transversal de un vaso sanguíneo no deliberado). Por ejemplo, el procedimiento quirúrgico se puede llevar a cabo con la intención de reparar un aneurisma, impedir la hemorragia dentro del cerero, tratar varices esofágicas, tratar una úlcera o inhibir la pérdida de contenido gástrico o contenido intestinal (p. ej., de un apéndice hinchado o roto). El procedimiento quirúrgico puede implicar reseca una parte del intestino del sujeto. Otros procedimientos que se pueden llevar a cabo con la ayuda de composiciones que incluyen péptidos que se autoensamblan incluyen arteriografía, cateterización cardíaca, inserción de una endoprótesis, ayuda con un nacimiento natural o nacimiento por cesárea, histerectomía, trasplante de órgano, reemplazo de articulación o escisión de un disco intervertebral. Estos procedimientos son representativos. El procedimiento quirúrgico se puede realizar con ayuda de un endoscopio o laparoscopio, y las composiciones se pueden suministrar independientemente o formar una cámara situada dentro de estos dispositivos y conectada a un extremo distal por un conducto para la liberación en el tejido del sujeto. Cuando el paciente tiene una úlcera, esta úlcera puede ser esofágica, gástrica, duodenal, diabética o úlcera de decúbito. Más en general, las composiciones se pueden aplicar a cualquier zona alterada de la piel, y cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento puede incluir una etapa de identificar un paciente que necesite el tratamiento.

Una estructura de nanofibras de péptidos que se autoensamblan (SAPNS) puede proporcionar un entorno transparente para el campo quirúrgico, mientras que también crea un líquido ópticamente transparente que permite la operación a través de la mezcla de líquido y gel resultante. El campo quirúrgico a menudo se oscurece con sangre y desechos durante una operación. Además, la limpieza de desechos del campo quirúrgico normalmente requiere irrigar el sitio con disolución salina. La disolución salina es solo una disolución temporal y debe aplicarse continuamente para mantener el campo quirúrgico limpio. Esto plantea varios problemas: cualquier contaminación existente se extenderá fácilmente; una pequeña abertura requerirá alternar entre irrigación e intervención; y durante las operaciones intestinales el uso de disolución salina puede dar como resultado una infección masiva que conduzca a complicaciones posoperatorias. El uso de las SNAPS para el confinamiento biológico reducirá las complicaciones posoperatorias en procedimientos quirúrgicos endoscópicos y abiertos. La eficacia se ha demostrado en el cerebro, médula espinal, tracto gastrointestinal, hígado, músculo, arterias y venas.

Por ejemplo, una resección parcial actualmente se lleva a cabo como sigue: El cirujano realiza una resección parcial del intestino para retirar una zona precancerosa. Se hace la incisión y los intestinos se levantan con cuidado fuera de la cavidad intraperitoneal y se ponen en la mesa próxima al paciente. La zona dañada se reseca y los dos extremos del intestino después se ligan entre sí. Antes de volver a poner los intestinos en el cuerpo, se conecta una bolsa de colostomía en el extremo superior del intestino y se desinfecta la zona de operación. Los intestinos se vuelven a poner en el abdomen y se cosen de nuevo. Se pone un drenaje en el abdomen para asegurarse de que no hay fugas o hemorragia. En cambio, usando los péptidos que se autoensamblan, una resección parcial se lleva a cabo como sigue. El médico abre el abdomen y encuentra la parte dañada del intestino. Se aísla con líquido adicional que se vierte en la cavidad intraperitoneal para aislarla del resto de la cavidad intraperitoneal. El cirujano llega a través del gel que se formó mediante el líquido y reseca el intestino. Los dos extremos se ligan entre sí y se comprueba cualquier cambio de color en la zona. El gel también tiene un colorante indicador que cambia a azul si hay cualquier fuga de fluidos gástricos o bacterias. Todo el azul se elimina mediante succión. Se pulveriza un poco más de péptidos que se autoensamblan alrededor de la zona de la reparación y el abdomen se cose.

Tratamiento de cicatrices: Los experimentos han demostrado que la aplicación del material que se autoensambla se puede usar para bloquear la formación de cicatriz en el sistema nervioso central (SNC). La administración de péptidos que se autoensamblan en el sitio de la lesión bloquea la formación estable de una cicatriz, lo que puede permitir la regeneración en ese sitio; la eliminación de la cicatriz que se desarrolla en el sistema nervioso central (SNC) permite a los axones crecer a través del sitio de la herida.

Cicatrización de heridas potenciada por quelación: Los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para el suministro de un agente quelante tal como el hierro en un sitio, de modo que el cuerpo puede usarlo en el entorno local para reconstruir la membrana basal. En tejidos que no contienen suficiente hierro, el suministro de hierro en una forma estable ayudará a la cicatrización y la reconstrucción del tejido. Los metales con un resto de cistina o tipo cistina se pueden incorporar en el nanomaterial de modo que no haya impedimento estérico o haya poco con el ensamblaje de la matriz in vivo o in vitro.

En resumen, los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para crear un entorno local limpio para realizar cirugías; aislamiento de estructuras y la migración de contaminantes; inflado de estructuras para procedimientos quirúrgicos, es decir, intestino; estructuras de alrededor que se están separando que pueden tener fugas, es decir, apéndice, agujeros cutáneos en el cuerpo; permite la cirugía en entornos sucios; usado con procedimientos de delimitación para rodear el órgano antes de la operación para contener cualquier fuga; usado para crear una barrera para prevenir adherencias mientras se lleva a cabo la cirugía abdominal; y usado para formar una juntura entre la delimitación y el punto de inserción de la delimitación. Los beneficios durante la cirugía son que los péptidos que se autoensamblan son ópticamente transparentes, tienen una vida en anaquel larga a temperatura ambiente, se puede trabajar a través de ellos, acortan tiempos de preparación, eliminan recuentos de esponjas, aíslan cada estructura en el campo quirúrgico, acortan el tiempo de limpieza del quirófano, acortan el tiempo de la cirugía, reducen o

eliminan la contaminación cruzada causada por otros irrigadores, el material es biocompatible, los productos de descomposición son naturales y son absorbido por el cuerpo. Los péptidos que se autoensamblan son fáciles de manipular, se pueden inyectar en el sitio necesario, eliminarían infecciones por estafilococos, pueden ser capaces de reducir el coste del papel desechable del quirófano, reduce las bolsas de restos biopeligrosos puesto que el material se puede hervir para esterilizar después del procedimiento para limpiar con vapor. Puesto que los péptidos que se autoensamblan son transparentes deberían permitir al cirujano operar más rápido debido a que el campo quirúrgico está limpio de sangre. La eliminación del taponamiento de la herida para controlar la hemorragia podría reducir el tiempo de operación tanto como un 50% en un caso complicado. La infección posoperatoria debida a infección secundaria se puede reducir mediante el uso de los péptidos que se autoensamblan, puesto que pueden recubrir la herida durante y después de cirugía, reduciendo así la contaminación de cuerpos extraños. El cuidado posoperatorio puede usar los péptidos que se autoensamblan para reducir la infección debida a drenaje ralentizando la extensión del material en partículas en el abdomen o cavidad pectoral.

Aunque las composiciones se pueden eliminar de un sitio de aplicación (p. ej., un vaso que sangra) en cualquier momento, un médico puede desear que se quede en el sitio incluso después de que se haya logrado el objetivo inicial de promover la hemostasia, con el fin de promover la cicatrización de la herida.

Las composiciones incluyen péptidos que se autoensamblan, y estos péptidos pueden incluir restos de aminoácidos que son naturales y que pueden ser absorbidos por el cuerpo. Las composiciones no son difíciles de manipular, y se pueden dispensar fácilmente según las necesidades. Sus características (p. ej., la rigidez) se pueden alterar fácilmente alterando las concentraciones de los componentes en las mismas (p. ej., alterando la concentración de los péptidos que se autoensamblan en una composición dada). Puesto que la estructura ensamblada resultante no dificulta significativamente la visión del tejido de debajo, no es necesario eliminarla antes de que se pueda llevar a cabo un procedimiento. Por ejemplo, el médico puede examinar una quemadura u otro traumatismo de la superficie que se ha tratado en el campo con una composición descrita en el presente documento. En el quirófano, un cirujano puede hacer una incisión inicial a través del material y puede continuar la operación con el equipo estándar, tal como escalpelos y pinzas, o medios más modernos, tales como láseres, en un campo interno al que también se pueden haber aplicado las composiciones. Otra ventaja se puede ser en el tiempo, puesto que el uso de las composiciones puede disminuir el tiempo requerido para preparar a un paciente para cirugía. Puesto que las composiciones se pueden aplicar alrededor del sitio de una incisión y formar un recubrimiento para proteger frente a agentes infecciosos, hay menos necesidad de afeitar la piel del paciente, aplicar paños estériles y aplicar desinfectantes.

Dada la integridad estructural de las estructuras autoensambladas, se pueden retirar de una zona en la que se han formado, si se desea. Por lo tanto, una estructura autoensamblada se puede retirar, por ejemplo, por succión, o levantándola con un instrumento tal como fórceps, o limpiando con un hisopo o gasa. Por ejemplo, la estructura se puede retirar después de lograrse la hemostasia o en el transcurso de la limpieza de una herida. Basándose en los estudios hasta la fecha, la estructura o la mayor parte de la misma se puede retirar sin dañar el tejido de debajo. Cuando las estructuras ensambladas se forman ex vivo, se pueden retirar de un molde y usar posteriormente (p. ej., implantadas en un tejido o hueco de tejido). Las composiciones reducirían la cantidad de material que es necesario desechar o limpiar después (p. ej., paños estériles, esponjas y otros productos biopeligrosos).

Se pueden usar "nanopaños" para sustituir el papel o paños de tela tradicionales, limitando la infección después de la aplicación directamente al paciente, por ejemplo, por pulverización o recubrimiento de otra forma del paciente o la zona alrededor de la incisión quirúrgica. Actualmente un paciente se prepara para cirugía por afeitado, frotado, desinfección y colocación de paños después de colocación en la mesa quirúrgica. Después se aplica bactericida y cinta en la zona donde se va a realizar la cirugía. La composición de autoensamblaje se puede aplicar en lugar de los paños por pulverización de líquido caliente sobre el cuerpo donde se autoensambla como una segunda piel fina. Este material tiene un tamaño de poros que es menor que cualquier bacteria que pueda pasar a través, por lo que protege frente a cualquier contaminante transmitido por el aire, y debido a que el material de un milímetro de espesor puede contener un antibacteriano suave, este se adhiere al cuerpo como una segunda piel. Los péptidos que se autoensamblan también pueden tener un componente hidratante para la piel de modo que no se seque. No hay preocupación de que los péptidos que se autoensamblan entren en el sitio de la herida porque serán descompuestos por el cuerpo. Se puede añadir color para que sea más fácil determinar si los péptidos que se autoensamblan se han quitado todos por lavado después de la operación.

Estos péptidos que se autoensamblan también se pueden usar para prevenir la introducción de cuerpos extraños dentro del cuerpo y/o en la superficie del cuerpo humano. Los péptidos que se autoensamblan pueden prevenir la introducción de bacterias, hongos, virus, esporas y/u otros agentes infecciosos, creando una barrera que previene el paso de estos materiales.

Un armazón (p. ej., un material nanoestructurado) se puede proporcionar introduciendo, en un sujeto, un precursor del armazón en un sitio, o en la cercanía de un sitio, donde se desea el armazón (p. ej., para controlar el movimiento o la pérdida de una sustancia corporal, para proteger una herida o para promover la reparación de tejidos). Los precursores (es decir, péptidos que se autoensamblan) se proporcionan en la cercanía de un sitio, cuando se proporcionan en una posición que está suficientemente cerca de la zona objetivo (p. ej., un vaso que sangra, una sección enferma del tracto digestivo, una zona de piel quemada) de modo que alcanzan la zona objetivo en una cantidad eficaz. Los precursores, que pueden ser homogéneos o heterogéneos (p. ej., se puede aplicar un solo tipo

de péptidos que se autoensamblan o una mezcla de dos o más de dichos péptidos diferentes), pueden estar contenidos en una composición, y tras el contacto con las condiciones fisiológicas, se ensamblan para formar el armazón (p. ej., un material nanoestructurado). Por lo tanto, los precursores se pueden ensamblar in situ (es decir, dentro del cuerpo de un sujeto en o en la cercanía de la administración).

5 El material nanoestructurado puede incluir, o su ensamblaje puede implicar, componentes adicionales presentes in situ (p. ej., iones). Por lo tanto, se pueden aplicar precursores como los péptidos que se autoensamblan en una solución que está sustancialmente exenta de iones (p. ej., sustancialmente exenta de cationes monovalentes) y autoensamblarse para formar una estructura macroscópica cuando se ponen en contacto con dichos iones en el cuerpo (p. ej., en una sustancia corporal tal como sangre, contenido gastrointestinal, y similares). Por ejemplo, se
10 puede aplicar una solución que contiene precursores en, o en la cercanía de, un sitio de perforación gástrica o intestinal o un sitio donde se ha hecho o se va a hacer una incisión quirúrgica.

15 El armazón también se puede proporcionar en forma de un gel, ya que los precursores (es decir, los péptidos que se autoensamblan) se pueden ensamblar antes de introducir una composición en una zona objetivo (p. ej., el sitio en el que se hará una incisión para un procedimiento quirúrgico). La estructura ensamblada puede tomar cualquier forma conveniente.

20 El armazón también se puede proporcionar proporcionando los precursores en forma de un polvo seco. Un polvo "seco" tendrá un contenido líquido relativamente bajo (p. ej., suficientemente bajo para que las partículas en el mismo sean fácilmente dispersables). Los péptidos que se autoensamblan proporcionados en forma de un polvo seco se ensamblarán cuando se pongan en contacto con un fluido corporal que contiene cationes monovalentes, y se puede añadir una solución que contiene dichos iones si se desea alterar la velocidad a la que se forma el armazón o se endurece. Los péptidos que se autoensamblan se pueden proporcionar como emulsiones o, como se ha descrito antes, moldeados en formas preformadas que se pueden insertar en una cavidad corporal o sitio de herida de una forma similar a la de las esponjas quirúrgicas que se usan habitualmente. Si se desea, se puede
25 añadir un aglutinante a un polvo seco que después se conforma en una forma deseada. Independientemente de la forma precisa en la que se ensambla el armazón (p. ej., sea poniendo en contacto una formulación líquida que contiene los precursores con el cuerpo, o poniendo en contacto un polvo seco con una solución que contiene iones ex vivo), los armazones formados pueden tomar una forma deseada. Cuando el tamaño y forma es tal que la estructura llena la luz de un vaso sanguíneo, la estructura se puede usar como un tapón vascular.

30 Se puede llevar a cabo una medida preventiva antes de que un sujeto experimente un suceso no deseado (p. ej., antes de que se produzca una herida o antes de que empiece una hemorragia). Por lo tanto, el sitio de administración puede ser un sitio de potencial movimiento o potencial fuga, y la aplicación se puede hacer para prevenir o minimizar que se produzca dicho movimiento. Cuando se usa en el contexto de un procedimiento o tratamiento terapéutico, las composiciones pueden invertir, aliviar o inhibir el progreso de una afección (p. ej., un estado, síndrome, enfermedad o un signo, síntoma o manifestación de los mismos). Los procedimientos de
35 tratamiento de un sujeto en general se llevan a cabo una vez que se ha reconocido que el sujeto tiene una afección susceptible de tratamiento, y cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento, sea mejor descrito como profiláctico o terapéutico, puede incluir una etapa de identificar un sujeto susceptible.

40 Puesto que las composiciones descritas en el presente documento se pueden usar para inhibir el movimiento de una sustancia corporal en un sujeto, incluyendo el movimiento dentro o de la epidermis, las composiciones se pueden usar en el contexto de realizar una cirugía y se pueden describir como nuevos procedimientos para realizar cirugías o generar un campo quirúrgico. Los procedimientos, sea realizados en el contexto de la cirugía o no, pueden incluir una etapa de identificar un sujeto que necesite el tratamiento y una etapa de proporcionar un material nanoestructurado, o un precursor del mismo, en o en la cercanía de un sitio donde se ha producido o se espera que se produzca un movimiento no deseado. Por ejemplo, se puede identificar un paciente que está a punto de
45 someterse a un procedimiento quirúrgico y proporcionar una composición biocompatible que comprende péptidos que se autoensamblan y un vasoconstrictor, un agente colorante, o un agente anestésico local en un sitio en el que se va a hacer o se ha hecho una incisión u otra maniobra invasiva. La sustancia corporal a la que se afecta puede ser un fluido tal como sangre o un producto sanguíneo, exudado seroso (un exudado asociado con inflamación compuesto en gran medida por plasma, que típicamente aparece como un fluido transparente o de color ámbar), pus, jugo gástrico, orina, bilis, líquido cefalorraquídeo (LCR), jugo pancreático, y similares. La sustancia corporal puede ser viscosa, de tipo fangoso o semisólido, pero en general presentará una capacidad para fluir o moverse. Las sustancias de esta naturaleza incluyen el contenido del tracto gastrointestinal. La composición se puede retirar después de aplicación (p. ej., después de lograr la hemostasia o de completarse una operación en el intestino) o se puede dejar en el sitio. Por ejemplo, las composiciones se pueden aplicar para acelerar la hemostasia o inhibir el
50 movimiento del contenido intestinal durante la cirugía, y algo o toda la estructura se puede dejar en el sitio cuando se completa la operación. Esto proporciona una ventaja sustancial con respecto al uso de esponjas y otros materiales que deben retirarse antes del cierre. Las composiciones se pueden retirar en una variedad de formas (p. ej., por enjuagado o por succión).

60 Las composiciones también se pueden aplicar para proteger una zona subyacente (p. ej., una zona de piel quemada o lesionada de otra forma y otro tejido) y por lo tanto puede ayudar a prevenir que los contaminantes (p. ej., sustancias extrañas) se pongan en contacto con la zona (es decir, la composición se puede usar como una barrera o

protector). Un médico u otro profesional de la salud puede examinar una herida a través de los péptidos que se autoensamblan, y un cirujano puede operar a través de ellos mientras están en el sitio. Las sustancias contaminantes que van a parar sobre los péptidos que se autoensamblan durante el procedimiento, después se podrían retirar al retirar los péptidos.

5 Las composiciones se pueden administrar para estabilizar una herida antes del tratamiento definitivo (p. ej., mientras la víctima está esperando el transporte a un hospital o durante el tránsito). Las composiciones son igualmente útiles cuando las operaciones se llevan a cabo en condiciones de esterilidad menor que la óptima (p. ej., en hospitales de campaña o en zonas del mundo donde el acceso a quirófanos estériles está limitado). Las composiciones y procedimientos tienen el potencial de reducir significativamente la probabilidad de contaminación en casos como estos.

10 Los péptidos que se autoensamblan también se pueden aplicar localmente en combinación con un anestésico en la zona local donde tiene lugar el procedimiento y se pueden aplicar en una concentración mayor para reducir el movimiento de órganos durante la cirugía. Esto puede reducir deficiencias cognitivas en pacientes mayores al reducir la carga anestésica general. Se puede pulverizar una capa fina sobre el tejido o la piel cuando el cirujano está operando. Se puede aplicar por separado o junto a la administración de anestésico específico para órganos específicos. La piel tiene distintos receptores que los intestinos y es necesario un anestésico específico para cada uno de los órganos. Los intestinos deben detener el movimiento durante la cirugía, mientras que la sangre y la contracción de vasos sanguíneos no es necesario que permanezcan constantes.

15 *Tratamiento y prevención de hemorragia:* Cualquier individuo que esté en riesgo mayor de sufrir una hemorragia indeseable, que puede ser o no excesiva o inmediatamente potencialmente mortal, se puede tratar con las composiciones descritas en el presente documento. Estos individuos incluyen los que tienen trastornos de coagulación de la sangre tales como hemofilia, pacientes que reciben terapia anticoagulante, pacientes que sufren hemorragias nasales recurrentes, e individuos que se someten a cirugía, en particular cirugía o procedimientos mayores que implican acceder a una arteria. Sin limitación, la cirugía o procedimiento puede ser una operación en el sistema nervioso central, oído, nariz, boca, faringe, sistema respiratorio, sistema cardiovascular, sistema digestivo, sistema urinario, sistema musculoesquelético, sistema integumentario (piel) o sistema reproductor. Los ejemplos específicos de cirugías y procedimientos en los que se pueden usar las composiciones incluyen arteriografía, angiocardiógrafa, cateterización cardíaca, reparación de laceración obstétrica, eliminación de obstrucción arterial coronaria, inserción de endoprótesis, cesárea, histerectomía, reducción de fractura, injerto de derivación arterial coronaria, colecistectomía, trasplante de órgano, reemplazo de articulación total (p. ej., rodilla, cadera, tobillo, hombro), apendectomía, escisión o destrucción de disco intervertebral, escisión parcial del intestino grueso, mastectomía o prostatectomía.

20 Las víctimas de accidentes, individuos que participan en combates y mujeres que dan a luz también están en riesgo de experimentar una pérdida de sangre significativa. Las composiciones se pueden aplicar en un sitio de hemorragia obstétrica (p. ej., dentro del útero, vagina o tejido contiguo) con el fin de acelerar la hemostasia. Por ejemplo, las composiciones se pueden aplicar a un desgarro placentario o usar para tamponar el útero para controlar la hemorragia. Como con otras indicaciones, las composiciones aplicadas al tracto reproductor se pueden eliminar o dejar en el sitio. La hemorragia espontánea, rotura de aneurisma, varices esofágicas, úlceras gástricas, úlceras de la parte superior del intestino (p. ej., úlceras duodenales) también son afecciones médicas en las que se puede producir una hemorragia considerable y estos individuos también se pueden tratar como se describe en el presente documento.

25 La fuente precisa de la hemorragia puede variar y puede ser cualquier vaso sanguíneo en el sistema arterial o venoso (p. ej., una arteria, arteriola, capilar o lecho capilar, vénula o vena). El tamaño del vaso puede ir desde grande (p. ej., las composiciones pueden inhibir la hemorragia de la arteria aorta, ilíaca o femoral o una vena porta) a pequeña (p. ej., un capilar), y el vaso puede estar situado en cualquier sitio en el cuerpo (p. ej., en un órgano sólido tal como hígado, el estómago, intestino, piel, músculo, hueso, los pulmones o el sistema reproductor).

30 El tiempo necesario normalmente para que la coagulación de la sangre se puede prolongar cuando los niveles plasmáticos de factores de coagulación y/o plaquetas son bajos o en casos en los que un individuo ha recibido un anticoagulante (p. ej., warfarina o heparina). La hemorragia con frecuencia persiste durante considerablemente más tiempo que el tiempo de coagulación medio cuando hay más que daño mínimo a la integridad del vaso sanguíneo. Basándose en los estudios, se espera que las composiciones produzcan hemostasia en un periodo de tiempo que es menor, y al menos en algunos casos mucho menor, que el tiempo de coagulación medio. Aunque las composiciones no se limitan a las que logran hemostasia en cualquier tiempo (y los usos tales como proteger una zona de la contaminación o promover la cicatrización de tejido son independientes de esta función), las composiciones pueden conferir un beneficio a un sujeto que sangra en tan poco como cinco segundos después de la aplicación. Otras composiciones pueden ejercer un efecto en aproximadamente 10, 15 o 20 segundos después de la aplicación. El periodo eficaz se puede caracterizar de una forma distinta del tiempo absoluto. Por ejemplo, las composiciones pueden reducir el tiempo requerido para lograr la hemostasia en entre 25% y 50%; entre 50% y 75%; o entre 75% y 100% con respecto al tiempo requerido cuando se aplica solución salina helada. El tiempo requerido para lograr la hemostasia se puede reducir en aproximadamente 2, 3, 4 o 5 veces con respecto al tiempo requerido cuando se aplica solución salina helada.

- La concentración de péptidos que se autoensamblan se puede seleccionar con referencia a variables tales como el calibre del vaso, la extensión en la que está lesionado, y la fuerza con la que está saliendo la sangre (o saldría tras la herida). Concentraciones de péptido mayores serán deseables para promover la hemostasia de un vaso principal (p. ej., las arterias aorta, braquiocefálica, carótida, subclavia, celiaca, mesentérica superior, renal, iliaca, femoral o poplítea). Las concentraciones útiles pueden estar en el intervalo entre aproximadamente 1-10%; 0,5-5%; 1-4%; 0,1-2%; 0,1-3%; 0,1-4%; 0,1-5%; y 1-8% (p. ej., aproximadamente 1, 1.5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, o 7%). Se puede usar cualquier subintervalo, o cualquier valor específico dentro de cualquiera de los intervalos mencionados. Cualquiera de las concentraciones mencionadas también se puede usar para otras indicaciones descritas en el presente documento.
- 5
- 10 Como se ha indicado, la hemorragia puede deberse a cualquiera de una gran serie de diferentes causas y puede ser interna o externa. Las composiciones se pueden aplicar independientemente de la causa o la naturaleza de la causa (p. ej., sean causadas por un proceso de enfermedad o deliberadas o traumatismo accidental). Las composiciones se pueden usar para lograr hemostasia en un espacio confinado (p. ej., dentro de un órgano hueco) o en o cerca de la superficie del cuerpo. Por ejemplo, las composiciones se pueden aplicar a una parte del cuerpo parcial o
- 15 completamente seccionada tal como una extremidad o dedo. En este caso, las composiciones pueden servir para múltiples funciones; pueden no promover hemostasia, sino solo proteger el tejido herido de contaminantes y promover la cicatrización del tejido. Más específicamente, las composiciones se pueden aplicar a una herida, dejar en el sitio durante un periodo de tiempo suficiente para lograr la hemostasia y para que se produzca a coagulación de la sangre y después retirarlas. El material contaminante tal como agentes en partículas e infecciosos adheridos al
- 20 gel de péptidos se pueden eliminar con el mismo. Se puede aplicar después un vendaje estéril. Por supuesto las composiciones se pueden aplicar par los fines de limpiar una herida, prevenir la contaminación o promover la cicatrización de tejido incluso después de haberse logrado la hemostasia, o en situaciones en las que no es necesaria la aceleración de la hemostasia.
- 25 Cuando se usan para tratar una hemorragia nasal, las composiciones se insertan en la fosa nasal adecuada y se pueden dejar en el sitio hasta que ha cesado la hemorragia. Las composiciones se pueden retirar fácilmente por succión (p. ej., usando un cuentagotas o jeringa) o se pueden retirar por otros medios físicos, que incluyen simplemente soplando en la fosa nasal.
- Las composiciones también se pueden dejar en el sitio en una herida, y se puede aplicar un apósito sobre la composición. Puesto que la propia composición se puede retirar fácilmente, su presencia bajo el apósito puede
- 30 ayudar a prevenir que el apósito se pegue al tejido dañado. Si se desea se puede usar un vendaje que tiene una parte transparente de modo que el sitio de la herida se puede ver a través de la parte transparente del vendaje y la estructura peptídica de debajo. Esto permitirá a un médico controlar el progreso de la cicatrización sin retirar el apósito. Se describen vendajes modificados más adelante y están dentro del alcance de la presente invención.
- Muchos procedimientos médicos implican punción vascular, que puede ir seguida de hemorragia significativa. Se puede aplicar una composición de péptidos que se autoensamblan en la pared de un vaso con punción, p. ej., durante la retirada de un instrumento usado para la punción del vaso. Un tapón vascular formado de los péptidos que se autoensamblan proporciona una alternativa a los tapones vasculares y dispositivos existentes tales como los
- 35 descritos en las patentes de EE.UU. nº 5.192.302; 5.222.974; 5.645.565; y 6.663.655. El tapón vascular se puede formar in situ (p. ej., en un sitio de punción vascular), o se puede preformar y aplicar en el sitio.
- 40 Más en general, las composiciones que comprenden materiales nanoestructurados o precursores de los mismos (es decir, péptidos que se autoensamblan) se pueden usar para el sellado de cualquier paso a través de tejido. Los presentes procedimientos por lo tanto incluyen procedimientos de sellado de pasos a través de tejido, aplicando una composición que comprende un material nanoestructurado (p. ej., péptidos anfifílicos que se autoensamblan) a uno o ambos extremos del paso o en su interior. El tejido puede ser, por ejemplo, la pared de un vaso sanguíneo, la
- 45 pared de un órgano, tejido subcutáneo o tejido adiposo. El sellado del paso puede producir hemostasia. El paso también puede ser una fístula (es decir, una conexión anómala entre dos órganos o estructuras corporales o entre un órgano o estructura y el mundo exterior). Si se desea, un cirujano puede aplicar las composiciones en el interior de una estructura tabular tal como el intestino o un vaso sanguíneo, resecar y ligar el intestino o vaso sanguíneo en el gel y evacuar el gel del interior de la estructura para restablecer la continuidad de la estructura y permitir la
- 50 reperfusión de la zona con sangre u otras sustancias corporales. Los péptidos que se autoensamblan también se pueden usar para limitar la lesión por reperfusión. Por ejemplo, los péptidos que se autoensamblan se pueden administrar después de isquemia, tal como a pacientes que se han tratado con un agente trombolítico. Los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para limitar la lesión por reperfusión mediante el restablecimiento de barreras de tejido sanguíneo antes de, durante y/o después de reperfusión. Por ejemplo, los péptidos que se autoensamblan
- 55 se pueden usar para restablecer la barrera de tejido sanguíneo a través del recubrimiento interno de porciones del sistema circulatorio. Esto puede ser beneficioso en enfermedades tales como el infarto isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico, o lesión por reperfusión. Finalmente, los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para limitar la lesión por reperfusión a través del restablecimiento de la integridad de la estructura vascular antes de, durante y/o después de reperfusión.
- 60 Para aplicaciones quirúrgicas, la herida o cualquier parte del campo quirúrgico se pueden taponar con una composición que comprende péptidos que se autoensamblan. Este enfoque se puede usar en lugar del

taponamiento de heridas como se realiza convencionalmente durante la cirugía. Puesto que las composiciones contienen material biocompatible y biodegradable, se pueden dejar en el sitio, evitando así la necesidad de quitarlas al final del procedimiento y evitando la necesidad de una posterior operación para este fin. Los materiales biodegradables se pueden descomponer física y/o químicamente dentro de las células o dentro del cuerpo de un sujeto (p. ej., por hidrólisis en condiciones fisiológicas o por procedimientos biológicos naturales tales como la acción de enzimas presentes dentro de las células o dentro del cuerpo) para formar especies químicas más pequeñas que pueden ser metabolizadas y, opcionalmente vueltas a usar u/o excretadas o desechadas de otra forma. Preferiblemente, los compuestos biodegradables con biocompatibles.

La hemorragia gastrointestinal que se puede producir como consecuencia de úlceras o angiodisplasia, es una afección relativamente común y grave que puede ser mortal si se deja sin tratar. Las varices esofágicas hemorrágicas y úlceras gástricas y duodenales hemorrágicas pueden ser particularmente importantes. Se han desarrollado una serie de procedimientos terapéuticos endoscópicos para lograr la hemostasia, tales como la inyección de agentes esclerosantes, la unión de dispositivos hemostáticos mecánicos y las técnicas de contacto de electrocauterización. Las composiciones se pueden administrar en, o en las cercanías de, una úlcera o un sitio de hemorragia en el esófago, estómago, intestino delgado o intestino grueso. La hemorragia en una parte distal del intestino grueso, recto o ano (p. ej., hemorroides) también se puede tratar de esta forma.

La rotura de un aneurisma puede representar un suceso catastrófico con consecuencias rápidamente mortales. Los aneurismas aórticos rotos pueden dar como resultado rápidamente desangrado a pesar de la inmediata atención médica. Los aneurismas intracraneales rotos tienen consecuencias devastadoras. Las composiciones y procedimientos de la invención se pueden usar para tratar la hemorragia de un aneurisma roto de una forma esencialmente similar a la forma en la que se usan para tratar la hemorragia debido a otras causas (p. ej., por aplicación de precursores que se autoensamblan o una estructura preformada en el sitio de la hemorragia). Dada las consecuencias graves frecuentes de la rotura de aneurisma, a menudo se intenta la reparación quirúrgica. Las composiciones se pueden aplicar en el contexto de cualquier reparación intentada (p. ej., durante cirugía abierta o reparación endovascular (p. ej., con colocación de un injerto y/o endoprótesis)). Más específicamente, los presentes procedimientos incluyen tratar un aneurisma introduciendo una composición que comprende un material nanoestructurado o precursor del mismo (p. ej., una composición que comprende péptidos que se autoensamblan) en el aneurisma (p. ej., en el saco aneurismático). Una vez que cualquier hemorragia está bajo mejor control, el aneurisma entonces se puede reparar usando cualquier técnica adecuada. La presencia de la estructura peptídica dentro del saco aneurismático reduce la posibilidad de fuga o rotura antes o durante estos otros procedimientos. La estructura se puede dejar en el sitio. Además, la presencia del material en el saco aneurismático puede promover la curación del aneurisma.

Inhibición del movimiento o de pérdida de líquido cefalorraquídeo (LCR): La duramadre es la membrana dura, más externa, fibrosa que cubre el cerebro y la médula espinal, y reviste la superficie interior del cráneo. La pérdida de LCR es una complicación importante después de herida, cirugía u otros procedimientos en los que la duramadre es penetrada, incluyendo la penetración accidental en el transcurso de la administración de un anestésico en el espacio epidural. Dicha pérdida puede conducir a secuelas graves, tales como cefaleas graves, infección y meningitis. La composición puede inhibir el movimiento o pérdida de LCR en un sujeto que lo necesite después de aplicación en, o cerca de, un sitio de movimiento o pérdida de LCR no deseados. Las composiciones se pueden aplicar sobre suturas después de cirugía de la duramadre para ayudar a prevenir la pérdida de LCR del sitio de incisión. Las composiciones también se pueden usar para inhibir el movimiento o pérdida de fluido del tórax.

Inhibición de la pérdida de contenido del tracto gastrointestinal: Las composiciones pueden inhibir el movimiento del contenido gastrointestinal. Por ejemplo, las estructuras pueden prevenir la pérdida de contenido gastrointestinal después de perforación gástrica o intestinal o durante cirugía (véase el ejemplo 4). Las estructuras se pueden usar para aislar dichas sustancias corporales y prevenir su extensión dentro de la cavidad peritoneal, minimizando así la contaminación y el riesgo de posterior peritonitis química y/o infección. El contenido gástrico que contiene secreciones digestivas de las glándulas del estómago, que consisten principalmente en ácido clorhídrico, mucina y enzimas tales como pepsina y lipasa, pueden causar lesión y/o infección si son liberados a la cavidad peritoneal. La liberación del contenido intestinal en la cavidad peritoneal representa un suceso frecuente durante la cirugía en el intestino y también puede ocurrir en casos de perforación intestinal o un apéndice roto. La composición se puede usar para inhibir la pérdida de contenido gastrointestinal en la cavidad peritoneal. El sitio de movimiento puede ser un sitio de daño gástrico o intestinal causado por un proceso de enfermedad o una incisión quirúrgica. Las composiciones se pueden aplicar en el exterior de cualquier órgano en el sistema digestivo (p. ej., el estómago, o intestino grueso o delgado) o se puede inyectar o introducir de otra forma en el interior. Las composiciones se pueden administrar en el transcurso de resección de un segmento del intestino. Por ejemplo, se puede llenar un segmento del intestino que se extiende desde un primer punto a un segundo punto con una composición presente y reseca una parte del intestino que está entre el primer y segundo puntos. En una realización, los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para tratar la acidez. Por ejemplo, los péptidos que se autoensamblan se pueden formular como una solución, suspensión o emulsión (como una bebida o batido), gel, comprimido, oblea, cápsula, etc., que se administra por vía oral con el fin de recubrir partes del tracto gastrointestinal. Las formulaciones se pueden usar para: detener el movimiento de fluidos corporales incluyendo jugos gástricos y sangre; recubrir el tracto GI; y/o detener el progreso de úlceras, erosión e inflamación. Las formulaciones también se pueden usar para

ayudar a reparar las células en el esófago de la enfermedad de reflujo ácido. Las formulaciones se pueden usar también para ayudar a reparar las células en el esófago que han sido dañadas por reflujo ácido, otras enfermedades o trastornos y/o intervenciones terapéuticas. Las formulaciones se pueden usar para ayudar a reparar úlceras primarias y secundarias y erosiones de la mucosa. Las formulaciones se pueden usar para suministrar agentes terapéuticos, profilácticos y/o de diagnóstico a partes del tracto GI según se necesite. Por ejemplo, los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para suministrar agentes para restablecer la flora y fauna del tracto GI que se ha eliminado por el tratamiento con radiación y/o enfermedad o traumatismo.

En un procedimiento relacionado, se pueden usar las composiciones para eliminar contenido intestinal que ha sido liberado en la cavidad peritoneal. El procedimiento incluye aplicar una composición líquida al contenido intestinal liberado, permitiendo que la composición líquida sufra una transición de fase, y después eliminando la composición de tipo gel o semisólida. Estas etapas se pueden repetir una o más veces hasta que el cirujano esté satisfecho con la cantidad de contenido intestinal que se ha retirado de la cavidad peritoneal. En otro procedimiento relacionado, las composiciones se pueden aplicar a úlceras para actuar como una barrera para prevenir que el ácido se ponga en contacto con el estómago.

Se puede inhibir de forma similar el movimiento del contenido de otros órganos internos (p. ej., órganos en los sistemas biliar y urinario). Por ejemplo, se puede inhibir el movimiento de la bilis, jugo pancreático (es decir, secreciones de la parte exocrina del páncreas que contienen enzimas digestivas), u orina, y/o descontaminar o limpiar la zona en la que la bilis, jugo pancreático u orina se han liberado por aplicación y posterior eliminación de las composiciones en el sitio. Por lo tanto, los procedimientos tienen una amplia aplicación en cirugías para reparar o tratar de otra forma defectos del sistema intestinal, biliar y/o urinario.

Cicatrización de heridas: Los estudios también indican que las composiciones tienen la capacidad de potenciar la cicatrización, en particular de una capa epitelial o músculo, y por lo tanto se pueden administrar para tratar el sitio del tejido dañado. Por ejemplo, se puede aplicar una composición que incluye péptidos que se autoensamblan al sitio del tejido dañado. Parece que las composiciones tanto aumentan la velocidad de reparación del tejido como que inhiben la formación de tejido cicatricial. Las composiciones se pueden usar para el cuidado de heridas tanto agudas como crónicas. Por ejemplo, se pueden aplicar a la piel herida de cualquier manera (p. ej., lacerada o quemada) y a lesiones tales como úlceras diabéticas y escaras de decúbito. En el caso de quemaduras, una composición que se autoensambla, que contiene opcionalmente un agente de desbridamiento, se podría administrar en el sitio quemado. El desbridamiento se podría producir en o a través de los péptidos que se autoensamblan, reduciendo así la cantidad de abrasión en el sitio y minimizando o eliminando la contaminación del tejido que lo rodea o entorno. El ensamblado de los péptidos que se autoensamblan también forman una barrera que puede prevenir la infección y/o contaminación de la quemadura.

Los péptidos que se autoensamblan también pueden ser útiles para inhibir o prevenir la formación de tejido cicatricial mediante hierro quelante y otros iones metálicos que actúan como cofactores para la formación de tejido cicatricial. Cuando la herida cura, el pH del sitio de la herida disminuye y aumenta la concentración de hierro. La cicatrización y el tejido cicatricial pueden bloquear el crecimiento de axones. Los péptidos que se autoensamblan pueden bloquear la formación de tejido cicatricial mediante hierro quelante en el sitio de la herida, probablemente mediante la presencia de grupos funcionales electronegativos y/o con carga negativa que pueden formar complejo con iones de metal con carga positiva. La eliminación o formación de complejo de hierro en una herida previene la formación estable de colágeno IV. La capacidad de controlar el entorno de la herida permite controlar la velocidad y extensión de la cicatrización.

Esta capacidad de los péptidos que se autoensamblan para quelar iones metálicos también puede ser útil para prevenir infecciones bacterianas o fúngicas mediante metales quelantes, que son cofactores para las bacterias y los hongos. Las infecciones también se pueden prevenir por recubrimiento de un tejido con una capa de péptidos que se autoensamblan, previniendo así que las bacterias y hongos se enganchen al tejido.

Estos péptidos que se autoensamblan se pueden usar para mantener la hidratación y nutrición en pacientes que han tenido quemaduras o en casos de que la piel exterior se haya abierto debido a la abrasión o quemadura.

En otro caso los péptidos que se autoensamblan se pueden usar para mantener la temperatura corporal cuando el paciente se cubre con los péptidos mediante una fuente externa de calor o enfriamiento.

Regeneración de tejido

Vehículo de suministro de fármaco para el espacio intratecal: Los péptidos que se autoensamblan descritos en el presente documento se pueden usar para suministrar agentes terapéuticos y/o de imagenología al espacio intratecal. Los ejemplos de agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a agentes antiinflamatorios y agentes para estimular la regeneración de nervios/médula espinal. Se ha usado material de hidrogel para intentar suministrar uno o más agentes activos al espacio intratecal. Sin embargo, estos materiales pueden estar limitados por sus tiempos de polimerización lentos, que permiten que el material se difunda antes de que el material polimerice para formar el gel. Los péptidos que se autoensamblan descritos en el presente documento se pueden diseñar para que se autoensamblen rápidamente de modo que los péptidos no puedan difundirse.

Reparación de cartílago: Los péptidos que se autoensamblan descritos en el presente documento se pueden usar para la reparación de cartílago. Los péptidos que se autoensamblan típicamente se inyectarán en el sitio donde es necesario reparar el cartílago. Los péptidos que se autoensamblan se pueden usar solos o en combinación con células y/o factores de crecimiento.

5 *Regeneración ósea:* Los péptidos que se autoensamblan descritos en el presente documento se pueden usar para preparar materiales compuestos para la regeneración ósea. Por ejemplo, los péptidos que se autoensamblan actúan como un vehículo para materiales inorgánicos, tales como fosfato de calcio o hidroxiapatito, materiales orgánicos, tales como factores de crecimiento y/o injertos óseos. Los materiales inorgánicos como el fosfato de calcio se pueden remodelar por el mecanismo de resorción de osteoclastos para regenerar hueso. Los péptidos que se autoensamblan también se pueden inyectar bajo el periostio para estimular el crecimiento óseo como un medio para crear injertos de hueso in vivo. Alternativamente, los péptidos que se autoensamblan descritos se pueden usar para terapias de regeneración ósea guiadas que limitan la fibra en crecimiento. Por ejemplo, los péptidos que se autoensamblan descritos en el presente documento se pueden usar en procedimientos dentales como moldes que se colocan sobre el alveolo dental para prevenir que crezcan tejidos fibrosos en el espacio alveolar.

15 *Suministro de oxígeno:* Los péptidos que se autoensamblan descritos en el presente documento se pueden usar para suministrar oxígeno en los pulmones y/u otros órganos. Por ejemplo, los péptidos que se autoensamblan se pueden superoxigenar para proporcionar soporte/perfusión de oxígeno para pacientes que sufren hemorragia pulmonar y otras enfermedades pulmonares.

20 *Procedimientos, dispositivos y kits de suministro:* Se puede usar una variedad de dispositivos para introducir las composiciones en una zona objetivo del cuerpo. Los dispositivos pueden ser sencillos, tales como una jeringa, y dichos dispositivos se pueden proporcionar junto con las composiciones en kits. La composición se puede suministrar localmente en o cerca de una zona objetivo en el cuerpo por inyección (p. ej., usando una aguja y jeringa), o con un catéter, cánula o dispensando (p. ej., por vertido) desde cualquier recipiente de tamaño adecuado. Las composiciones se pueden suministrar con ayuda de guiado por imágenes (p. ej., guiado estereotáctico) si es necesario. Alternativamente, se puede humedecer un material con la composición y después usar para aplicar una composición a una zona de tejido.

30 Para el almacenamiento y transporte, los péptidos que se autoensamblan se pueden disolver en un disolvente adecuado (p. ej., un medio acuoso tal como agua estéril, y almacenar durante periodos de tiempo largos antes de usar). Las soluciones que contienen péptidos se han almacenado durante hasta dos años sin pérdida sustancial de actividad. Si se produce el autoensamblaje parcial después de un periodo prolongado de tiempo, se puede usar la agitación física (p. ej., por ultrasonidos) para restablecer los péptidos que se autoensamblan a un estado más líquido antes de la administración. Alternativamente, los péptidos que se autoensamblan se pueden aplicar en forma de un gel. Si se desea, se pueden añadir una pequeña cantidad de iones (p. ej., cationes monovalentes) a una solución antes de la aplicación. Esto puede acelerar el proceso de formación de gel. Alternativamente, los cationes monovalentes se pueden aplicar después de que se haya administrado la solución.

35 Se proporcionan kits que contienen jeringas de diferentes capacidades o recipientes con lados deformables (p. ej., recipientes de plástico o recipientes plastificados) que se pueden comprimir para forzar que salga una composición líquida por un orificio. En una realización, la jeringa o recipiente contiene múltiples compartimentos, uno contiene iones monovalentes y el otro péptidos que se autoensamblan, que se mezclan en el momento de la administración, a través de una aguja común. Se puede usar un endoscopio para suministrar las composiciones para el tratamiento de un órgano hueco (p. ej., esófago, estómago, intestino, etc.) o cavidad corporal (p. ej., durante la cirugía mínimamente invasiva). La cirugía mínimamente invasiva se refiere a un procedimiento de cirugía por el cual las operaciones se realizan con instrumentos especializados diseñados para ser insertados a través de incisiones pequeñas o aberturas del cuerpo naturales, a menudo realizadas con visualización endoscópica. Los ejemplos incluyen cirugía laparoscópica, cirugía artroscópica, y cirugía endovascular. Un endoscopio típicamente es un dispositivo de tipo tubo flexible, largo. Además de permitir la visualización de estructuras internas, muchos endoscopios tienen capacidades adicionales de diagnóstico (p. ej., biopsia) y terapéuticas (p. ej., suministro de agentes terapéuticos) a través de canales especiales. Los colonoscopios, sigmoidoscopios, broncoscopios, cistoscopios y laparoscopios, son variantes de un endoscopio que tienen características que los hacen especialmente adecuados para ver determinados órganos, estructuras o cavidades. Cualquiera de estos dispositivos se puede usar para suministrar las composiciones. Los kits se pueden envasar incluyendo un endoscopio y un recipiente que contiene una solución que comprende los péptidos que se autoensamblan. Los endoscopios adecuados son conocidos en la materia y están ampliamente disponibles. Los endoscopios se usan actualmente en el suministro de agentes esclerosantes en sitios de hemorragia esofágica.

55 Los kits pueden incluir péptidos que se autoensamblan y uno o más de: una jeringa, una aguja, hilo, gasa, un vendaje, un desinfectante, un antibiótico, un anestésico local, un agente analgésico, hilo quirúrgico, tijeras, un escalpelo, un fluido estéril y un recipiente estéril. Los péptidos pueden estar en solución o secos (p. ej., en forma de un polvo seco). Los componentes del kit se pueden envasar individualmente y son estériles. Los kits en general se proporcionan en un recipiente, p. ej., un envase de plástico, cartón o metal adecuado para la venta comercial. El kit se puede diseñar como un "kit de primeros auxilios", en cuyo caso típicamente tendrá un símbolo con una cruz roja en el exterior. Cualquiera de los kits puede incluir instrucciones de uso.

Ejemplos

Ejemplo 1: El material de péptidos que se autoensamblan acelera la hemostasia en el cerebro

Se llevó a cabo el corte transversal completo de una rama del seno sagital superior en los cerebros de ratas y hámsteres después de separar una parte del cráneo que recubre el tejido cortado. Los animales se anestesiaron con una inyección i.p. de ketamina (8 mg/kg) y xilazina (8 mg/kg). Todos los procedimientos quirúrgicos se llevaron a cabo bajo un microscopio quirúrgico. Se trataron 22 animales, que incluían 10 hámsteres adultos y 12 ratas hembra Sprague-Dawley adultas jóvenes (200-250 g) con solución salina helada o 20 µl de una solución de péptidos al 1% en el sitio del corte transversal de la rama sinusal. El material se preparó disolviendo el péptido RADA16-1 (n-RADARADARADARADA-c; SEQ ID NO: 1) en agua estéril, y la solución que contenía el péptido se aplicó en el tejido lesionado con una aguja de calibre 31 unida a una jeringa de 2 cm³.

El experimento se grabó en vídeo con una marca de tiempo y se reprodujo fotograma a fotograma para evaluar el tiempo requerido para que la solución de péptidos formara un gel, que impidiera la hemorragia eficazmente. La hemostasia se evaluó de forma visual, y la "hemostasia completa" se definió como la falta completa de movimiento de sangre del sitio de la herida. La hemostasia completa se logró en el espacio de 10 segundos de la aplicación de la solución de péptidos en todos los casos.

Se tomaron una serie de fotografías de una rata adulta en la que se había retirado una parte del cráneo de recubrimiento y una de las venas del seno sagital superior se cortó transversalmente y después se trató con una solución que contenía péptidos. La fotografía inicial muestra el cerebro y las venas expuestas del seno sagital superior; la siguiente fotografía muestra el corte de la vena; la siguiente fotografía muestra la hemorragia de la vena rota; y la fotografía final muestra la misma zona cinco segundos después de haber aplicado la solución de péptidos. Se logró la hemostasia completa.

Se midieron las duraciones desde el inicio de la aplicación de la solución de péptidos hasta la hemostasia completa después del corte transversal de las venas que llevan al seno en los cerebros de ratas adultas. La hemostasia completa se logró en una media de 8,3 segundos. En los controles con solución salina, no se logró nunca el cese de la hemorragia. El experimento de control con solución salina se terminó en el mismo tiempo de medición con el fin de prevenir que los animales se desangraran hasta la muerte.

Se han obtenido resultados similares después del corte transversal completo del seno sagital superior. Se usó una concentración mayor de péptidos (p. ej., aproximadamente 3%-4%) en el último experimento con el fin de lograr la hemostasia. Tres casos de control con solución salina continuaron sangrando después de 20 segundos. En los animales de control la solución salina helada se retiró y se aplicó la solución de péptidos, dando como resultado la hemostasia completa casi inmediatamente.

Un total de 22 ratas y 64 hámsteres se han sometido a experimentos en los que las soluciones que contenían péptidos lograron la hemostasia eficazmente en el plazo de 10 segundos después de aplicación en un sitio de hemorragia intracraneal.

Ejemplo 2: El material de péptidos que se autoensamblan acelera la hemostasia después de corte transversal de la arteria femoral

El nervio ciático y la arteria femoral adyacente se expusieron en ratas adultas y la arteria femoral se cortó transversalmente. Se trataron 12 ratas por aplicación de 20 µl de una solución de péptido RADA16-1 (SEQ ID NO: 1) al 1% en el sitio del corte transversal usando una pipeta de vidrio unida a un cuerpo de jeringa, mientras que los controles se trataron aplicando solución salina fría en el sitio del corte transversal. En todos los casos tratados, la hemostasia se logró en menos de 10 segundos. Los casos de control de solución salina continuaron sangrando hasta que se terminó el experimento a los 110 segundos. En estos animales de control, la posterior sustitución de la solución salina fría por la solución de péptidos dio como resultado el logro casi inmediato de la hemostasia completa.

Se tomaron una serie de fotografías en la rata adulta en la que se cortó transversalmente la arteria femoral. En la primera fotografía tomada, están expuestos el nervio ciático y la arteria femoral. La siguiente fotografía muestra el corte de la arteria y la siguiente fotografía muestra la hemorragia. Después de aproximadamente 5 segundos, se observó hemostasia completa en la zona de un gel transparente formado por los péptidos ensamblados en presencia de sangre y plasma. El material ensamblado se puede retirar por succión del sitio fácilmente si se desea. La hemostasia completa se mantuvo durante el tiempo que duró el ensayo (1 hora).

La hemostasia completa se logró en menos de 10 segundos. En los controles de solución salina, no se alcanzó nunca la hemostasia.

Los experimentos de traumatismo muscular mostraron la hemostasia completa después de hacer incisiones de 1-2 cm en el músculo en el dorso de una rata. Los músculos espinosos trapezoidales del dorso de las ratas se expusieron y se hizo un corte profundo en el músculo, después de lo cual se aplicó solución al 1% del péptido RADA16-1 (SEQ ID NO: 1) en el corte. En el espacio de 10 segundos había parado toda la hemorragia. Con la aplicación de solo solución salina helada, los animales de control continuaron sangrando después de 20 segundos.

Este procedimiento se repitió en el músculo de la extremidad posterior (porteocaudalis y músculo tibial craneal) y se obtuvieron resultados similares. Se aplicó el péptido entre 1% y 100% (RADA16-1) (SEQ ID NO: 1) en las heridas de las extremidades y se logró la hemostasia en todos los casos. Sin embargo, cuando se cortó transversalmente una arteria o vena fue necesario material al 2% o superior para llevar a cabo la hemostasia. Con la aplicación de solo solución salina helada, los animales de control continuaron sangrando después de 20 segundos.

Ejemplo 3: El material de péptidos que se autoensamblan acelera la hemostasia en el hígado

Para demostrar más la capacidad de las estructuras que contienen péptidos de detener la hemorragia de un vaso que tiene una presión relativamente baja, se abrió la cavidad intraperitoneal de una rata adulta, se expuso el hígado y el *lobus sinister lateralis* recibió un corte de la parte rostral a la causal que cortó transversalmente por completo una parte del hígado. Se produjo una hemorragia profusa. Se aplicó una solución al 1% de péptido (RADA16-1) (SEQ ID NO: 1) al corte y en sus proximidades usando una aguja de calibre 27 y una jeringa de 4 cm³. Toda hemorragia cesó en el espacio de 10 segundos. Se obtuvieron una serie de fotografías. La primera muestra la exposición del hígado; en la segunda, el hígado se separa y es evidente la hemorragia profusa; y en la tercera, las dos partes del hígado se deja que vuelvan a juntarse, y continúa la hemorragia. Después del tratamiento del sitio con solución de péptido al 1% (aplicada por vía tópica en el corte), cesó toda hemorragia en el espacio de 10 segundos. Se observó una zona transparente entre las dos mitades del *lobus sinister lateralis*. Este procedimiento se repitió varias veces con el mismo resultado.

Un experimento similar demostró la capacidad de las estructuras de péptidos para detener la hemorragia de un vaso en el hígado que tiene una presión mayor. Una serie de fotografías ilustran el experimento. La primera representa la cavidad intraperitoneal abierta y el hígado expuesto; en la segunda, el *lobus sinister lateralis* recibió un corte transversal que cortó completamente una parte del hígado y una rama principal de la vena porta; y la tercera muestra hemorragia profusa en el sitio de la herida. El corte se trató con solución de péptidos al 4% aplicada por vía tópica en el corte. Toda hemorragia cesó en el espacio de 10 segundos. La parte inferior del *lobus sinister lateralis* se empujó hacia abajo para mostrar que la estructura peptídica está en el corte. El sitio no sangraba incluso cuando se sometió a esta tensión física. Diez minutos después, no había hemorragia. Por lo tanto, la aplicación de la solución de péptidos al 4% produce la hemostasia completa en un entorno hemorrágico de alta presión en menos de 10 segundos.

Se ensayó el tratamiento con solución de péptidos al 2% o 3% en el mismo tipo de experimento, y se logró la hemostasia completa. El tratamiento con solución al 1% dio como resultado el cese parcial de la hemorragia. Además, 30 segundos después del tratamiento, el exceso de estructura peptídica se limpió del sitio de la herida y la hemostasia se mantuvo. Este procedimiento se repitió varias veces con el mismo resultado.

En otros experimentos se quitó ¼ del lóbulo en el cuadrante inferior derecho del *lobus sinister lateralis*, y el borde se trató con una aplicación tópica de 2% de péptidos (RADA16-1) (SEQ ID NO: 1) en el sitio de la herida. La hemorragia se detuvo en menos de 10 segundos. Un minuto más tarde se retiró el péptido y se logró la hemostasia completa en el borde del hígado.

Ejemplo 4: Material de péptidos que se autoensamblan para adherencias presentes

Se expuso el hígado de 18 ratas adultas con anestesia profunda, el lóbulo derecho superior se perforó con un punzón de 4 mm, después la herida se trató con NHS-1 al 3%. Se dejó que los animales sobrevivieran 2 d, 7 d, 14 d, 6 sem. y 8 sem., respectivamente, después los animales se anestesiaron de nuevo y el lóbulo perforado del hígado se diseccionó y procesó para la tinción con HyE. Además, un conjunto de controles se trató con solución salina o se cauterizó.

Se llevó a cabo el experimento de biopsia por punción de 4 mm del hígado con control y llenando con RADA16-1 (SEQ ID NO: 1) al 3%. Todos los controles tenían adherencias en ambas superficies, mientras que los tratados no tenían adherencias. En los controles de 2 semanas, 6 semanas y 8 semanas se cortaron las adherencias de las superficies superior e inferior. En todos los casos tratados con RADA16-1 (SEQ ID NO: 1) al 3% no había adherencias en la superficie superior o inferior del hígado.

Ejemplo 5: Material de péptidos que se autoensamblan

Se perforó el intestino de una rata adulta con un corte pequeño a nivel del duodeno que dio como resultado pérdida de fluido gástrico en la cavidad intraperitoneal. Cuando el sitio se trató con solución de péptidos al 2% (RADA16-1) (SEQ ID NO: 1) se detuvieron todas las pérdidas de fluido gástrico. Se inyectó un volumen adicional de solución de péptidos al 2% en el duodeno a nivel de la herida. Esto previno cualquier pérdida del intestino durante una hora, la duración del procedimiento. En el corte de control a nivel del duodeno, la pared del intestino se invirtió y los fluidos gástricos continuaron perdiéndose del sitio de la herida cuando se dejaron sin tratar. Cuando el sitio se trató con la solución de péptidos 15 minutos después de la herida, el tratamiento con péptidos detuvo también cualquier pérdida desde este sitio de herida. Además, el tratamiento detuvo el avance de la inversión de la pared intestinal.

Ejemplo 6: El material de péptidos que se autoensamblan acelera la cicatrización de heridas en la piel

Para demostrar la capacidad de los péptidos que se autoensamblan de potenciar la cicatrización de heridas, se sometió a los animales a biopsias por punción de la piel y tejido subcutáneo. Las regiones de las que se tomaron las biopsias se trataron con una sola aplicación de solución de péptidos que se autoensamblan (RADA16-1) (SEQ ID NO: 1) o se dejaron sin tratar. Las heridas se dejaron sin vendar. Una serie de fotografías de un ensayo de cicatrización de biopsia por punción de 4 mm en el que los animales lesionados se trataron con el péptido que se autoensambla y se compararon con casos correspondientes sin tratamiento, ilustran los resultados. Las heridas se fotografiaron el día 0, día 1 y día 7. Las heridas tratadas curaron mucho más rápido como se pone de manifiesto por la contracción del sitio de la herida en las tres punciones, tan pronto como el día 1. El tratamiento con el péptido parecía acelerar la curación tanto como en 5 días en algunos casos. En todos los casos, la contracción del sitio de la herida parecía más rápido en los casos tratados.

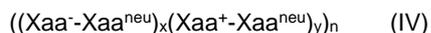
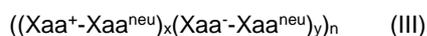
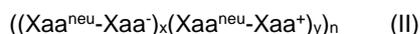
Ejemplo 7: Composiciones que contienen lidocaína

Se aplicó RADA16-1 (SEQ ID NO: 1) mezclado con lidocaína y la mezcla se aplicó en la piel de ratas adultas antes de aplicar un pinchazo. Es una mezcla al 5% de lidocaína y RADA16-1 (SEQ ID NO: 1). Se aplicó sobre la piel y se dejó lo que duraba el ensayo. Cuando se mezcló con un péptido que se autoensambla, la respuesta al pinchazo se silenció en un tiempo cuatro veces más prolongado de lo que se silenció la respuesta usando lidocaína sola. Además, se aplicaron soluciones de péptidos que se autoensamblan y lidocaína en los intestinos de dos ratas mientras se realizaba cirugía intestinal. La solución reducía la perístasis durante el tiempo de la cirugía sin efectos secundarios aparentes para los animales.

Los siguientes párrafos proporcionan una descripción general de la invención.

1. Un procedimiento para prevenir o limitar la formación de adherencias que comprende administrar en un sitio que lo necesite, en ausencia de o después de que la hemorragia o pérdida de fluido se haya detenido sustancialmente, un material que se autoensambla que forma una barrera frente a, o previene de otra forma, la formación de adherencias.

2. El procedimiento del párrafo 1, en el que el material que se autoensambla comprende péptidos que tienen una secuencia de restos de aminoácidos de acuerdo con una o más de las fórmulas I-IV:



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

3. El procedimiento del párrafo 2, en el que los péptidos que se autoensamblan comprenden una secuencia de restos de aminoácidos de acuerdo con la fórmula III o fórmula IV.

4. El procedimiento del párrafo 3, en el que Xaa representa alanina; Xaa⁺ representa arginina o lisina; y Xaa⁻ representa ácido aspártico o ácido glutámico.

5. El procedimiento del párrafo 2, en el que los restos de aminoácidos incluyen restos de aminoácidos que se encuentran de forma natural.

6. El procedimiento del párrafo 2, en el que los restos de aminoácidos son restos de aminoácidos que se encuentran de forma natural.

7. El procedimiento del párrafo 1, en el que los materiales que se autoensamblan se seleccionan del grupo que consiste en peptidomiméticos, nucleotidomiméticos, copolímeros de di y tribloques, N-alquilacrilamidas y dendrímeros.

8. El procedimiento del párrafo 7, en el que el material que se autoensambla es un peptidomimético.

9. El procedimiento del párrafo 8, en el que el peptidomimético se selecciona del grupo que consiste en α-péptidos, β-péptidos, γ-péptidos, δ-péptidos y oligómeros que tienen cadenas principales que pueden adoptar conformaciones helicoidales o de lámina.

10. El procedimiento del párrafo 4, en el que los oligómeros que tienen cadenas principales que puede adoptar conformaciones helicoidales o de lámina se seleccionan del grupo que consiste en compuestos que tienen cadenas principales que usan segmentos de biperidina, compuestos que tienen cadenas principales que usan interacciones

solfofóbicas, compuestos que tienen cadenas principales que usan interacciones de cadenas laterales, compuestos que tienen cadenas principales que usan interacciones de enlaces de hidrógeno y compuestos que tienen cadenas principales que usan coordinación con metales.

11. El procedimiento del párrafo 7, en el que el material que se autoensambla es un nucleotidomimético.
- 5 12. El procedimiento del párrafo 11, en el que el nucleotidomimético se selecciona del grupo que consiste en oligonucleótidos isómeros, hidratos de carbono modificados, oligonucleótidos con enlaces de nucleótidos modificados y nucleótidos con nucleobases alternativas.
- 10 13. Un procedimiento de formación de una barrera para los fluidos, células, tejido, biomoléculas o gas en movimiento, que comprende administrar en un sitio que lo necesite, un material que se autoensambla, en el que el material que se autoensambla se selecciona del grupo que consiste en peptidomiméticos, nucleotidomiméticos, copolímeros de di y tribloques, N-alquilacrilamidas y dendrímeros.
- 15 14. El procedimiento del párrafo 13, en el que el material que se autoensambla es un peptidomimético.
- 15 15. El procedimiento del párrafo 14, en el que el peptidomimético se selecciona del grupo que consiste en α -péptidos, β -péptidos, γ -péptidos, δ -péptidos y oligómeros que tienen cadenas principales que pueden adoptar conformaciones helicoidales o de lámina.
- 20 16. El procedimiento del párrafo 13, en el que los oligómeros que tienen cadenas principales que pueden adoptar conformaciones helicoidales o de lámina se seleccionan del grupo que consiste en compuestos que tienen cadenas principales que usan segmentos de biperidina, compuestos que tienen cadenas principales que usan interacciones solfofóbicas, compuestos que tienen cadenas principales que usan interacciones de cadenas laterales, compuestos que tienen cadenas principales que usan interacciones de enlaces de hidrógeno y compuestos que tienen cadenas principales que usan coordinación con metales.
- 25 17. El procedimiento del párrafo 13, en el que el material que se autoensambla es un nucleotidomimético.
- 25 18. El procedimiento del párrafo 17, en el que el nucleotidomimético se selecciona del grupo que consiste en oligonucleótidos isómeros, hidratos de carbono modificados, oligonucleótidos con enlaces de nucleótidos modificados y nucleótidos con nucleobases alternativas.
- 30 19. Un procedimiento para la regeneración o reparación de tejido o células que forman tejido, que comprende administrar al tejido o células materiales que se autoensamblan, en el que los materiales que se autoensamblan se selecciona del grupo que consiste en peptidomiméticos, nucleotidomiméticos, copolímeros de di y tribloques, N-alquilacrilamidas y dendrímeros, solos o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable
- 30 20. El procedimiento del párrafo 19, en el que el material que se autoensambla es un peptidomimético.
- 35 21. El procedimiento del párrafo 20, en el que el peptidomimético se selecciona del grupo que consiste en α -péptidos, β -péptidos, γ -péptidos, δ -péptidos y oligómeros que tienen cadenas principales que pueden adoptar conformaciones helicoidales o de lámina.
- 35 22. El procedimiento del párrafo 19, en el que los oligómeros que tienen cadenas principales que puede adoptar conformaciones helicoidales o de lámina se seleccionan del grupo que consiste en compuestos que tienen cadenas principales que usan segmentos de biperidina, compuestos que tienen cadenas principales que usan interacciones solfofóbicas, compuestos que tienen cadenas principales que usan interacciones de cadenas laterales, compuestos que tienen cadenas principales que usan interacciones de enlaces de hidrógeno y compuestos que tienen cadenas principales que usan coordinación con metales.
- 40 23. El procedimiento del párrafo 19, en el que el material que se autoensambla es un nucleotidomimético.
- 45 24. El procedimiento del párrafo 23, en el que el nucleotidomimético se selecciona del grupo que consiste en oligonucleótidos isómeros, hidratos de carbono modificados, oligonucleótidos con enlaces de nucleótidos modificados y nucleótidos con nucleobases alternativas.
- 45 25. El procedimiento de los párrafos 1, 13 o 19, que además comprende proporcionar uno o más agentes terapéuticos, profilácticos, de diagnóstico o células.
- 50 26. El procedimiento de los párrafos 1, 13 o 19, que además comprende proporcionar con los materiales que se autoensamblan un vehículo farmacéuticamente aceptable o matriz o material de soporte para la administración sobre o dentro del cuerpo.
- 50 27. El procedimiento del párrafo 26, en el que los materiales se administran en forma de un polvo seco, oblea, disco, comprimido, cápsula, líquido, gel, crema, espuma, pomada, emulsión, suspensión, solución, como un recubrimiento en un dispositivo médico o implante, o incorporado en micropartículas, matrices poliméricas, hidrogeles, tejido, suturas o esponjas.

28. El procedimiento del párrafo 19, que comprende la aplicación en un defecto, herida o infarto cardiovascular o neurológico para permitir o promover la reparación del defecto, herida o infarto.

29. El procedimiento del párrafo 19, que comprende la aplicación en una región de hueso con un defecto o herida para permitir o promover la reparación del defecto o herida.

5 30. El procedimiento del párrafo 19, que comprende la aplicación en órganos viscerales con un defecto o herida para permitir o promover la reparación del defecto o herida.

REIVINDICACIONES

1.- Una composición que comprende péptidos que se autoensamblan que tienen una longitud en el intervalo de 6 a 200 restos de aminoácidos y que comprende una secuencia de restos de aminoácidos de acuerdo con una o más de las fórmulas I-IV:

5 $((Xaa^{neu}-Xaa^+)_x(Xaa^{neu}-Xaa^-)_y)_n$ (I)

$((Xaa^{neu}-Xaa^-)_x(Xaa^{neu}-Xaa^+)_y)_n$ (II)

$((Xaa^+-Xaa^{neu})_x(Xaa^--Xaa^{neu})_y)_n$ (III)

$((Xaa^--Xaa^{neu})_x(Xaa^+-Xaa^{neu})_y)_n$ (IV)

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

en la que los péptidos que se autoensamblan pueden formar una estructura de barrera autoensamblada que inhibe o previene el paso de fluido corporal o sustancias corporales a través de la estructura,

15 en la que los péptidos que se autoensamblan comprenden además una secuencia de aminoácidos que interacciona con la matriz extracelular, en la que la secuencia de aminoácidos ancla los péptidos que se autoensamblan a la matriz extracelular,

para su uso en un procedimiento para prevenir adherencias después de cirugía o herida en un sitio que lo necesite.

20 2.- La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el fluido corporal o sustancia corporal es sangre, exudado seroso, pus, jugo gástrico, orina, bilis, jugo pancreático o líquido cefalorraquídeo.

3.- La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable para la administración sobre o dentro del cuerpo.

25 4.- La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que la composición comprende un polvo seco, una suspensión, una pulverización, una pintura, un recubrimiento, un líquido, un gel, una crema, una espuma, una pomada, una emulsión, los péptidos incorporados en micropartículas, una matriz polimérica o un hidrogel.

5.- La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3, en la que la composición que comprende los péptidos que se autoensamblan contiene una concentración de iones menor de 5 mM.

6.- La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5, en la que los péptidos que se autoensamblan comprenden la secuencia de aminoácidos RADARADARADARADA [SEQ ID NO: 1].

30 7.- La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6, en la que la concentración de péptidos que se autoensamblan en solución es entre 1% en peso/volumen y 3% en peso/volumen, inclusive.

8.- La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7, ensamblada en un kit con instrucciones de uso y, opcionalmente, medios para la administración.

35 9.- La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en una jeringa o recipiente que comprende un primer compartimento que contiene los péptidos que se autoensamblan y, opcionalmente un segundo compartimento que contiene iones monovalentes con los que se mezclan los péptidos que se autoensamblan en el momento de la administración.

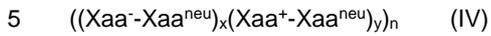
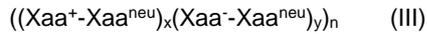
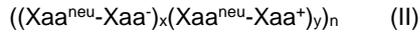
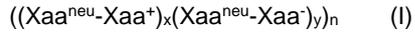
40 10.- La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3, que además comprende un vasoconstrictor, un agente colorante, un agente anestésico, una célula biológica, un agente antimicrobiano, colágeno, un agente antiinflamatorio, un factor de crecimiento o un nutriente.

45 11.- La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 8 o 10, en la que la composición se administra a un vaso sanguíneo, tejido, pulmón, duramadre, intestinos, estómago, sistema biliar, sistema urinario, esófago, cerebro, médula espinal, tracto gastrointestinal, hígado, músculo, arteria, vena, sistema nervioso, ojo, faringe, sistema respiratorio, sistema cardiovascular, sistema digestivo, sistema reproductor, sistema musculoesquelético, sistema tegumentario o sitio de anastomosis.

12.- La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7 o 10, en la que la estructura de barrera autoensamblada proporciona un entorno ópticamente transparente para un campo quirúrgico.

13.- Uso de una composición que comprende péptidos que se autoensamblan que tienen una longitud en el intervalo de 6 a 200 restos de aminoácidos y que comprende una secuencia de restos de aminoácidos de acuerdo con una o

más de las fórmulas I-IV:



en las que Xaa^{neu} representa un resto de aminoácido que tiene una carga neutra; Xaa^+ representa un resto de aminoácido que tiene una carga positiva; Xaa^- representa un resto de aminoácido que tiene una carga negativa; x e y son números enteros que tienen un valor de 1, 2, 3, o 4, independientemente; y n es un número entero que tiene un valor de 1-5,

10 en el que los péptidos que se autoensamblan pueden formar una estructura de barrera autoensamblada que inhibe o previene el paso de fluido corporal o sustancias corporales a través de la estructura,

en el que los péptidos que se autoensamblan comprenden además una secuencia de aminoácidos que interacciona con la matriz extracelular, en la que la secuencia de aminoácidos ancla los péptidos que se autoensamblan a la matriz extracelular,

15 para la fabricación de un medicamento para su uso en un procedimiento para prevenir adherencias después de cirugía o herida en un sitio que lo necesite.