

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 764 252**

51 Int. Cl.:

C08G 18/09 (2006.01)

C08G 18/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.07.2010 PCT/EP2010/060373**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **20.01.2011 WO11007012**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2010 E 10737836 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2019 EP 2454302**

54 Título: **Procedimiento de preparación de poliisocianopéptidos funcionalizados con oligo(alquilenglicol) de alto peso molecular**

30 Prioridad:

16.07.2009 EP 09165705

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

02.06.2020

73 Titular/es:

**STICHTING KATHOLIEKE UNIVERSITEIT MEER
IN HET BIJZONDER RADBOUD UNIVERSITEIT
NIJMEGEN (100.0%)
Comeniuslaan 4
6525 HP Nijmegen, NL**

72 Inventor/es:

**ROWAN, ALAN EDWARD;
NOLTE, ROELAND JOHANNES MARIA;
CORNELISSEN, JEROEN JOHANNES
LAMBERTUS MARIA;
KITTO, HEATHER JOY;
SCHWARTZ, ERIK y
KOEPF, MATTHIEU**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 764 252 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).

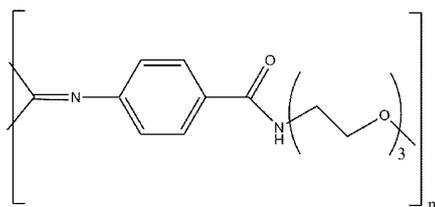
DESCRIPCIÓN

Procedimiento de preparación de poliisocianopéptidos funcionalizados con oligo(alquilenglicol) de alto peso molecular

5 La presente divulgación se refiere a un procedimiento de preparación de poliisocianopéptidos funcionalizados con oligo(alquilenglicol). La presente divulgación se refiere además a poli(isocianopéptidos) funcionalizados con oligo(alquilenglicol). La presente divulgación también se refiere a hidrogeles o recubrimientos que comprenden los poli(isocianopéptidos) funcionalizados con oligo(alquilenglicol) como se divulga en el presente documento. La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

15 La preparación de policarboxifenilisocianuros funcionalizados con etilenglicol mediante formación unida a péptidos ha sido descrita por Hase, Y.; Mitsutsuji, Y.; Ishikawa, M.; Maeda, K.; Okoshi, K.; Yashima, E. Chem.-Asian J. 2007, 2, 755-763. Esta publicación divulga la inclusión posterior de la función poli(carboxifenilisocianuro) soluble en agua de acuerdo con la Fórmula 1 en dimetil sulfóxido mediante una estrategia clásica de acoplamiento de péptidos. En este caso, los materiales utilizados fueron polímeros preformados ($M_n = 3,3 \times 10^4$ g/mol, $M_w/M_n = 3,2$) que se modificaron después de la finalización de la polimerización con diferentes cadenas laterales, incluidos sustituyentes de etilenglicol cíclicos y lineales.

20 Este procedimiento no conduce a un injerto cuantitativo de los sustituyentes. Debieron realizarse varios tratamientos con el derivado de amino(etilenglicol) deseado en los materiales de partida para conducir a una densidad de injerto aceptable de las cadenas de etilenglicol en la cadena principal del polímero.

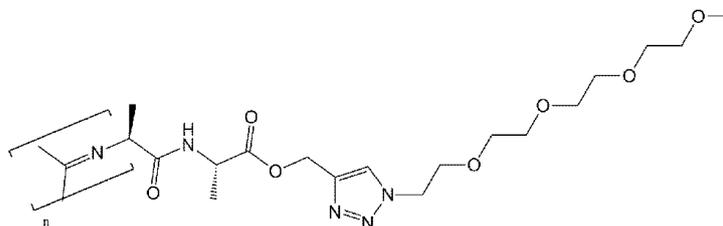


Fórmula 1

25 Otra divulgación de un poli(isocianopéptido) funcionalizado con oligo(etilenglicol) ha sido publicada por Kitto, H. J.; et al., J Mater Chem 2008, 18, 5615-5624.

30 El poli(isocianodipéptido) funcionalizado con oligo(etilenglicol) de acuerdo con la Fórmula 2, se preparó a través de una modificación posterior o injerto de cadenas de etilenglicol haciendo uso de una cicloadición dipolar de Huisgen catalizada por cobre (I) [2 + 3] entre acetilenos y azidas. Los poli(isocianodipéptidos) funcionalizados con acetileno se prepararon primero y se modificaron adicionalmente con 13-azido-2,5,8,11-tetraoxatridecano, lo que dio como resultado materiales hidrofílicos hasta totalmente solubles en agua, dependiendo de la proporción de cadenas de etilenglicol injertadas en la cadena principal del polímero.

Fórmula 2



40 Sin embargo, este procedimiento tiene varios inconvenientes con respecto a la preparación de materiales biocompatibles de alto peso molecular. Debido a la baja solubilidad inherente del material de partida (polímeros totalmente sustituidos con acetileno) y su alta tendencia a agregarse, polímeros con un grado limitado de polimerización ($[DP] < 1200$) y un tipo específico de quiralidad (enantiómeros LL o DD de los fragmentos de dialanina) podrían ser procesados y funcionalizados de manera eficiente.

45 Como cualquier otro tipo de estrategia de modificación posterior, este procedimiento lleva inherentemente a polímeros más propensos a defectos estructurales. Por ejemplo, los defectos estructurales pueden ser grupos acetileno sin reaccionar dentro de los materiales preparados. Esto puede conducir a reacciones secundarias incontrolables durante el procesamiento posterior del material lo que es indeseable.

50 Una desventaja adicional es que la eliminación completa de sales de cobre, requerida para la estrategia clic descrita, es difícil debido a la capacidad de complejación de los oligo(etilenglicoles) hacia especies catiónicas. La eliminación

de sales de cobre es un requisito previo para cualquier aplicación biológica del material, especialmente teniendo en cuenta la cantidad estequiométrica de cobre utilizada para promover una reacción de injerto eficiente en el procedimiento descrito. Por lo tanto, este procedimiento es menos adecuado si los poli(isocianopéptidos) se van a utilizar en una aplicación biológica.

Además, la cicloadición dipolar de alquinos y azidas conduce inherentemente a la formación de fragmentos de triazol. En el caso de la estrategia descrita de modificación posterior del polímero, esta da como resultado la introducción de una alta densidad de unidades de triazol en la cadena principal del polímero que dificulta aún más la eliminación completa de sales de cobre de los materiales. De hecho, se sabe que los politriazoles coordinan los cationes de metales de transición y se usan específicamente como ligandos para el cobre.

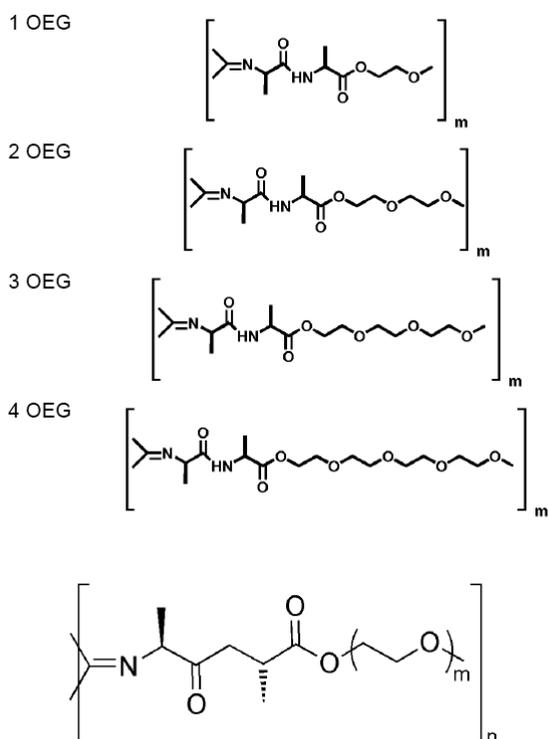
Además, los triazoles son propensos a la ionización en condiciones fisiológicas, lo que puede conducir a especies ionizadas no deseadas, tales como los polielectrolitos.

La presente invención proporciona nuevos procedimientos de preparación del o los isocianopéptidos de polioligo (alquilenglicol), isocianopéptidos de polioligo(alquilenglicol) obtenibles por esos procedimientos, hidrogeles que comprenden estos isocianopéptidos de polioligo(alquilenglicol), el uso de estos hidrogeles para modificación de tejidos o regeneración de neuronas y recubrimientos que comprenden el o los poliisocianopéptidos funcionalizados con oligoalqueno como se define en las reivindicaciones adjuntas.

La polimerización de monómeros de isocianuro de oligoetileno no ha tenido éxito hasta ahora debido a la complejación de los catalizadores de níquel con los monómeros y la posterior inactivación catalítica. Los procedimientos descritos en este documento permiten la preparación de polímeros completamente sustituidos. Por ejemplo, se muestra en el presente documento que el uso de dipeptidosisocianuros funcionalizados con unidades de oligoetileno en disolventes orgánicos (no agua) y catalizadores de níquel (II) dio como resultado polímeros bien definidos con altos pesos moleculares.

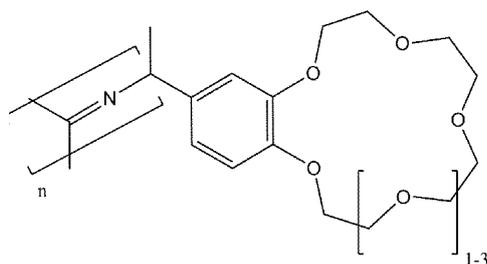
Sorprendentemente, se ha encontrado que el procedimiento de preparación de los poli(isocianopéptidos) funcionalizados con oligo(alquilenglicol) como se divulga en el presente documento da como resultado poli(isocianopéptidos) funcionalizados con oligo(alquilenglicol) con propiedades ventajosas.

Las unidades ventajosas de oligoetilenglicol se representan a continuación. En general, el término oligo se refiere a un número <10.



La fórmula anterior representa los poliisocianopéptidos resultantes añadidos a oligoetilenglicol (OEG) en los que el número de unidades de etilenglicol puede ser 1-10. Los polímeros se pueden preparar con brazos laterales de OEG de n = 1-100.000. Los polímeros resultantes del procedimiento como se divulga en el presente documento exhiben una estructura bien definida, tal como una estructura perfecta helicoidal de lámina beta recubierta con

- oligo(alquilenglicol), de acuerdo con la Figura 1. Esta estructura comprende un núcleo helicoidal de poli(imina) en la que prácticamente cada nitrógeno está sustituido con un colgante peptídico. Debido a la pseudo simetría helicoidal 4_1 de la cadena principal de poli(imina), todos los colgantes injertados en el enésimo nitrógeno están involucrados en un empaquetamiento intramolecular tipo lámina beta con el correspondiente colgante injertado en la posición $n + 4$.
- 5 Los segmentos peptídicos están además decorados con sustituyentes oligo(alquilenglicol) que forman la cubierta externa de la estructura. La solubilidad en agua de los materiales resultantes está directamente relacionada con la elección de sustituyentes oligo(etilenglicol) adecuados. Finalmente, el sentido helicoidal de la cadena del polímero está dictado por la quiralidad de los aminoácidos conectados a los grupos imina.
- 10 El procedimiento como se describe en el presente documento conduce a defectos estructurales mínimos o nulos en los polímeros obtenidos. El término mínimo debe interpretarse como que más del 96 % de las cadenas laterales correctas están unidas correctamente a la cadena principal del polímero, tal como el 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o incluso 100 %.
- 15 En otras palabras, debido a la polimerización directa de los monómeros funcionalizados, la aparición de defectos estructurales con respecto a la densidad del injerto de las cadenas laterales es mínima en los materiales resultantes y casi todas, si no todas las unidades monoméricas tienen un sustituyente definido, que puede ser similar a los demás (homopolímeros) o estadísticamente relacionado con la mezcla inicial de monómeros (copolímeros).
- 20 El procedimiento tal como se describe en el presente documento se refiere a la preparación controlada de polímeros helicoidales homogéneos, estables, solubles en agua de alto grado de polimerización $[DP] > 1500$ y alta longitud de persistencia.
- 25 Los poli(isocianopéptidos) funcionalizados con oligo(alquilenglicol) como se describe en el presente documento tienen por lo tanto propiedades termo reversibles únicas. Las principales características de los polímeros como se describe en el presente documento son la combinación de las características de poli(isocianopéptidos) tales como actividad óptica, arquitectura macromolecular altamente definida, alta persistencia y robustez, con la versatilidad de su autoensamblaje inducido térmicamente en agua, la capacidad para preparar copolímeros funcionales y la naturaleza totalmente biocompatible de los polímeros.
- 30 El procedimiento como se describe en el presente documento también va en contra de un prejuicio en la técnica. Una polimerización eficiente de monómeros que contienen oligo(etilenglicol) no era esperada. Roks et al., (Macromolecules 1992, 25, 5398-5407) divulga la preparación de poli(fenilisocianuros) injertados con etilenglicol cíclico, de acuerdo con la Fórmula 3. Los monómeros sustituidos con etilenglicol cíclico, que contienen de cuatro a
- 35 siete unidades de etilenglicol fueron difíciles de polimerizar de manera eficiente. La polimerización requirió el tratamiento de monómeros puros mediante sales de níquel a 60 °C durante 3 días, lo que condujo a materiales no cuantitativos que presentaban un bajo grado de polimerización ($[DP] < 65$). Estos compuestos poliméricos mostraron una afinidad mejorada hacia los cationes metálicos. La coordinación entre éteres corona colgantes y el catalizador dentro de los oligómeros en crecimiento puede explicar la baja conversión de monómeros y el grado limitado de
- 40 polimerización de los materiales resultantes.



Fórmula 3

- 45 Por lo tanto, era de esperar que la presencia de numerosas cadenas laterales lineales de oligo(etilenglicol) en el proceso como el descrito en el presente documento tendría un efecto similar, evitando la polimerización eficiente de isocianopéptidos que contienen unidades de oligo(etilenglicol).
- 50 Sin embargo, sorprendentemente, se ha encontrado que se puede lograr una polimerización eficiente de isocianopéptidos sustituidos con (alquilenglicol) en el proceso como se describe en el presente documento.
- 55 En el procedimiento divulgado en el presente documento, los monómeros se derivan de fragmentos de oligo (alquilenglicol) adecuados. Se usa una estrategia de acoplamiento peptídico de múltiples etapas para introducir sucesivamente los aminoácidos deseados. Después de la introducción de la secuencia peptídica deseada, los compuestos se formilan y posteriormente se deshidratan para producir el isocianopéptido de oligo(alquilenglicol) deseado que luego se polimeriza de acuerdo con el procedimiento descrito en el presente documento.

Los monómeros se componen preferiblemente de un motivo dipetídeo, tripetídeo, tetrapetídeo o más sustituido en el terminal C con las cadenas deseadas de oligo(alquilenglicol). Las cadenas pueden estar basadas en oligo(óxido de alquileo) lineal, ramificado, dendronizado. Preferiblemente, la cadena es lineal y está compuesta de etilenglicol. El segmento peptídico puede ser de diferentes composiciones determinadas por la secuencia de aminoácidos naturales o no naturales y consumidos o una mezcla de los mismos.

Preferiblemente, los isocianopéptidos se funcionalizan con al menos 3 unidades de etilenglicol para conducir a materiales solubles en agua después de la polimerización. De acuerdo con el número de unidades de etilenglicol y los sustituyentes terminales de las cadenas laterales (alquilenglicol), las propiedades físicas generales de los materiales resultantes pueden variar sistemáticamente.

En un ejemplo representativo, se añadió una solución milimolar de monómero en un disolvente orgánico no polar o una mezcla de disolventes a un catalizador de níquel (II) disuelto en un disolvente polar en una relación de 1:50 hasta 1:100.000 de catalizador a monómero. En un ambiente sellado, la mezcla se agitó vigorosamente durante 2 a 24 h. Una vez completada, la mezcla de reacción se evaporó y el producto sin procesar se disolvió en disolventes orgánicos y precipitó en éter dietílico o disolventes orgánicos no compatibles similares para producir el producto deseado.

Se pueden seleccionar catalizadores adecuados del grupo que consiste en cloruro de níquel; perclorato de níquel, isocianuro de tetra-terc-butil-níquel y otros.

Ejemplos de alquilenglicoles adecuados son etilenglicol, propilenglicol, butilenglicol o pentilenglicol. Preferiblemente el alquilenglicol es etilenglicol. Estas cadenas se terminan preferiblemente con solo un grupo terminal hidroxilo libre o amina libre para permitir el acoplamiento directo a un aminoácido deseado con una estrategia de acoplamiento apropiada. En el presente documento se presentan ejemplos de protocolos de acoplamiento para derivados de alcoholes.

Ejemplos de aminoácidos que pueden usarse ventajosamente en el procedimiento como se divulga en el presente documento son Alanina, Arginina, Asparaginas, Ácido aspártico, Cisteína, Ácido glutámico, Glutamina, Glicina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Prolina, Serina, Treonina, Triptófano, Tirosina, Valina protegidos en el terminal N.

Después de acoplar el primer residuo de aminoácido a la cadena (alquilenglicol), se puede usar una estrategia de acoplamiento peptídico secuencial para introducir el número deseado de sustituyentes de aminoácidos con la secuencia deseada. En la sección de ejemplos se presentan ejemplos de funcionalización con oligo(etilenglicol) con secuencia peptídica de dialanina.

Algunos ejemplos de reactivos de acoplamiento que pueden usarse para el acoplamiento peptídico son derivados de carbodiimida (tales como dicitclohexil carbodiimida, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida), carbonildiimidazol, derivados de fosfonio (tales como hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-trisfosfonio, hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidin-fosfonio), derivados de uronio (tales como hexafluorofosfato de 2-(1H-7-Azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil uronio, hexafluorofosfato de O-benzotriazol-N,N,N',N'-tetrametil-uronio).

Un ejemplo de una estrategia de acoplamiento de aminoácidos también incluye la activación del grupo carboxílico por formación directa de anhídrido y haluros de acilo. Las estrategias generales y los reactivos han sido discutidos recientemente por E. Valeur y M. Bradley Chem. Soc. Rev. 2009, 38. 606-631.]

Después de la introducción de la secuencia peptídica deseada, el terminal N del segmento peptídico se formula con un procedimiento de formilación adecuado. Esta formilación puede incluir el tratamiento del producto con sales de formilo, ácido fórmico u otros agentes de formilación. En la siguiente sección se proporcionan ejemplos del uso de formiato de sodio.

Algunos ejemplos de estrategias de formilación hacen uso de sales de formiato (tales como formiato de sodio o potasio), formiatos de alquilo (tales como formiato de metilo, etilo o propilo), ácido fórmico, cloral y derivados. El isocianuro se forma luego tratando la formamida con un agente de deshidratación apropiado. En la siguiente sección se presenta un ejemplo de estrategia de deshidratación que utiliza difosgeno. Varios ejemplos de agentes de deshidratación que también se pueden usar son fosgeno y derivados (difosgeno, trifosgeno), carbodiimidias, cloruro de tosilo, oxacloruro de fósforo, trifenilfosfina/tetraclorocarbono, [MB Smith y J. March "March's Advanced Organic Chemistry" 5ª edición, Wiley & Son eds., 2001, Nueva York, EE. UU., páginas 1350-1351 y las referencias citadas allí].

Los isocianopéptidos que contienen oligo(alquilenglicol) se polimerizan posteriormente.

Preferiblemente, la polimerización se lleva a cabo mediante el uso de una sal de níquel (II). Ejemplos de sales de Ni (II) que pueden usarse ventajosamente para la polimerización de isocianopéptidos de oligo(alquilenglicol) son haluros de níquel (II), perclorato de níquel (II) o perclorato de tetraquis(terc-butilisocianuro) de níquel (II). Se pueden

5 usar otros complejos y sales de níquel siempre que sean solubles en el medio de polimerización o se disuelvan inicialmente en un disolvente adecuado que sea miscible en el medio de polimerización. Las referencias generales que describen algunos sistemas catalíticos que pueden usarse para polimerizar los isocianopéptidos de oligo (alquilenglicol) se pueden encontrar en Sugimoto M., Ito Y.; Adv Polym Sci 2004, 171, 77-136; Nolte R. J. M.; Chem Soc. Rev. 1994, 23 (1), 11-19.]

10 Los isocianopéptidos de polioliigo(etilenglicol) se preparan preferiblemente en presencia de un disolvente apolar. Los disolventes apolares adecuados pueden seleccionarse del grupo que consiste en disolventes de hidrocarburos saturados y disolventes de hidrocarburos aromáticos o mezclas de los mismos. Ejemplos de disolventes apolares son pentano, hexano, heptano, 2-metilbutano, 2-metilhexano, ciclohexano y tolueno, bencenoxilenos o mezclas de los mismos. Preferiblemente, se usa tolueno en el proceso como se describe en el presente documento.

15 Preferiblemente, el tolueno se elige para el proceso de polimerización de isocianopéptidos de oligo(etilenglicol) en el que la parte de oligo(etilenglicol) contiene al menos tres unidades de etilenglicol y el segmento peptídico consiste en un motivo de dialanina, indiferentemente de la quiralidad de ambas alaninas.

20 Preferiblemente, la concentración de monómero se elige por encima de 30 mmol/l y la relación catalizador/monómero se elige entre 1/100 y 1/10.000. La disminución de la cantidad de níquel (II) (relación de catalizador/monómero por debajo de 1/1000), permite por lo tanto, la preparación de materiales que exhiben un grado sustancial de polimerización [DP media > 1200], lo que se desea para la aplicación posterior de los polímeros como macrohidrogeles. En la siguiente sección se presentan ejemplos de condiciones de polimerización genéricas.

25 Se pueden funcionalizar varios isocianopéptidos con diversas cadenas laterales de oligo(alquilenglicol) lineales o no lineales que tienen una longitud de cadena variable. El alquilenglicol puede seleccionarse del grupo que consiste en etilenglicol, propilenglicol, butilenglicol o pentilenglicol. Preferiblemente, los isocianopéptidos se funcionalizan con al menos 3 cadenas laterales de etilenglicol. Los péptidos pueden comprender L-aminoácidos, D-aminoácidos o D, L-aminoácidos. Los poliisocianopéptidos obtenidos funcionalizados con oligoalquilenos son una nueva clase de materiales con propiedades de respuesta térmica únicas.

30 El procedimiento de polimerización como se describe en el presente documento puede aplicarse a la preparación de copolímeros con condiciones restrictivas con respecto a la compatibilidad de los monómeros, en términos de reactividad y posible interferencia en el proceso de polimerización. Preferiblemente, los monómeros de estructura cerrada se copolimerizan. Preferiblemente, los monómeros de secuencia peptídica y quiralidad idénticas se copolimerizan. Se presentan ejemplos de copolimerización en la siguiente sección.

35 La copolimerización de monómeros funcionalizados adecuadamente puede usarse ventajosamente para introducir grupos químicos específicos que pueden usarse para modificar adicionalmente los polímeros preparados de acuerdo con el procedimiento descrito. En la siguiente sección se presentan ejemplos relacionados con la introducción de la función acetileno o azida en el polímero.

40 La copolimerización de monómeros que portan cadenas laterales distintas de oligo(etilenglicol) pueden usarse ventajosamente para controlar las propiedades físicas generales de los materiales resultantes y más específicamente el comportamiento de respuesta térmica de los polímeros cuando se disuelven en agua. En la siguiente sección se presentan ejemplos sobre la copolimerización de isocianopéptidos de tri y tetra-(etilenglicol) y el efecto sobre las propiedades de respuesta térmica de los materiales resultantes.

45 La presente divulgación proporciona además poliisocianopéptidos funcionalizados con oligo(alquilenglicol) que se pueden obtener mediante el proceso como se divulga en el presente documento.

50 Los poliisocianopéptidos obtenidos sustituidos con oligo(etilenglicol) representan una nueva clase de materiales con propiedades prometedoras tanto en términos de biocompatibilidad como de características estructurales y son buenos candidatos para funcionalizarse adicionalmente con numerosos grupos y especialmente moléculas biológicamente relevantes tales como cofactores y vitaminas, sacáridos, oligosacáridos, aminoácidos, ácidos nucleicos, ácidos oligonucleicos, oligopéptidos, proteínas (proteínas, glicoproteínas, anticuerpos...) y moléculas biológicamente activas naturales o no naturales.

55 Estos grupos funcionales pueden introducirse mediante (co)polimerización directa de monómeros que se han sustituido inicialmente con las especies objetivo o, ventajosamente, utilizando una estrategia de modificación posterior. En el último caso, se pueden introducir primero funciones químicas específicas tales como acetilenos o azidas en los monómeros que luego se (co)polimerizan con el comonómero deseado. Esto permite la modificación general posterior de polímeros preformados usando, por ejemplo, cicloadiciones dipolares, con grupos adecuadamente sustituidos que pueden ser la (bio)molécula de interés o cualquier grupo que pueda reaccionar adicionalmente en la (bio)molécula de interés.

60 Ejemplos de grupos que pueden usarse ventajosamente son maleimidias funcionalizadas con acetileno, ésteres NHS funcionalizados con acetileno, ácidos carboxílicos funcionalizados con acetileno, aminas funcionalizadas con

acetileno, tioles y tioésteres funcionalizados con acetileno, o análogos funcionalizados con azido de los grupos mencionados anteriormente.

5 La estrategia de modificación posterior permite el uso de condiciones de injerto muy suaves de las (bio)moléculas a los polímeros, permitiendo que los sustituyentes oligo(alquilenglicoles) que forman parte de las cadenas laterales se elijan adecuadamente para permitir la solubilización del polímero en condiciones acuosas.

10 La densidad de (bio)moléculas o especies objetivo que se injertan en las cadenas poliméricas se puede variar sistemáticamente de acuerdo con la proporción inicial del o los monómeros que se han (co)polimerizado. Incluyendo tanto monómeros completamente funcionalizados como monómeros que presentan una función que puede reaccionar aún más para introducir la especie objetivo.

15 Los ejemplos específicos de biomoléculas que pueden injertarse en los polímeros de acuerdo con las estrategias descritas anteriormente comprenden derivados de biotina, avidina y estreptavidina; factores de adhesión celular (secuencia RGD), factores de crecimiento celular; enzimas (lipasas, oxidasas); anticuerpos monoclonales y policlonales o factores de coagulación.

20 La presente divulgación proporciona además hidrogeles que comprenden poliisocianopéptidos funcionalizados con oligoalquileño.

Puede referirse a hidrogeles homogéneos que comprenden los poliisocianopéptidos funcionalizados con oligoalquileño y también a hidrogeles heterogéneos que comprenden mezclas de poliisocianopéptidos funcionalizados con oligoalquileño con diferentes números de unidades de etilenglicol.

25 Los poliisocianopéptidos funcionalizados con oligoalquileño obtenidos son capaces de formar hidrogeles termorreversibles fuertes, a una baja concentración de polímero (0,1 % p/p) con temperatura de gelificación ajustable. Para gelificar físicamente el agua, los poli[isocianopéptidos de oligo(alquilenglicol)] como se describe en el presente documento tienen preferiblemente un grado de polimerización $[DP] > 1500$. Los hidrogeles obtenidos a partir de los poli[isocianopéptidos de oligo(alquilenglicol)] como se describe en el presente documento difieren de la mayoría de los hidrogeles basados en polímeros reportados previamente en la naturaleza altamente estructurada de la red formada tras la gelificación. La red consiste en paquetes retorcidos de cadenas de polímero agregadas lateralmente. Esta disposición es similar a la estructura de las redes fibrilares que se forman tras la gelificación de hidrogeles de bajo peso molecular. Se supone que este fenómeno está relacionado con la alta longitud de persistencia de los poli (isocianopéptidos) que favorecen un modo original de asociación. La asociación se desencadena por la modulación inducida por la temperatura de la hidrofilia de las cadenas laterales de oligo(alquilenglicol), que es un fenómeno perfectamente reversible, que da como resultado una agregación/disolución completamente termorreversible de los poli(isocianopéptidos) recubiertos con oligo(alquilenglicol).

40 La descripción clásica de los hidrogeles poliméricos físicos comprende la formación de cadenas de redes de entrelazamiento en soluciones concentradas, la formación de una red de percolación debido a la separación espinodal, la formación de microcristalitos y la formación de redes de micelas o estructuras lamelares que aparentemente difieren del modo de asociación postulad del poli[isocianopéptido de oligo(alquilenglicol)].

45 Los hidrogeles resultantes del poli[isocianopéptido de oligo(alquilenglicol)] resultan de la asociación lateral de fibras de polímeros de aproximadamente 5 nm de diámetro en haces retorcidas más grandes que forman la base de la red de hidrogel polimérico. Esto da como resultado una estructura altamente porosa con un tamaño de poro que puede bajar hasta 100 nm de diámetro de acuerdo con estudios preliminares.

50 La porosidad de los hidrogeles se puede modular de acuerdo con la concentración de polímero.

Debido al comportamiento termosensible de las cadenas laterales de etilenglicol, estos polímeros presentan transiciones claras de LCST. Para un poli[isocianopéptido de oligo(alquilenglicol)] dado esta temperatura puede modificarse variando la fuerza iónica de la solución (efecto salino) o más generalmente mediante la adición de cualquier compuesto capaz de modificar el estado general de solvatación de los polímeros.

55 La LCST de los materiales puede modularse adicionalmente actuando sobre la cadena principal de poli(isocianuro) y, concretamente, sobre su conformación, con el uso de ácidos o cualquier compuesto que pueda conducir a cambios conformacionales de la hélice de la cadena principal.

60 Otra forma de modular la LCST de los polímeros es copolimerizar monómeros que portan diferentes cadenas laterales de oligo(alquilenglicol). Por ejemplo, la polimerización de mezclas de isocianodialanina de tri y tetra(etilenglicol) en diferentes proporciones permitió ajustar la temperatura de gelificación de los copolímeros resultantes entre 22 °C y 60 °C en agua mQ.

65

Se ha encontrado que la longitud de la cadena de polímero influye en la gelificación por lo que se descubrió que las cadenas más largas [DP > 1500] podían gelificar agua incluso a baja concentración de polímero (0,1 % p/v). Las cadenas con menor grado de polimerización tenían una fuerte tendencia a precipitar en lugar de formar geles. Se espera que este sea un efecto general para los polímeros rígidos o semiflexibles cuya hidrofilia se puede variar sin modificar la estructura general de las cadenas (es decir, en estructuras rígidas, la cadena no se colapsa sino que se agrega lateralmente con otras cadenas para formar fibras extendidas).

Se ha observado una influencia adicional de la longitud de los polímeros en relación con las propiedades ópticas de los geles resultantes. Se encontró que los hidrogeles preparados a partir de cadenas con un menor grado de polimerización eran propensos a ser turbios u opacos. El aumento del grado medio de polimerización dio como resultado una disminución de la opacidad de los hidrogeles que condujo eventualmente a materiales ópticamente completamente transparentes.

Otro interés de los poli[isocianopéptidos de oligo(alquilenglicol)] es la posibilidad de preparar análogos funcionalizables (que incorporan, por ejemplo, grupos acetileno o azido en las cadenas laterales) sin modificar su capacidad para formar hidrogeles bien definidos en condiciones apropiadas. Por lo tanto, permite funcionalizar la superficie de las fibras de polímeros que forman los hidrogeles. Esto puede usarse, por ejemplo, para funcionalizar los hidrogeles con moléculas biológicamente relevantes como se discutió anteriormente para las cadenas de polímeros. Tales geles funcionalizables también pueden entrecruzarse químicamente con un entrecruzador apropiado para estabilizar su estructura y evitar la redisolución de los hidrogeles y reducir su erosión.

El proceso de autoensamblaje que da como resultado la gelificación de los polímeros también puede usarse ventajosamente para preparar películas porosas delgadas (espesor inferior a 20 nm), presentando un tamaño de poro que puede ser inferior a 100 nm de acuerdo con la concentración de las soluciones de polímero que se han utilizado para recubrir la superficie. Estos recubrimientos presentan propiedades similares en términos de biocompatibilidad y posible funcionalización que se describen para los poli[isocianopéptido de oligo(alquilenglicol)] progenitores. Como se describió anteriormente, las películas funcionalizadas adecuadamente pueden estabilizarse adicionalmente mediante entrecruzamiento, para dar como resultado películas porosas estables.

La temperatura del gel puede ajustarse hasta cierto punto, con la posibilidad de formar geles estructurados estables a 25 °C, lo que conduce a una nueva matriz biomimética que puede usarse para encapsular enzimas o células y preservar su actividad *in vitro*.

Los hidrogeles también presentan propiedades ópticas interesantes (transparencia perfecta) que son muy útiles en el estudio de la dinámica de enzimas individuales con microscopía de fluorescencia. Para tales estudios, los hidrogeles físicos termo reversibles como se describe en el presente documento son de gran interés ya que permiten una preparación de muestras extremadamente suave y fácil (mezclar soluciones de enzimas en tampón con soluciones de polímeros concentrados a baja temperatura y calentar el sistema a temperatura ambiente) totalmente compatible con el manejo de biomoléculas. Además, la introducción de grupos reactivos en las cadenas laterales de oligoalquilenos no disminuye su capacidad de gelificar agua. Esto podría conducir a hidrogeles teóricamente funcionalizables que pueden encontrar diversas aplicaciones tanto en la inmovilización como en el procesamiento de enzimas y sistemas más avanzados como los hidrogeles termo reversibles inyectables para modificación de tejidos.

La divulgación proporciona además recubrimientos que comprenden el poliisocianopéptido funcionalizados con oligoalquilenos como se describe en el presente documento. Los procedimientos como se describe en este documento pueden usarse además para preparar material ópticamente activo para separación quirral en agua, agente termogelificante biocompatible inyectable para modificación de tejidos (polímeros no funcionalizados o funcionalizados con péptidos para adhesión celular, estimulación, imitación de la matriz extracelular sintética biocompatible/matriz para regeneración de neuronas (fibras alineadas biológicamente activas).

Los hidrogeles proporcionados en el presente documento pueden usarse ventajosamente para el recubrimiento bioactivo de superficies (películas, membranas biodegradables o persistentes, nanoporosas biocompatibles [materiales entrecruzados]), para la estabilización de biomoléculas y células en medios orgánicos y acuosos para catálisis. Estos hidrogeles pueden prepararse por enlace covalente de las biomoléculas o células, por atrapamiento físico de biomoléculas o células.

Los hidrogeles como se describe en el presente documento también pueden usarse como un agente termogelificante inyectable para la ablación tumoral ("asfisia tumoral") o un polímero gelificante biocompatible para la coagulación de la sangre o como una superficie termosensible quirral con hidrofiliencia controlable/propiedades antiincrustantes y antibacterianas para aplicaciones de biosensores.

Los polímeros como se describe en el presente documento parecen tener algunas propiedades interesantes y ventajosas. Debido a la longitud y la rigidez del polímero, los geles estaban compuestos de 99,00 a 99,98 % de agua. Esto significa que solo se necesita muy poco material para generar un gran volumen. Una sola cadena del polímero parecía tener un diámetro de 4 nanómetros y un peso molecular de 2.500.000 Da. El índice de polidispersidad (PDI) fue de 1,6 y la longitud promedio de la cadena varió entre 500 nm y 2 micrómetros. Los

polímeros parecían ser bastante rígidos, con una longitud de persistencia de 70 - 90 nm. También fue posible obtener hélices enrolladas hacia la izquierda y hacia la derecha de acuerdo con la quiralidad del fragmento peptídico (materiales ópticamente activos). También se pudieron producir una red de fibrillas bien definida con un tamaño de poro controlado por la concentración de polímero, incluso a 100 - 250 nm. También fue posible introducir grupos laterales reactivos de manera eficiente en las cadenas. Por lo tanto, los polímeros pueden usarse como un almacén para biomoléculas. Se encontró que las películas depositadas del material eran nanoporosas. Se encontró que el tamaño de la porosidad está controlado por la concentración. Los polímeros contienen puntos de anclaje a los que se puede unir cualquier biomolécula mediante bioconjugación estándar, tal como anticuerpos y péptidos de reconocimiento. Las películas del material como se describe en el presente documento también tienen propiedades antiincrustantes. También puede usarse como un hidrogel que no es tóxico, por ejemplo, como una biotrampa o biosensor. También tienen una temperatura de gelificación ajustable con la posibilidad de formar estructuras estables. Los geles pueden ser termorreversibles a bajas concentraciones de polímero. La temperatura de gelificación se puede ajustar entre 23 y 52 grados Celsius. Los geles y las películas son geles reversibles y, por lo tanto, pueden ser adecuados para inyección *in vitro* y liberación de fármacos. También son ópticamente transparentes y ultraligeros.

Se pueden usar ventajosamente en una película filtrante para la recolección y análisis de nanopartículas.

También se pueden usar como biogeles biocompatibles para administrar medicamentos dentro y fuera del cuerpo. Cuando se funcionalizan, pueden usarse para el recubrimiento bioactivo de superficies. También se pueden usar en recubrimientos antibacterianos si se usan D-aminoácidos o con nanoplasta. Pueden funcionar como un almacén para la regeneración de tejidos, regeneración de nervios o para aplicaciones ortopédicas, o reemplazo de cartilago o hueso. También se puede usar como una matriz biomimética para encapsular enzimas y células y preservar su actividad *in vitro*. Se pueden utilizar en materiales de embalaje con recubrimientos ultrafinos con función antimicrobiana. También como gel sintético para la aplicación en heridas si se utilizan fibras modificadas con fibrinógeno. Si se introducen grupos electroconductores, podrían funcionar como hidrogeles para aplicaciones de celdas de biocombustibles.

Leyendas de las figuras

La Figura 1 muestra una representación esquemática de los poliisocianopéptidos funcionalizados con oligoalquileno helicoidal basados en una unidad de dialano (parte media superior). El plegado de la cadena principal se estabiliza mediante una red de enlace de hidrógeno que se desarrolla dentro de la hélice, entre los límites de amidas apiladas de las cadenas laterales (parte media-abajo). Esta estructura secundaria conduce a cadenas muy rígidas como se visualiza mediante AFM (derecha).

La Figura 2 muestra la preparación de polímeros *poli-1a-d*; a) N-Boc (L) Ala, DMAP, DCC, CH₂Cl₂, 4 h, 0 °C-TA (75-90 %); b) EtOAc/HCl (100 %); c) tBuOH (100 %); d) N-Boc(D)Ala, DIPEA, DCC, CH₂Cl₂, 4 h, 0 °C-TA (75-85 %); e) NaOOCH/HCOOH reflujo, 3 h (85-95 %); f) NMM, difosgeno, CH₂Cl₂, -78 °C (60-75 %); g) Ni(ClO₄)₂/MeOH, tolueno, TA, 4 h, (60-80 %).

Figura 3: Conversión de 1c a *poli-1c* seguido por espectroscopía IR. Soluciones 1c (0,03 mol/l) en tolueno (■), diclorometano (◆) y tetrahidrofurano (▲), tratadas con alícuotas metanólicas de Ni(ClO₄)₂·6H₂O (concentración final 0,3 μmol/ml).

Figura 4: espectros de CD de soluciones de *poli-1a-c* en diclorometano a 25 °C.

Figura 5: espectros de CD de *poli-1c* en diclorometano (línea discontinua) y agua mQ (línea continua) a 25 °C.

Figura 6: Intensidad de luz dispersa de soluciones acuosas de *poli-1b* y *poli-1c* (1 mg/ml) en función de la temperatura. a) soluciones de *poli-1c*, DP de ~700 (■) y ~4400 (□); b) soluciones de *poli-1c*, DP de ~2600 (■) y ~7300 (□).

Figura 7: espectros de CD de soluciones acuosas de *poli-1c* (1 mg/ml) en función de la temperatura. Izquierda: intervalo espectral seleccionado 25 °C (línea negra continua); 85 °C (línea negra discontinua). Derecha: evolución del curso de temperatura de las intensidades de CD a 272 (arriba) y 360 nm (abajo).

Figura 8: Imágenes de AFM de 1 mg/ml de *poli-1b* (DP ~7300) en a) HOPG recubierto con hidrogel o b) mica y c) cuando las muestras se secaron en condiciones ambientales. Barras de escala: 1 μm; escala vertical: a) 8 nm, b) y c) 3 nm.

Figura 9: Detalles de las fibrillas y de su asociación en haces (fibras de gel). Barras de escala de 100 nm, escala vertical de 3 nm. Las flechas blancas indican cadenas de polímeros individuales. Recuadro inferior izquierdo: área seleccionada de a) con mejora de contraste que muestra el entrelazamiento de dos cadenas de *poli-1b* para formar una fibrilla.

Figura 10: Gráfico de alto versus ancho para 172 secciones aleatorias en micrografías de AFM

Parte experimental

Los isocianopéptidos sustituidos con oligo(etilenglicol) se han sintetizado y polimerizado con el uso de sales de Ni (II). Las propiedades de respuesta térmica de estos análogos de poli(etilenglicol) no lineales recién preparados se han investigado en detalle en condiciones acuosas. Como se informó para otros polímeros decorados con oligo(etilenglicol), tanto la longitud de las cadenas laterales como el grado de polimerización (DP) del núcleo del poli(isocianopéptido) tuvieron una gran influencia en la temperatura de transición de los materiales. De acuerdo con el

trabajo previo, tanto el acortamiento de la longitud de los sustituyentes de oligo(etilenglicol) como el aumento del DP del poli(isocianopéptido) dieron como resultado la disminución de la temperatura de separación de sus soluciones acuosas. Sorprendentemente, las cadenas de poli(isocianopéptido) de alto DP condujeron a la formación reversible de hidrogeles fuertes por encima de una temperatura crítica, incluso a baja concentración de polímero (0,1 % en peso). Los estudios de AFM indican la formación de una red fibrilar altamente estructurada en el estado de gel, que recuerda algunas estructuras observadas para gelificadores de bajo peso molecular e (hidro)geles de polisacárido. Se ha propuesto que la cadena principal rígida y helicoidal bien definida de poli(isocianopéptido) promueve el ensamblaje jerárquico de los polímeros en una red fibrilar extendida cuando la hidrofilia en corona de oligo(etilenglicol) se reduce a una temperatura más alta. Se supone que la capacidad de gelificación de esta nueva clase de polímero puede extenderse a otros polímeros estables y semiflexibles que alcanzan una relación de rigidez/longitud de cadena (DP) crítica y que soportan cadenas laterales de hidrofilia ajustable.

Los análogos no lineales de poli(etilenglicol) (PEG) han atraído recientemente una gran atención para el desarrollo de materiales innovadores solubles en agua.¹ Tales análogos de PEG se preparan clásicamente a partir de la (co) polimerización de macromonómeros que portan sustituyentes de oligo(etilenglicol). Las propiedades de solución de los polímeros en forma de peine resultantes surgen del fino equilibrio entre las características hidrófilas/hidrófobas de las fracciones injertadas y del núcleo polimérico. La introducción de cadenas laterales de oligo(etilenglicol), para las cuales la hidrofilia depende de la temperatura, ofrece una manera simple y elegante de activar el equilibrio hidrófilo/hidrófobo general de estos materiales y, por lo tanto, proporciona un enfoque directo para el desarrollo de una variedad de sistemas de respuesta térmica.² Hasta ahora, la mayoría de los análogos de PEG no lineales se han derivado de monómeros de vinilo^{3,4}, (met)acrilato^{5,6,7,8,9,10}, y estireno^{5,11}. Solo se han informado algunos ejemplos sobre la síntesis de poli(isocianuros) funcionalizados con oligo(etilenglicol). Estos se han preparado mediante modificación posterior de una cadena principal de poli(isocianuro) mediante acoplamiento peptídico¹² y la cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen catalizada por cobre¹³, o mediante la polimerización directa de precursores añadidos de éter corona¹⁴. Sin embargo, las propiedades de respuesta térmica de los materiales resultantes no se han explorado en detalle y la polimerización directa de isocianuros funcionalizados con oligo(etilenglicol) condujo a materiales con un grado limitado de polimerización¹⁴. En esta contribución, se describe un protocolo optimizado para la preparación de poli(isocianopéptidos) recubiertos con oligo(etilenglicol) y se discuten las propiedades básicas de esta clase de análogos de PEG no lineales.

Los poli(isocianuros) son uno de los polímeros helicoidales estáticos más estudiados. Consisten en cadenas de poli(imina) en las que cada átomo de carbono de la cadena principal tiene sustituyentes, lo que da como resultado una arquitectura extremadamente densa en forma de peine; el plegado helicoidal permite minimizar la repulsión estérica entre las cadenas laterales colgantes^{15,16,17,18,19}. La introducción de cadenas laterales que contienen péptidos conduce a materiales con una rigidez sin precedentes^{20,21}. Este efecto ha sido atribuido al desarrollo de una red de enlace de hidrógeno intramolecular entre los colgantes de péptidos, que adoptan una disposición similar a una lámina β a lo largo del núcleo helicoidal de poli(imina)²⁰. Esta estructura bien definida ha atraído naturalmente mucha atención por el uso de estos materiales como plataformas sintéticas para ordenar varias especies foto y electroactivas para aplicaciones optoelectrónicas^{22,23,24,25}. Con el objetivo de desarrollar análogos no iónicos solubles en agua, primero se enfocó en la mejora de la síntesis de poli(isocianopéptidos) recubiertos con oligo(etilenglicol).

Como se mencionó anteriormente, el fino equilibrio entre el núcleo del polímero y el carácter hidrófilo de las cadenas laterales del polímero gobierna la solubilidad en agua de los análogos de PEG no lineales. En el caso de los derivados de acrilato, se ha demostrado que las cadenas laterales compuestas por dos unidades de etilenglicol eran suficientes para conducir a materiales totalmente solubles en agua²⁶, mientras que se requerían tres unidades de etilenglicol en el caso de los derivados de estireno más hidrófobos¹¹. Para abordar la cuestión de la longitud del sustituyente de glicol frente a la solubilidad en agua, para los poli[isocianopéptido de oligo(etilenglicol)] densamente funcionalizados, se han preparado y polimerizado tres derivados de isocianodalanina con dos, tres o cuatro unidades de etilenglicol (Figura 2).

Los compuestos **1a-c** se derivaron del monometiléter de di, tri y tetraetilenglicol, respectivamente. Se usó una estrategia clásica de acoplamiento de dicitclohexil carbodiimida en dos etapas para la introducción sucesiva de las fracciones de alanina protegidas con (L) y (D)-N-Boc. Después de la introducción de los motivos de dialanina deseados, se separó el grupo final de protección con Boc. Los compuestos se formilaron y posteriormente se deshidrataron con difosgeno, usando N-metilmorfolina como base, para producir los isocianuros 1a-c deseados con rendimientos aceptables (rendimientos globales de 30-60 %).

Polimerización

La polimerización inducida por ácido es el procedimiento histórico de preparación de poli(isocianuros)²⁷. En el caso de dialanil-isocianuros, se pueden obtener cadenas con un grado excepcionalmente alto de polimerización (DP > 10.000) pero esto es fuertemente dependiente de la estereoquímica de los fragmentos dipeptídicos^{20,28}; se requieren tanto diastereómeros LD como DL. A pesar de presentar una estereoquímica adecuada (es decir, la forma DL), los compuestos 1a-c no pudieron polimerizarse en presencia de ácido, pero se hidrolizaron con el tiempo en todas las condiciones probadas ([1a-c] 30-300 mM en diclorometano, cloroformo y tolueno, [H⁺] 1,5-12,5 % en moles, 25 °C). Se propusieron sutiles factores estéricos para explicar la baja reactividad de las formas diastereoméricas

inadecuadas de los derivados dipeptídicos²⁸. De manera similar, la introducción de cadenas laterales de oligo (etilenglicol) flexibles y exigentes estéricamente en los isocianuros 1a-c puede disminuir en gran medida su reactividad hacia polimerización inducida por ácido. Por lo tanto, el enfoque se dirigió a la polimerización más robusta catalizada por níquel introducida por Drenth y Nolte²⁹. Durante los experimentos preliminares, el *poli-1a* se obtuvo fácilmente con las condiciones clásicas descritas para los derivados relacionados de isociano(dipéptidos) (diclorometano, $[\text{Ni}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$, 1 % en moles). Sin embargo, *poli-1b-c* no se obtuvieron con rendimientos satisfactorios utilizando el mismo protocolo. Se llevaron a cabo pruebas exhaustivas para mejorar las condiciones de polimerización de los isocianuros 1b-c.

La polimerización catalizada por níquel de los isocianuros puede verse muy influenciada por el disolvente utilizado, tanto en términos de rendimientos¹⁷ como de la estructura final del polímero^{30,31}. Para investigar estos aspectos con los isocianopéptidos de oligo(etilenglicol) recién preparados, el isocianuro 1c se trató con sales de níquel (II) a temperatura ambiente en tolueno, diclorometano, tetrahidrofurano y metanol. En estos experimentos, se encontró que el tolueno conducía sistemáticamente a los rendimientos más altos, pero no se pudo evidenciar un efecto disolvente claro con respecto a la conformación del polímero con espectroscopía de dicroísmo circular (CD). Además de la marcada diferencia en la eficiencia de la polimerización, se encontró que los disolventes tenían una influencia drástica en la velocidad de polimerización. Siguiendo la desaparición de la banda de estiramiento de isocianuro usando espectroscopía IR, la conversión de 1c en *poli-1c* podría monitorearse con el tiempo (Figura 3). Se encontró que las tasas de polimerización relativas (Kp) según los diferentes disolventes siguieron el orden $K_p[\text{tolueno}] > K_p[\text{diclorometano}] > K_p[\text{tetrahidrofurano}]$. Desafortunadamente, la cinética de polimerización difiere del simple primer orden en todos los casos y no se pudo extraer ninguna constante de velocidad. Además, la reacción no pudo ser seguida por espectroscopía IR en metanol debido al amplio espectro de absorción de este disolvente.

Se observó una dependencia similar del disolvente sobre la velocidad de polimerización para el isocianuro 1b). Además, se encontró que 1b polimeriza más rápido que 1c en todos los casos. Aunque no es óptimo para solubilizar *poli-1a*, se prefirió el tolueno sobre la base de los experimentos IR descritos anteriormente para la polimerización de los tres monómeros de isocianuro de oligo(etilenglicol).

Los monómeros 1a-c se disolvieron en tolueno (0,030-0,300 mol/l) y posteriormente se trataron con alícuotas metanólicas de $\text{Ni}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en condiciones aeróbicas a temperatura ambiente. Después del tiempo de reacción requerido (2-12 h, de acuerdo con la relación monómero/catalizador; las reacciones fueron seguidas por TLC), los polímeros se precipitaron contra éter dietílico y se purificaron adicionalmente por precipitación en mezclas de THF/éter dietílico para proporcionar los materiales deseados con rendimientos satisfactorios (75-90 %). El grado de polimerización (DP) de los materiales resultantes podría controlarse aproximadamente de acuerdo con la relación inicial monómero/catalizador (Tabla 1). Para relaciones monómero/catalizador idénticas, los DP de los polímeros preparados variaron significativamente entre los diferentes isocianuros ($\text{DP}_{\text{poli-1c}} < \text{DP}_{\text{poli-1a}} < \text{DP}_{\text{poli-1b}}$, Tabla 1). En el caso de 1a, la mezcla de reacción se convirtió rápidamente en un gel cuando se usó una relación monómero/catalizador de 100/1, por lo tanto, no se probaron relaciones más altas. Dado que la influencia de la gelificación de la mezcla de reacción sobre la polimerización de 1a no se ha explorado en detalle, es difícil llegar a una conclusión sobre la relación monómero-DP observada.

Tabla 1. Características principales de *poli-1a-c*

polímero	[monómero]/[Ni]	L_n^a (nm)	DP ^a	Mw/Mn ^a	Temperatura crítica (°C)	$[\alpha]^c$ (10^{-1} grado cm^2g^{-1})
<i>poli-1a</i>	100	207	1760	1,5	nd ^d	+ 76
<i>poli-1b</i>	100	309	2630	1,6	35 ^e	+105
<i>poli-1b</i>	10000	859	7310	1,5	22 ^e	nd ^f
<i>poli-1c</i>	100	81	690	1,3	52 ^b , 50 ^e	+175
<i>poli-1c</i>	10000	518	4410	1,7	42 ^e	nd ^f

^a Determinado sobre la base del análisis de micrografía AFM, los valores medios de DP se calcularon a partir de valores de L_n suponiendo un paso helicoidal idéntico (0,47 nm) para los tres polímeros;

^b determinado a partir de mediciones de absorción a 450 nm (UV, solución a 1 mg/ml); ^c a partir de soluciones en cloroformo; ^d no soluble en agua; ^e determinado a partir de la intensidad de dispersión (DLS, solución a 1 mg/ml); ^f no determinado.

Conformación de la cadena principal

El poli(isocianodialanil metil éster) posee una firma muy característica (es decir, un intenso efecto de Cotton centrado en $\lambda = 310$ nm) en la espectroscopía de dicroísmo circular (CD). La señal clásica es negativa para poli((D)-isocianoalanil-(L)-alanil metil éster) (*poli*-(DL)-IAA). Esta señal se ha atribuido a la transición $n-\pi^*$ de los grupos imina, que están atrapados en una simetría helicoidal pseudo 4_1 e interactúan con el dipolo fuerte que puede desarrollarse a lo largo de la cadena principal del polímero (como resultado del empaquetamiento ideal tipo lámina β de los colgantes peptídicos)^{20,32}. La presencia de fracciones oligo(etilenglicol) en *poli-1a-c* dio como resultado materiales que poseen espectros de CD alterados. En todos los casos, se observó una curva de doble señalización que presenta un componente positivo principal centrado en $\lambda = 272$ nm y un componente negativo más pequeño

centrado en $\lambda = 360$ nm. Los tres polímeros presentaron señales de forma comparable independientemente de la longitud de la cadena de oligo(etilenglicol), lo que sugiere conformaciones similares de cadena principal y orientaciones de cadena lateral en *poli-1a-c* (Figura 4). Se han informado previamente señales de CD comparables para la polimerización de ésteres de (D)-isocianoalanil-(L)-alanilo funcionalizados con heptino³³. Aunque muy pronunciada, esta alteración de la señal no se ha relacionado con cambios conformacionales importantes de la cadena principal. Más bien, se le ha asignado una perturbación del dipolo permanente, que interactúa con las transiciones de dipolos de imina $n-\pi^*$ debido a una ligera reorientación de los colgantes peptídicos para acomodar las restricciones estéricas introducidas por las cadenas laterales de heptino. La espectroscopía IR admite una interpretación similar en el caso de *poli-1a-c*. Como se muestra en la Tabla 2, las bandas de estiramiento de N-H y $C=O_{\text{amida I}}$ se desplazan fuertemente hacia el rojo después de la polimerización de los isocianuros 1a-c. Este efecto es una firma inequívoca del desarrollo de enlaces de hidrógeno entre las cadenas laterales de *poli-1a-c*. Las firmas IR son muy similares para los tres polímeros, lo que sugiere un patrón idéntico de unión de hidrógeno, es decir, una estructura central idéntica para *poli-1a-c*, de acuerdo con las mediciones de espectroscopía de CD. Las bandas de estiramiento de NH están ligeramente menos desplazadas de lo esperado para el empaquetamiento óptimo en forma de lámina β , como se observa en *poli*-(DL)-IAA ($\nu\text{-N-H} \sim 3268$ vs. 3252 cm^{-1} , respectivamente) y son muy similares a los valores observados para los polímeros funcionalizados con heptino sintetizados previamente³³. Por lo tanto, se propone que *poli-1a-c* presenta la conformación helicoidal clásica 4_1 de poli(isocianopéptidos) con una orientación ligeramente perturbada de las cadenas laterales debido a las restricciones estéricas introducidas por los sustituyentes oligo (etilenglicol).

Tabla 2. Datos IR seleccionados para monómeros de **1a-c** y soluciones de **poli-1a-c** (diclorometano, 30 mM, 25 °C).

Compuestos	Estiramiento de N-H (cm^{-1}) monómero	estiramiento de N-H (cm^{-1}) polímero	C=O amida I (cm^{-1}) monómero	C=O amida I (cm^{-1}) polímero
(DL)-IAA	3416 ^a	3252 ^a	1688 ^a	1657 ^a
1a	3421	3268	1689	1656
1b	3420	3267	1690	1656
1c	3421	3269	1690	1657

^a Extraído de la ref. ²⁰

Solubilidad en agua y comportamiento termosensible.

Como se esperaba, la solubilidad en agua de *poli-1a-c* está directamente relacionada con la longitud de los fragmentos de oligo(etilenglicol). Se descubrió que *poli-1b-c* era altamente soluble en agua, mientras que *poli-1a* no podía disolverse ni hincharse incluso en agua fría (1-2 °C). *Polí-1b-c* exhiben espectros de CD casi idénticos en medios acuosos y orgánicos, lo que confirma la estabilidad del núcleo helicoidal del poli(isocianopéptido) en agua (Figura 5).

En buen acuerdo con los ejemplos reportados en la literatura para análogos de PEG no lineales, las soluciones acuosas de *poli-1b-c* presentaron separaciones de fase inducidas térmicamente, en las que las temperaturas de transición estaban relacionadas con la longitud de las cadenas laterales de etilenglicol y con el grado de polimerización de los isocianopéptidos. Debido a las marcadas diferencias en los valores de DP de los polímeros, la comparación directa entre los sistemas *poli-1b* y *poli-1c* se limita a consideraciones generales. Solo las tendencias principales se discutirán en los siguientes párrafos.

Como se esperaba, la separación generalmente se produjo a temperaturas más bajas para *poli-1b* que para *poli-1c* y el aumento de los valores de DP de las cadenas dio como resultado una disminución de las temperaturas de transición (Tabla 1). En el caso de soluciones acuosas de 1 mg/ml de *poli-1c*, las cadenas con un DP de ~ 700 comienzan a agregarse por encima de 50 °C, lo que conduce a la precipitación de *poli-1c*. Esta transición podría ser seguida fácilmente por la espectroscopía UV-Vis debido al aumento de la turbidez del medio. Se descubrió que la precipitación era completamente reversible, es decir, se recuperó una solución transparente al enfriar el medio. Curiosamente, para las cadenas de mayor DP (~ 4400) el medio permaneció ópticamente transparente en todo el intervalo de temperaturas exploradas. Sin embargo, se podría evidenciar una transición clara con la ayuda de mediciones de DLS, que mostraron un cambio brusco en la intensidad de luz dispersa por encima de 42 °C (Figura 6a). Esta observación se asoció a la formación de un hidrogel ópticamente transparente. Se observaron aumentos similares en las intensidades de luz dispersa para soluciones acuosas de 1 mg/ml de *poli-1b*, por encima de 35 °C y 22 °C para cadenas de DP ~ 2600 y 7300, respectivamente (Figura 6b). Estas transiciones también se asociaron con la formación de hidrogeles.

Estas transiciones sol-gel volvieron a ser completamente reversibles, es decir, al disminuir la temperatura, se recuperaron soluciones fluidas de todos los hidrogeles. Los ciclos podrían repetirse varias veces sin cambios notables en las capacidades de gelificación del polímero o sin cambios significativos en las temperaturas de transición de fase.

Caracterización de los hidrogeles

Debido a la transparencia óptica de los hidrogeles, los espectros de CD podrían medirse en un intervalo extendido de temperaturas. En el caso de *poli-1c* (DP ~4400), la intensidad de la señal de CD disminuyó ligeramente por encima de 40 °C y alcanzó un valor estable alrededor de 50 °C (Figura 7, $\Delta I_{CD360} \sim 6,4 \%$, $\Delta I_{CD272} \sim 5,6 \%$). Aunque irreversibles, estas modificaciones muy limitadas en el espectro de CD de *poli-1c* apoyan la idea de una preservación global de la estructura polimérica helicoidal dentro del hidrogel (que se forma por encima de 42 °C para las cadenas consideradas). Después de aumentar la temperatura a 70 °C, se observó un cambio marcado en la señal de CD y podría asociarse a la sinéresis de gel. Este efecto solo fue reversible para las muestras que se mantuvieron durante un breve período por encima de 80 °C (<10 min). Los períodos de recocido más largos a 85 °C o superiores, dieron como resultado una disminución drástica de la intensidad de CD después de enfriar el medio a temperatura ambiente. Se encontraron comportamientos similares para derivados de 1b; la estructura helicoidal de los poliisocianuros se conservó en las fases de gel hasta 70 °C.

Para las cadenas de *poli-1b* con el mayor grado de polimerización (DP ~7300), la formación de un hidrogel estable a temperatura ambiente (22-25 °C) permitió explorar más su estructura utilizando microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM). Como se muestra en la Figura 8, las muestras de AFM preparadas a partir de hidrogeles de *poli-1b* de 1 mg/ml exhibieron una red fibrilar extendida a temperatura ambiente. Dichas estructuras se observaron tanto en grafito pirrolítico altamente ordenado (HOPG) como en mica, indicando su naturaleza independiente de la superficie, y recordaban las características observadas en las imágenes de TEM. En HOPG, un depósito grueso mostró inequívocamente una red fibrilar colapsada, lo que demuestra la naturaleza autónoma de las fibras (Figura 8a). En la mica, se podrían depositar capas más delgadas de material, lo que permitió la observación de fibras aisladas (Figura 8b y c). La dimensión lateral de estas estructuras es polidispersa, variando desde unos pocos nm hasta varias decenas de nm.

Como se muestra en la Figura 9, estas fibras resultaron de la asociación lateral y el entrelazado de fibrillas más delgadas, que parecían ser relativamente homogéneas en su ancho (independientemente del efecto de ampliación de la punta; los anchos aparentes de las fibrillas aisladas están principalmente entre 20 y 25 nm). Una mirada más cercana a estas estructuras mostró que las fibrillas mismas resultaron de la asociación de cadenas más delgadas, presumiblemente las cadenas elementales de *poli-1b* (Figura 9a).

Cuando se grafican alturas versus anchos (h, w) de las estructuras fibrilares observadas en mica para 172 secciones aleatorias, se pueden distinguir dos grupos de coordenadas en el gráfico (Figura 10). Las secciones se tomaron de cuatro imágenes diferentes, cada sección se midió perpendicularmente al eje principal de la estructura considerada. La altura se define como el punto más alto medido en la sección transversal (incluso si no fuera el centro de la sección transversal de la estructura). La acumulación aleatoria de materia en ciertos puntos no se tuvo en cuenta para este análisis (puntos blancos en las Figuras 8c y 9).

El primero se distribuye estrechamente alrededor de la pareja (h, w = 0,46 nm, 15,51 nm) y presumiblemente corresponde a secciones transversales de cadena de *poli-1b* individual (desviación estándar: $\delta h = 0,09$ nm, $\delta w = 2,92$ nm). El efecto de ampliación de la punta lateral no se corrige, por lo tanto, los anchos son exagerados. En las muestras preparadas por el recubrimiento por rotación de soluciones de cloroformo diluido, las cadenas aisladas de *poli-1c* y *poli-1b* presentan alturas aparentes similares de 0,4-0,5 nm. El segundo grupo de coordenadas está más disperso con alturas aparentes comprendidas entre 0,8 y 1,4 nm y con un rango bastante amplio de distribuciones de ancho, que corresponde tanto a las fibrillas como a las secciones transversales de fibra. La mayoría de las fibrillas aisladas exhiben alturas comprendidas entre 0,8 y 1,1 nm y anchos aparentes inferiores a 30 nm. Curiosamente, la altura aparente de estas fibrillas aisladas es casi el doble de la altura aparente media de las supuestas cadenas de polímeros individuales (0,46 nm). Esto sugiere que las fibrillas resultan del entrelazado cercano de al menos dos cadenas de *poli-1b* y que estas fibrillas se agregan aún más en haces para formar la red de gel fibroso. Las secciones transversales más altas (> 1,2 nm), que se observan principalmente para los haces, pueden deberse a la superposición de varias fibrillas en el sustrato o al entrelazamiento local en las fibras.

La mayoría de los polímeros rígidos y en forma de varilla pueden formar geles en condiciones adecuadas (fase de gel cristalino líquido a alta concentración)³⁴. La baja concentración (0,1 % en peso) a la que se forman los hidrogeles de *poli-1b-c*, es, sin embargo notable para las macromoléculas. Se han descrito algunos ejemplos de polímeros en bloque que presentan una concentración de gelificación crítica de aproximadamente el 0,1 % en peso^{35,36}, pero en general los homopolímeros sintéticos rara vez forman geles físicos por debajo del 1 % en peso. En el caso del *poli-1b-c* recién preparado, el conjunto jerárquico descrito anteriormente de los poli[isocianuros de oligo(etilenglicol)] explica la formación de hidrogeles fuertes a concentraciones de polímero bastante bajas. Este proceso de ensamblaje probablemente esté relacionado con la estructura secundaria de las cadenas de polímeros y su rigidez asociada. Es interesante observar que las cadenas de *poli-1c* con DP ~700 precipitan por encima de la temperatura de transición, mientras que las cadenas con mayor DP conducen a la formación de hidrogeles a la misma concentración de polímero. Por lo tanto, se asume que un parámetro crítico para la formación del hidrogel a bajas concentraciones de *poli-1b-c* sería la relación entre el polímero DP (es decir, las longitudes de cadena) y la rigidez de la cadena o la longitud de persistencia relacionada. Se propone que la red de gel solo se pueda formar si una cantidad significativa de cadenas de polímero alcanza tamaños muy superiores a la longitud de persistencia de los polímeros. Esto permitiría que las cadenas de polímeros se entrelacen y formen microfibrillas alargadas, que se agregan aún más en haces que son la base de la red de gel. Si consideramos como primera aproximación que la

longitud de persistencia del poli(isocianopéptido) recubierto de oligo(etilenglicol) *poli-1b-c* es similar a la longitud de persistencia del *poli-(DL)-IAA* original (76 nm), es interesante observar que se produjo precipitación para cadenas que tenían una longitud media cercana a ese valor (81 nm), mientras que todos los demás materiales exhibieron longitudes medias al menos tres veces más altas y también formaron hidrogeles. Un estudio más detallado del mecanismo de gelificación de los poliiisocianopéptidos funcionalizados con oligo(etilenglicol) está actualmente en progreso.

Conclusión

Se ha preparado una nueva familia de análogos no lineales de poli(etilenglicol) con base en una cadena principal de poliiisocianopéptido. Usando estos polímeros helicoidales rígidos, se pueden obtener materiales solubles en agua a partir de cadenas laterales de trietilenglicol. Debido al comportamiento termosensible de las cadenas laterales de etilenglicol, estos materiales presentan una separación de fases termoinducida clara. Se ha demostrado un efecto inesperado de la longitud de la cadena de polímero para estos materiales; se descubrió que las cadenas más largas podían gelificar agua a baja concentración de polímero (0,1 % en peso), las cadenas más cortas simplemente precipitaron en solución, incapaces de desarrollar redes tridimensionales extendidas a baja concentración de polímero. Se propone que este es un comportamiento general para polímeros largos rígidos (o semiflexibles) para los cuales la hidrofilia se puede ajustar sin modificar la estructura general de las cadenas (es decir, en estructuras rígidas las cadenas no colapsan sino que se agregan lateralmente con otras cadenas para formar fibras extendidas) y podrían usarse para diseñar otros macrogelificadores sintéticos de baja concentración. Ahora se está investigando la modificación posterior de análogos funcionalizados de estos polímeros con biomoléculas.

Ejemplos

General

Se destilaron diclorometano y cloroformo sobre CaCl_2 . El tetrahidrofurano, el éter dietílico y el tolueno se destilaron del sodio, en presencia de benzofenona. El agua se purificó con un sistema MiliQ de Milipore (agua mQ de 18,2 M Ω). Todos los demás productos químicos se utilizaron según lo recibido de los proveedores. La cromatografía en columna se realizó usando gel de sílice (40-60 μm) adquirida a través de Merck o gel de sílice (0,060-0,200 mm) proporcionada por Baker. Los análisis de TLC se llevaron a cabo sobre vidrio revestido con sílice 60 F₂₅₄ obtenido a través de Merck y los compuestos se visualizaron usando Ninhidrina o soluciones acuosas básicas de KMnO_4 . Los espectros de RMN de ^1H y RMN de ^{13}C se registraron en un instrumento Bruker AC-300 MHz que funciona a 200 o 300 MHz y 75 MHz, respectivamente. Los espectros infrarrojos con FT de los compuestos puros se registraron en un espectrómetro ThermoMattson IR300 equipado con una unidad Harrick ATR. La espectroscopía IR de solución se realizó en una cubeta de KBr sellada (1 mm) en un espectrómetro Bruker Tensor 27 operado con el software Opus. Las soluciones de *poli-1a-c* y los respectivos isocianuros 1a-c se prepararon en cloroformo, tetrahidrofurano o tolueno a una concentración de 30 mM. Los puntos de fusión se midieron en un Büchi B-545 y se reportan sin corregir. Las mediciones de espectrometría de masas se realizaron en un instrumento JEOL Accutof (ESI). Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin Elmer 241 a temperatura ambiente y se reportaron en 10^{-1} grados $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$. Los espectros de CD se registraron en un instrumento Jasco 810 equipado con una unidad de control de temperatura Peltier. La celda se termostató a 20 °C o se calentó/enfrió dentro del intervalo de temperatura deseado a un gradiente de temperatura de 1 °C/min. Las mediciones de DLS se llevaron a cabo en un Zetasizer Nano (Malvern Instruments) en soluciones acuosas no filtradas (1 mg/ml) en agua mQ. Todas las soluciones fueron desgasificadas (baño de ultrasonido 3 x 15 s). La celda de medición se calentó/enfrió dentro del intervalo de temperatura deseado a un gradiente de temperatura de 1 °C/min. Los polímeros se disolvieron. Los experimentos de AFM se realizaron usando un microscopio de Dimension 3100 o multimodal operado con unidades de control NanoScope III o NanoScope IV (Digital Instruments). Las soluciones de *poli-1a-c* ($\sim 10^{-6}$ M en CHCl_3) se revistieron por rotación (1600 RPM) sobre mica Moscovita recién cortada para determinar la longitud del contorno (L_n) de las cadenas de polímeros aislados. Los hidrogeles de *poli-1b* se depositaron por contacto directo con HOPG recién cortado o mica Moscovita. Todas las imágenes fueron grabadas con el AFM operando en Tapping Mode^{MR} en aire a temperatura ambiente, con una resolución de 1024 x 1024 píxeles, usando velocidades de barrido moderadas (1-1,5 líneas/s). Se utilizaron puntas comerciales de silicio con revestimiento de oro en modo roscado (NT-MDT) con una frecuencia de resonancia típica de alrededor de 300 kHz. La longitud de la cadena de polímero se evaluó utilizando el complemento NeuronJ (v1.4.1 de E. Meijering) ejecutado sobre el software ImageJ (v1.43i) (Rasband, WS, ImageJ, Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos, Bethesda, Maryland, EE. UU., <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2009).

Las alturas de las cadenas de polímero se midieron usando el software NanoScope (v6.14r1) de Digital Instruments. Las micrografías de TEM se registraron en un instrumento JEOL JEM-1010.

Ejemplo 1: Materiales y condiciones de reacción.

Síntesis de 2-metiloxietiloxietil-N-boc-(L)-alaninato (2a)

65

- A menos que se mencione otra cosa, los espectros de CD se tomaron de muestras de 1 mg/ml en diclorometano recién destilado o agua mQ (18,2 M Ω) en un espectrómetro Jasco J-810.
- La celda se termostató a 25 °C con el módulo peltier Jasco o se calentó/enfrió en el intervalo deseado de temperaturas con una velocidad de gradiente de 1 °C/min.
- 5 - Los espectros de RMN se tomaron en un equipo Bruker Advance 200 o 300 MHz. Cuando se registraron en cloroformo deuterado, los cambios químicos se calibraron con la señal de TMS.
- Los espectros IR se tomaron en un espectrómetro Tensor 27 operando con Opus (Bruker Optics, Marne la Vallee, Francia), a partir de soluciones de 1 mg/ml en cloroformo.
- 10 - Las mediciones de AFM Tapping Mode^{MR} se realizaron en un microscopio Dimension 3100 (Digital Instruments, Santa Bárbara, California) controlado con un controlador NanoScope IV (Digital Instruments, Santa Bárbara, California).
- Las mediciones se realizaron en muestras de mica preparadas mediante una solución de recubrimiento por rotación de *poli-1a-d* en cloroformo (0,5 mg/ml; 25 μ l) sobre un soporte de mica recién cortado.
- 15 - Se utilizaron puntas recubiertas con oro NSG-10 (NT-MDT, Moscú, Rusia) para tomar la micrografía.

Se disolvieron 2-(2-metoxietoxi)etanol (1,28 g, 10,5 mmol), 4-*N,N'*-(dimetil)aminopiridina (128 mg, 1 mmol) y N-Boc-(L)-alanina (2 g, 10,5 mmol) en CH₂Cl₂ recién destilado (25 ml). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C (baño de hielo) y se añadió en porciones diciclohexilcarbodiimida (DCC, 2,39 g, 1,1 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 0 °C y luego se calentó a temperatura ambiente durante 2 horas. La diciclohexil urea se filtró, se lavó con acetato de etilo (2 x 20 ml) y los disolventes se evaporaron. La cromatografía en columna (SiO₂, 0,060-0,200 mm/1 % MeOH en CH₂Cl₂) produjo el compuesto 2a como un aceite incoloro a amarillo pálido (2,40 g, 8,3 mmol, 79 %).

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 5,14 (br s, 1H, -NH-); 4,32-4,28 (br m, 3H, -CH(CH₃)-, -COOCH₂-); 3,71 (t, *J* = 4,5 Hz, -COOCH₂CH₂-); 3,66-3,63 (m, 2H, -CH₂CH₂OCH₃); 3,56-3,53 (m, 2H, -CH₂OCH₃); 3,38 (s, 3H, -OCH₃); 1,45 (s, 9H, (CH₃)₃C-); 1,39 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H, -CH(CH₃)-) RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): 172,8 (-CH(CH₃)COO-); 154,5 (-NHCOO-); 79,2 (-OC(CH₃)₃); 71,4; 70,0 (-COOCH₂CH₂-); 68,4 (-OCH₂CH₂O-); 63,7 (-COOCH₂CH₂-); 58,5 (-OCH₃); 48,7 (-CH(CH₃)-); 27,8 (-OC(CH₃)₃); 18,1 (-CH(CH₃)-) FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3352 (br s, N-H); 2977, 2932, 2881, 2825 (C-H); 1742 (C=O éster); 1712 (C=O carbamato); 1518 (N-H carbamato); 1248 (C-O carbamato), 1164 (C-O carbamato, éster); 1109, 1067 (C-O éteres) MS (ESI): *m/z* ([M+Na]⁺: C₁₃H₂₅NO₆Na), calculado 291,17; encontrado 291,1 [α]_D²⁰: -7,7 (c 0,81; CHCl₃).

Ejemplo 2: Síntesis de 2-metiloxietiloxietilolioxietiloxietil-N-boc-(L)-alaninato (2b)

Este compuesto se sintetizó de acuerdo con el mismo procedimiento que se describe en el ejemplo 1.

El compuesto 2b se preparó usando el mismo procedimiento que el descrito para la síntesis de 2a con los siguientes reactivos y disolventes: 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etanol (1,32 g, 8 mmol), 4-*N,N'*-(dimetil)aminopiridina (100 mg, 0,81 mmol), N-Boc-(L)-Alanina (1,51 g, 8 mmol) y DCC (1,67 g, 8,1 mmol) en diclorometano (25 ml). La cromatografía en columna (SiO₂, 0,060-0,200 mm/MeOH al 1 % en CH₂Cl₂) produjo el compuesto 2b como un aceite incoloro a amarillo pálido (2,35 g, 7,1 mmol, 86 %).

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 5,17 (br s, 1H, -NH-); 4,35-4,27 (br m, 3H, -CH(CH₃)-, -COOCH₂-); 3,71 (t, *J* = 4,5 Hz, 2H, -COOCH₂CH₂-); 3,67-3,63 (br s, 6H, -OCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃); 3,57-3,53 (m, 2H, CH₂CH₂OCH₃); 3,38 (s, 3H, -OCH₃); 1,45 (s, 9H, (CH₃)₃C-); 1,39 (d, *J* = 7,2 Hz, -CH(CH₃)-) ¹³C RMN (CDCl₃, 75 MHz): 172,8 (-CH(CH₃)COO-); 154,6 (-NHCOO-); 79,2 (-OC(CH₃)₃); 71,4; 70,1; 70,0; 68,4; 63,7 (-COOCH₂CH₂-); 58,5 (-OCH₃); 48,7 (-CH(CH₃)-); 27,8 (-OC(CH₃)₃); 18,1 (-CH(CH₃)-) FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3341 (N-H); 2976, 2876 (C-H); 1744 (C=O éster); 1714 (C=O carbamato); 1556 (N-H carbamato); 1249 (C-O carbamato); 1164 (C-O carbamato, éster); 1108, 1068 (C-O éteres) MS (ESI): *m/z* ([M+Na]⁺: C₁₅H₂₉NO₇Na), calculado 358,18; encontrado 358,1 [α]_D²⁰: -0,97 (c 0,30; CHCl₃)

Síntesis de 2-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)etil-N-Boc-(L)-alaninato (2c)

El compuesto 2c se preparó usando el mismo procedimiento que el descrito para la síntesis de 2a con los siguientes reactivos y disolventes: 2-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)etanol (4,04 g, 19,4 mmol), 4-*N,N'*-(dimetil)aminopiridina (0,27 g, 2,22 mmol), N-Boc-(L)-Alanina (3,66 g, 19,4 mmol) y DCC (4,0 g 19,4 mmol) en diclorometano (25 ml). La cromatografía en columna (SiO₂, 0,060-0,200 mm/MeOH al 1 % en CH₂Cl₂) produjo el compuesto 2c como un aceite amarillo pálido (6,88 g, 18,1 mmol, 93 %).

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 5,18 (br s, 1H, -NH-); 4,33-4,27 (br m, 3H, -CH(CH₃)-, COOCH₂-); 3,71 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H, -COOCH₂CH₂-); 3,66-3,63 (m, 10H, -OCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃); 3,56-3,53 (m, 2H, -CH₂OCH₃); 3,38 (s, 3H, -OCH₃); 1,44 (s, 9H, -C(CH₃)₃); 1,39 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H, -CH(CH₃)-) RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): 172,8 (-CH(CH₃)COO-); 154,6 (-NHCOO-); 79,2 (-OC(CH₃)₃); 71,4; 70,1; 70,0; 68,4; 63,7 (-COOCH₂CH₂-); 58,5 (-OCH₃); 48,7 (-CH(CH₃)-); 27,8 (-OC(CH₃)₃); 18,1 (-CH(CH₃)-) FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3337 (N-H); 2975, 2935, 2879 (C-H); 1743 (C=O éster); 1712 (C=O carbamato); 1520 (N-H carbamato); 1249 (C-O carbamato); 1165 (C-O carbamato, éster); 1107, 1069 (C-O éteres) MS (ESI): *m/z* ([M+Na]⁺: C₁₇H₃₃NO₈Na), calculado 402,21; encontrado 402,1 [α]_D²⁰: -5,4 grados (c 1,04; CHCl₃).

Ejemplo 3: Síntesis de 2-metiloxietiloxietil-(L)-alaninamido-(D)-alaninato (3a)

El compuesto 2a (2,0 g, 6,8 mmol) se trató con HCl (20 ml, 2 M) en acetato de etilo a temperatura ambiente. La desprotección fue seguida por TLC. Cuando no quedó compuesto protegido (~ 1 h), el disolvente se evaporó a presión reducida. El material crudo se disolvió en alcohol terc-butílico (10 ml), que posteriormente se evaporó (2 veces). El alcohol terc-butílico residual se eliminó por destilación azeotrópica con CH₂Cl₂ y el producto crudo se usó sin purificación adicional para la siguiente reacción de acoplamiento. El compuesto desprotegido, hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt, 1,03 g, 6,9 mmol) y N-Boc-(D)-alanina (1,29 g, 6,8 mmol) se suspendieron en CH₂Cl₂ recién destilado (50 ml), se añadió gota a gota N,N'-diisopropil-N"-etilamina (DIPEA, 1,2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que se disolvieron casi todos los sólidos. La mezcla se enfrió a 0 °C (baño de hielo) y se añadió DCC (1,41 g, 6,9 mmol) en porciones. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 hora y luego se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente en 3 horas. La dicitohexilurea se eliminó por filtración y se lavó con acetato de etilo (2 x 20 ml). El disolvente se evaporó y el compuesto deseado se purificó por cromatografía en columna (SiO₂ 0,060-0,200 mm/CH₂Cl₂- MeOH al 2 %) para producir 3a como un aceite incoloro a amarillo pálido (2,01 g, 5,5 mmol, 82 %).

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 6,87 (br s, 1H, -CH(CH₃)CONH-); 5,24 (br s, 1H, -OCONH-); 4,59 (quint, J = 7,2 Hz, 1H, -CH(CH₃)COO-); 4,35-4,21 (m, 3H, -CH(CH₃)CONH-, -COOCH₂-); 3,70 (t, J = 4,5 Hz, 2H, -COOCH₂CH₂-); 3,65-3,63 (m, 2H, -CH₂CH₂OCH₃); 3,56-3,54 (m, 2H, -CH₂OCH₃); 3,38 (s, 3H, -OCH₃); 1,45 (s, 9H, (CH₃)₃C-); 1,42 (d, J = 7,2 Hz, 3H, -CH(CH₃)COO-); 1,36 (d, J = 6,9 Hz, 3H, -CH(CH₃)CONH-) RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): 172,2 (-CH(CH₃)COO-); 171,8 (-CH(CH₃)CONH-); 155,1 (-NHCOO-); 79,6 (-OCH(CH₃)); 71,4; 70,0 (-COOCH₂CH₂-); 68,4; 63,9 (-COOCH₂CH₂-); 58,5 (-OCH₃); 49,4; 47,6 (-CH(CH₃)-); 27,8 (-OCH(CH₃)); 17,7 (2 x -CH(CH₃)-) FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3317 (br s, N-H); 2977, 2932, 2881, 2828 (C-H); 1739 (C=O éster); 1710 (C=O carbamato); 1664 (amida I); 1512 (N-H carbamato/amida II); 1246 (C-O carbamato), 1199 (C-O éster); 1162 (C-O carbamato, éster); 1129, 1109, 1055 (C-O éteres). MS (ESI): m/z ([M+Na]⁺: C₁₆H₃₀N₂O₇Na), calculado 385,20; encontrado 385,2 [α]_D²⁰: +25,4 grados (c 0,81; CHCl₃)

25 Ejemplo 4: Síntesis de 2-metiloxietiloxietil(L)-alaninamido-(D)-alaninato (3b)

Este compuesto se sintetizó de acuerdo con el mismo procedimiento descrito en el ejemplo 3.

El compuesto 3b se preparó usando el mismo procedimiento que el descrito para la síntesis de 3a con los siguientes reactivos y disolventes: 2b (2,10 g, 6,3 mmol), HOBt (0,965 g, 6,3 mmol), DCC (1,32 g, 6,4 mmol), N-Boc-(D)-alanina (1,19 g, 6,3 mmol) y DIPEA (1,29 ml) en diclorometano (20 ml). La cromatografía en columna (SiO₂ 0,060-0,200 mm/CH₂Cl₂- MeOH al 2 %) produjo 3b como un aceite amarillo pálido (2,0 g, 5,0 mmol, 79 %).

RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz): 6,95 (br d, J = 6,9 Hz, 1H, -CH(CH₃)CONH-); 5,30 (br d, J = 6 Hz, 1H, -OCONH-); 4,59 (quint, J = 7,4 Hz, 1H, -CH(CH₃)COO-); 4,32-4,20 (br m, 3H, -CH(CH₃)CONH-, -COOCH₂-); 3,71 (t, J = 5,0 Hz, 2H, -COOCH₂CH₂-); 3,67-3,63 (m, 6H, -OCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃); 3,58-3,55 (m, 2H, -CH₂OCH₃); 3,38 (s, 3H, -OCH₃); 1,45 (s, 9H, (CH₃)₃C-); 1,42 (d, J = 7,2 Hz, 3H, -CH(CH₃)COO-); 1,37 (d, J = 7,0 Hz, 3H, CH(CH₃)CONH-) RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): 172,7 (-CH(CH₃)COO-); 172,4 (-CH(CH₃)CONH-); 155,5 (-NHCOO-); 80,0 (-OCH(CH₃)); 71,9; 70,6; 70,6; 70,5; 68,8; 64,4 (-COOCH₂CH₂-); 59,0 (-OCH₃); 49,9; 48,0 (-CH(CH₃)-); 28,3 (-OCH(CH₃)); 18,2 (-CH(CH₃)CONH-); 18,2 (-CH(CH₃)COO-) FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3314 (N-H); 2976, 2928, 2876 (C-H); 1739 (C=O éster); 1713 (C=O carbamato); 1667 (amida I); 1517 (N-H carbamato, amida II); 1247 (C-O carbamato); 1199 (C-O éster); (1162 (C-O carbamato, éster); 1104, 1055 (C-O éteres) MS (ESI): m/z ([M+Na]⁺: C₁₈H₃₄N₂O₈Na), calculado 429,22; encontrado 429,2 [α]_D²⁰: +18,3 grados (c 1,07; CHCl₃).

45 Ejemplo 5: Síntesis de 2-metiloxietiloxietil(L)-alaninamido-(D)-alaninato (3c)

Este compuesto se sintetizó de acuerdo con el mismo procedimiento descrito en el ejemplo 3.

El compuesto 3c se preparó usando el mismo procedimiento que el descrito para la síntesis de 3a con los siguientes reactivos y disolventes: 2c (3,03 g, 8,0 mmol), HOBt (1,23 g, 8,1 mmol), DCC (1,67 g, 8,1 mmol), N-Boc-(D)-alanina (1,53 g, 8,1 mmol) y DIPEA (1,4 ml) en diclorometano (25 ml). La cromatografía en columna (SiO₂ 0,060-0,200 mm/CH₂Cl₂-MeOH al 2 %) produjo 3c como un aceite amarillo pálido (2,88 g, 6,4 mmol, 80 %).

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 6,87 (br s, 1H -CH(CH₃)CONH-); 5,19 (br s, 1H, -OCONH-); 4,62-4,53 (m, 1H, -CH(CH₃)COO-); 4,33-4,20 (br m, 3H, -CH(CH₃)CONH-, -COOCH₂-); 3,71-3,63 (m, 12H, -COOCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃); 3,56-3,51 (br m, 2H, -CH₂OCH₃); 3,38 (s, 3H, -OCH₃); 1,45 (s, 9H, -C(CH₃)₃); 1,41 (d, J = 7,2 Hz, 3H, -CH(CH₃)COO-); 1,35 (d, J = 7,0 Hz, 3H, CH(CH₃)CONH-) RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): 172,2 (-CH(CH₃)COO-); 171,8 (-CH(CH₃)CONH-); 155,0 (-NHCOO-); 79,6 (-OCH(CH₃)); 71,4; 70,1; 70,0; 68,4; 63,9 (-COOCH₂CH₂-); 58,5 (-OCH₃); 49,5; 47,6 (-CH(CH₃)-); 27,8 (-OCH(CH₃)); 17,7 (2 x -CH(CH₃)-) FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3319 (N-H); 2976, 2931, 2879 (C-H); 1740 (C=O éster); 1711 (C=O carbamato); 1665 (amida I); 1513 (N-H carbamato, amida II); 1248 (C-O carbamato); 1200 (C-O éster); 1163 (C-O carbamato, éster); 1105, 1067 (C-O éteres) MS (ESI): m/z ([M+Na]⁺: C₂₀H₃₈N₂O₉Na), calculado 473,25; encontrado 473,2 [α]_D²⁰: +17,4 (c 0,81; CHCl₃).

Ejemplo 6: Síntesis de 2-metiloxietiloxietil(L)-alaninamido-(D)-formalaninato (4a)

El compuesto 3a (1,26 g, 3,5 mmol) se trató con HCl (15 ml, 2 M) en acetato de etilo a temperatura ambiente. La desprotección fue seguida por TLC. Cuando no quedó compuesto protegido (~ 1 h), el disolvente se evaporó a presión reducida. El material crudo se disolvió en alcohol terc-butílico (10 ml), que posteriormente se evaporó (2

veces). El alcohol terc-butilo residual se eliminó mediante destilación azeotrópica con CH_2Cl_2 y el producto crudo se usó sin purificación adicional.

El compuesto desprotegido se disolvió en formiato de etilo (50 ml), se añadió formiato de sodio (1,89 g, 27,8 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 4 horas bajo argón. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtró para eliminar el formiato de sodio, y el disolvente se evaporó a presión reducida. La cromatografía en columna (SiO_2 0,060-0,200 mm/ CH_2Cl_2 - MeOH al 4 %) produjo 4a como un sólido blanco (0,89 g, 3,1 mmol, 86 %).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): 8,18 (s, 1H, $-\text{CHO}$); 6,98 (br d, $J = 7,5$ Hz, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 6,87 (br d, $J = 6$ Hz, 1H, $-\text{NHCHO}$); 4,69-4,45 (m, 2H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 4,36-4,20 (m, 2H, $-\text{COOCH}_2-$); 3,69-3,67 (m, 2H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_2-$); 3,63-3,61 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 3,57-3,55 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 3,38 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 1,43 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 1,39 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$) RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): 172,1 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 171,0 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 160,9 ($-\text{NHCHO}$); 71,4; 69,9 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_2-$); 68,5; 63,8 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_2-$); 58,4 ($-\text{OCH}_3$); 47,7; 46,6 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)-$); 17,3 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 17,1 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$) FT-IR (cm^{-1} , ATR): 3287 (N-H); 2980, 2941, 2881, 2816 (C-H); 1740 (C=O éster); 1653 (amida I, formamida I); 1524 (amida II, formamida II); 1200 (C-O éster); 1160 (C-O éster); 1135, 1105, 1058 (C-O éteres) MS (ESI): m/z ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$, calculado 313,14; encontrado 313,3 [α] $_{\text{D}}^{20}$: +52,7 (c 1,4; CHCl_3).

Ejemplo 7: Síntesis de 2-metiloxietiloxietil(L)-alaninamido(D)-formalinato (4b)

El compuesto 4b se preparó usando el mismo procedimiento que el descrito para la síntesis de 4a con los siguientes reactivos: 3b (0,85 g, 2,1 mmol), formiato de sodio (1,14 g, 16,8 mmol), formiato de etilo (30 ml). La cromatografía en columna (SiO_2 0,060-0,200 mm/ CH_2Cl_2 -MeOH al 4 %) produjo 4b como un aceite amarillo pálido (0,63 g, 1,8 mmol, 89 %).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): 8,18 (s, 1H, $-\text{CHO}$); 7,36 (br d, $J = 7,4$ Hz, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 7,15 (br d, $J = 7,5$ Hz, 1H, $-\text{NHCHO}$); 4,70-4,52 (m, 2H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 4,35-4,19 (m, 2H, $-\text{COOCH}_2-$); 3,73-3,60 (m, 8H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 3,58-3,53 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 3,38 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 1,42 (d, $J = 7,4$ Hz, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 1,40 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$) RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): 172,6 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 171,7 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 161,5 ($-\text{NHCHO}$); 71,8; 70,6; 70,5; 70,4; 68,9; 64,4 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_2-$); 58,9 ($-\text{OCH}_3$); 48,3; 47,2 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)-$); 18,00 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 17,8 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$) FT-IR (cm^{-1} , ATR): 3284 (N-H); 3059, 2981, 2876 (C-H); 1739 (C=O éster); 1654 (amida I, formamida I); 1525 (amida II, formamida II); 1201 (C-O éster); 1160 (C-O éster); 1135, 1099 (C-O éteres) MS (ESI): m/z ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7\text{Na}$, calculado 357,17; encontrado 357,3 [α] $_{\text{D}}^{20}$: +46,0 grados (c 0,81; CHCl_3).

Ejemplo 8: Síntesis de 2-metiloxietiloxietilolioxietiloxietil(L)-alaninamido(D)-formalinato (4c)

El compuesto 4c se preparó usando el mismo procedimiento que el descrito para la síntesis de 4a con los siguientes reactivos: 3c (2,0 g, 4,4 mmol), formiato de sodio (2,40 g, 35,2 mmol), formiato de etilo (50 ml). La cromatografía en columna (SiO_2 0,060-0,200 mm/ CH_2Cl_2 - MeOH al 4 %) produjo 4c como un aceite amarillo pálido (1,41 g, 3,7 mmol, 85 %).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): 8,18 (s, 1H, $-\text{CHO}$); 7,20 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 7,02 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, $-\text{NHCHO}$); 4,70-4,62 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 4,57-4,50 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 4,35-4,19 (m, 2H, $-\text{COOCH}_2-$); 3,70-3,62 (m, 12H, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 3,56-3,35 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 3,38 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 1,42 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 1,40 (d, $J = 7,5$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$) RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): 172,1 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 171,1 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 161,0; 71,4; 70,1; 70,0; 69,9; 68,4; 63,9 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_2-$); 58,4 ($-\text{OCH}_3$); 47,8; 46,7 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)-$); 17,4 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 17,3 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$) FT-IR (cm^{-1} , ATR): 3300 (N-H); 2982, 2875 (C-H); 1738 (C=O éster); 1658 (amida I, formamida I); 1530 (amida II, formamida II); 1202 (C-O éster); 1165 (C-O éster); 1098 (C-O éteres) MS (ESI): m/z ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}$, calculado 401,19; encontrado 401,3 [α] $_{\text{D}}^{20}$: +42,4 (c 0,95; CHCl_3).

Ejemplo 9: Síntesis de 2-metiloxietiloxietil(L)-alaninamido(D)-isocianilalanina (1a)

La formamida 3a (300 mg, 1,03 mmol) y la *N*-metilmorfolina (570 μl , 524 mg, 5,15 mmol) se disolvieron en CH_2Cl_2 recién destilado (50 ml) y se enfriaron a -30°C (baño de hielo seco-acetona). Una solución de difosgeno (334 μl , 205 mg, 1,03 mmol) en CH_2Cl_2 recién destilado (5 ml) se añadió gota a gota a la solución durante 5 minutos. Después de agitar la mezcla de reacción a -30°C durante otros 10 minutos (durante los cuales la mezcla se volvió amarilla) la reacción se interrumpió mediante la adición de bicarbonato de sodio sólido (3 g). La suspensión se agitó vigorosamente a -30°C durante 10 minutos y luego se calentó a temperatura ambiente. La mezcla cruda se vertió en un tapón corto de sílice (sílice 0,060-0,200 mm/ CH_2Cl_2) sin más tratamiento, y el compuesto deseado se eluyó con CH_2Cl_2 - acetonitrilo al 25 % para conducir al compuesto 1a como un sólido blanco que se recristalizó en EtOH/diisopropiléter (190 mg, 0,70 mmol, 68 %).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): 6,96 (br s, 1H, $-\text{NH}-$); 4,59 (q, $J = 7,2$ Hz, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 4,34 (br t, $J = 4,5$ Hz, 2H, $-\text{COOCH}_2-$); 4,27 (q, $J = 6,9$ Hz, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 3,73 (br t, $J = 4,5$ Hz, 2H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_2-$); 3,67-3,63 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 3,56-3,51 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 3,39 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 1,66 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H, $\text{C}=\text{NCH}(\text{CH}_3)-$); 1,49 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$) RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): 171,5 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}-$); 165,2 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 161,0 ($-\text{NC}$); 76,8; 71,4; 70,1; 68,4; 64,2 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_2-$); 58,6 ($-\text{OCH}_3$); 52,9; 49,1 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)-$); 19,2 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$); 17,6 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}-$) FT-IR (cm^{-1} , ATR): 3313 (N-H); 2887, 2880 (C-H); 2140 (N=C isocianuro); 1740 (C=O éster); 1678 (C=O, amida I); 1537 (N-H, amida II); 1200 (C-O, éster); 1106, 1024 (C-O éteres) HRMS

(ESI): m/z ([M+Na]⁺: C₁₂H₂₀N₂O₅Na), calculado 295,12617; encontrado 295,12699 [α]_D²⁰: -2 (c 0,29; CH₂Cl₂) pf: 53 °C

5 Ejemplo 10: Síntesis de 2-metiloxietiloxietiloxietil-(L)-alaninamido-(D)-isocianilalanina (1b)

El compuesto 1b se preparó usando el mismo procedimiento que el descrito para la síntesis de 1a con los siguientes reactivos: 4b (1,5 g, 4,49 mmol), N-metilmorfolina (1,23 ml, 1,13 g, 11,1 mmol), difosgeno (461 μl, 755 mg, 3,83 mmol) en diclorometano (200 ml + 10 ml). La cromatografía en columna (SiO₂ 0,060-0,200 mm/CH₂Cl₂- acetronitrilo al 25 %) produjo 1b como un gel amarillo pálido (1,15 g, 3,65 mmol, 81 %).

10 RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 7,06 (br s, 1H, -NH-); 4,60 (quint, J = 7,2 Hz, 1H, -CH(CH₃)COO-); 4,35-4,26 (br m, 3H, -COOCH₂-, -CH(CH₃)CONH-); 3,72 (t, J = 4,5 Hz, 2H, -COOCH₂CH₂); 3,66 (br s, 6H, -OCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃); 3,59-3,54 (m, 2H, -CH₂OCH₃); 3,38 (s, 3H, -OCH₃); 1,66 (d, J = 6,6 Hz, 3H, CH(CH₃)CONH-); 1,47 (d, J = 6,9 Hz, 3H, -CH(CH₃)COO-) RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): 171,5 (-CH(CH₃)COO-); 165,3 (-CH(CH₃)CONH-); 160,8 (-NC); 78,8; 71,4; 70,2; 70,1; 70,0; 68,5; 64,2 (-COOCH₂CH₂-); 58,5 (-OCH₃); 52,8; 15 48,0 (-CH(CH₃)-); 19,2 (-CH(CH₃)CONH-); 17,6 (-CH(CH₃)CONH-) FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3312 (N-H); 2885, 2878 (C-H); 2140 (N≡C isocianuro); 1740 (C=O éster); 1681 (C=O, amida I); 1536 (N-H, amida II); 1200 (C-O, éster); 1099, 1025 (C-O éteres) HRMS (ESI): m/z ([M+Na]⁺: C₁₄H₂₄N₂O₆Na), calculado 339,15285; encontrado 339,15321 [α]_D²⁰: -10 grados (c 0,70; CH₂Cl₂).

20 Ejemplo 11: Síntesis de 2-metiloxietiloxietiloiloxietiloxietil-(L)-alaninamido-(D)-isocianilalanina (1c)

El compuesto 1c se preparó utilizando el mismo procedimiento que el descrito para la síntesis de 1a con los siguientes reactivos: 4c (526 mg, 1,39 mmol), N-metilmorfolina (384 μl, 354 mg, 3,5 mmol), difosgeno (143 μl, 235 mg, 1,19 mmol) en diclorometano (200 ml + 10 ml). La cromatografía en columna (SiO₂ 0,060-0,200 mm/CH₂Cl₂- acetronitrilo al 25 %) produjo 1c como un aceite viscoso amarillo pálido (402 mg, 1,11 mmol, 80 %).

25 RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 7,00 (d, J = 6,3 Hz, 1H, -CH(CH₃)CONH-); 4,62-4,52 (m, 1H, -CH(CH₃)COO-); 4,32-4,21 (m, 3H, -COOCH₂-, -CH(CH₃)CONH-); 3,70 (t, J = 4,8 Hz, 2H, -COOCH₂CH₂); 3,63-3,61 (m, 10H, -CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃); 3,54-3,51 (m, 2H, -CH₂OCH₃); 3,36 (s, 3H, -OCH₃); 1,63 (d, J = 6,9 Hz, 3H, CH(CH₃)CONH-); 1,46 (d, J = 7,2 Hz, 3H, -CH(CH₃)COO-) RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): 171,5 (-CH(CH₃)COO-); 30 165,4 (-CH(CH₃)CONH-); 160,5 (-NC); 78,1; 71,4; 70,1; 70,0; 68,3; 64,2 (-COOCH₂CH₂-); 58,5 (-OCH₃); 52,9; 52,8; 48,1 (-CH(CH₃)-); 19,2 (-CH(CH₃)CONH-); 17,5 (-CH(CH₃)CONH-) FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3313 (N-H); 2880, 2875 (C-H); 2140 (N≡C isocianuro); 1740 (C=O éster); 1680 (C=O amida I); 1531 (N-H amida II); 1201 (C-O éster); 1103, 1026 (C-O éteres) HRMS (ESI): m/z ([M+Na]⁺: C₁₆H₂₈N₂O₆Na), calculado 383,17889; encontrado 383,17942 [α]_D²⁰: -5 35 grados (c 0,51; CH₂Cl₂).

Ejemplo 12: Síntesis de poli(2-metoxietiloxietiloxietoxilo-(L)-alaninamido-(D)-isocianilalanina)

A una solución de monómero (40 mg, 15 mmol) en tolueno recién destilado (3 ml) se le añadió una solución de Ni(ClO₄)₂·H₂O (0,147 mol/l, 10 μl) en tolueno-metanol al 30 %. La mezcla de reacción se agitó vigorosamente bajo 40 aire en un matraz sellado, durante dos horas. El disolvente se evaporó y el polímero crudo se redisolvió en CHCl₃ (3 ml). Se precipitó contra éter dietílico (10 ml) y se recogió por centrifugación (3500 rpm, 7 min). El precipitado amarillo pálido se redisolvió en CHCl₃ (3 ml) y se precipitó contra éter dietílico (10 ml) y se recogió por centrifugación otras dos veces antes de secarse al vacío para producir polímero (29,2 mg, 10,9 mmol, 73 %) como un sólido vídrioso amarillo-marrón.

45 RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 3,74-3,36 (br m, 13H); 1,60 (br s, 6H); FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3263 (N-H); 2927, 2880 (C-H); 1740 (C=O); 1656 (C=O amida I); 1531 (N-H amida II); 1214 (C-O éster); 1108 (C-O éteres) [α]_D²⁰: +75 (c 0,03; CH₂Cl₂) Mn: 478 KDa, Mw: 716 KDa.

50 El compuesto 1b (40 mg, XX) se disolvió en tolueno recién destilado (2 ml) y se añadió una solución de Ni(ClO₄)₂·H₂O previamente disuelto en una mezcla de tolueno y metanol (2-1). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 4 h. La solución viscosa se diluyó con tetrahidrofurano (4 ml) y se precipitó contra éter dietílico (15 ml). El precipitado se recogió por centrifugación (6 min, 4000 rpm) y el sobrenadante se eliminó. El material similar al gel se redisolvió con tetrahidrofurano (6 ml) y se precipitó contra dietiléter (15 ml). El ciclo se 55 repitió 3 veces para producir un sólido vídrioso incoloro a amarillo pálido.

Ejemplo 13: polimerización del compuesto 1c

El compuesto 1c se polimerizó siguiendo el mismo procedimiento que el compuesto 1b.

60 Ejemplo 14: copolimerización de los compuestos 1b y 1c

Se trató una mezcla de ambos compuestos 1b y 1c con (Ni₉ClO₄)₂ siguiendo el mismo procedimiento que para el compuesto 1b

65 Ejemplo 15: copolimerización de los compuestos 1c y 1d

La copolimerización de 1c y 1d se realizó siguiendo el mismo procedimiento que en el ejemplo 14.

Ejemplo 16: Influencia del disolvente utilizado en el proceso de polimerización

5 Se usaron los mismos monómeros que en los ejemplos descritos anteriormente.

[Ni(ClO ₄) ₂ ·H ₂ O] (% en moles)	1 ^a			0,1 ^a			0,01 ^b		
	rendimiento (%)	Mw ^c (Da)	PDI ^c	rendimiento (%)	Mw ^c (Da)	PDI ^c	rendimiento (%)	Mw ^c (Da)	PDI ^c
tolueno	90	505000	3,01	88	nd ^d	nd ^d	78	nd ^d	nd ^d
tetrahidrofurano	83	554000	2,79	38	652000	2,30	0,4	nd ^e	nd ^e
diclorometano	57	145000	1,88	28	144000	1,86	5	122000	1,88
metanol	51	248000	2,75	4	72000	1,42	0	-	-

condiciones de reacción:
^a isocianuro 20 mg/ml, catalizador disuelto en mezclas de metanol-tolueno 1-2, 4 h, TA
^b isocianuro 20 mg/ml, catalizador disuelto en mezclas de metanol-tolueno 1-2, 12 h, TA
^c Los resultados obtenidos por cromatografía analítica de permeación en gel, columna ReproGel (300 X 8 mm, 5 µm, lineal, Dr. Maisch GmbH, Ammerbuch-Entringen, Alemania) se procesan a 35 °C con THF-bromuro de tetrabutilamonio al 0,25 %. Calibración utilizada: patrones de poli(etilenglicol).
^d no determinado: fracción sustancial de todo el polímero por encima del límite de resolución de la columna (2.000 .000 Da).
^e no determinado: para baja cantidad de material recolectado para realizar un análisis adecuado.

Ejemplo 17

10 Síntesis del polímero *poli-1a*

A una solución de 1a (40 mg, 15 mmol) en tolueno recién destilado (3 ml) se le añadió una solución de Ni(ClO₄)₂·H₂O (0,147 mol/l, 10 µl) en tolueno-metanol al 30 %. La mezcla de reacción se agitó vigorosamente bajo aire en un matraz sellado, durante dos horas. El disolvente se evaporó y el polímero crudo se redisolvió en CHCl₃ (3 ml). Se precipitó contra éter dietílico (10 ml) y se recogió por centrifugación (3500 rpm, 7 min). El precipitado amarillo pálido se redisolvió en CHCl₃ (3 ml) y se precipitó contra éter dietílico (10 ml) y se recogió por centrifugación otras dos veces antes de secarse al vacío para producir *poli-1a* (29,2 mg, 10,9 mmol, 73 %) como un sólido vidrioso amarillo-marrón.

15 RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 3,74-3,36 (br m, 13H); 1,60 (br s, 6H); FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3263 (N-H); 2927, 2880 (C-H); 1740 (C=O); 1656 (C=O amida I); 1531 (N-H amida II); 1214 (C-O éster); 1108 (C-O éteres) [α]_D²⁰: +75 (c 0,03; CH₂Cl₂) Mn: 478 KDa Mw: 716 KDa.

Síntesis de polímero *poli-1b*

25 Se preparó *poli-1b* usando el mismo procedimiento descrito para *poli-1a*, con la excepción de que se usó tetrahidrofurano para redissolver el polímero durante la purificación. Se usaron los siguientes reactivos:

1b (40 mg, 12,6 mmol), solución de Ni(ClO₄)₂·H₂O (0,126 mol/l, 10 µl), en tolueno (2 ml). La purificación de la mezcla

30 cruda produjo *poli-1b* (33,7 mmol, 10,7 mmol, 85 %) como un sólido vidrioso de color amarillo intenso. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 3,68-3,34 (br m, 17H); 1,58 (br s, 6H); FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3260 (N-H); 2917, 2875 (C-H); 1740 (C=O); 1657 (C=O amida I); 1530 (N-H amida II); 1210 (C-O éster); 1105 (C-O éteres) [α]_D²⁰: +105 (c 0,03; CH₂Cl₂) Mn: 830 KDa Mw: 1327 KDa. 1b (41 mg, 12,9 mmol), solución de Ni(ClO₄)₂·H₂O (1,29 mmol/l, 10 mL), en tolueno (2 mL).

La purificación de la mezcla cruda produjo *poli-1b* (32,0 mmol, 10,1 mmol, 78 %) como un sólido vidrioso de color

35 amarillo pálido. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 3,68-3,34 (br m, 17H); 1,58 (br s, 6H); FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3260 (N-H); 2917, 2875 (C-H); 1740 (C=O); 1657 (C=O amida I); 1530 (N-H amida II); 1210 (C-O éster); 1105 (C-O éteres) Mn: 2306 KDa Mw: 3458 KDa.

Síntesis de polímero *poli-1c*

40 Se preparó *poli-1c* usando el mismo procedimiento que el descrito para *poli-1b*. Se usaron los siguientes reactivos: 1c (50,1 mg, 13,8 mmol), solución de Ni(ClO₄)₂·H₂O (0,138 mol/l, 10 µl), en tolueno (2,5 ml). La purificación de la mezcla cruda produjo *poli-1c* (45,2 mg, 12,5 mmol, 90 %) como un sólido vidrioso de color amarillo intenso.

45 RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 3,71-3,35 (br m, 21H); 1,63 (br s, 6H); FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3261 (N-H); 2917, 2879 (C-H); 1740 (C=O); 1656 (C=O amida I); 1529 (N-H amida II); 1213 (C-O éster); 1109 (C-O éteres) [α]_D²⁰: +175 (c 0,01; CH₂Cl₂); [α]_D²⁰: +169 (c 0,03; H₂O) Mn: 249 KDa Mw: 323 KDa.

1c (56,3 mg, 15,6 mmol), solución de Ni(ClO₄)₂·H₂O (1,56 mmol/l, 10 mL), en tolueno (2,8 mL). La purificación de la mezcla cruda produjo *poli-1b* (43,9 mmol, 12,2 mmol, 78 %) como un sólido vidrioso de color amarillo pálido. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 3,71-3,35 (br m, 14H); 1,63 (brs, 6H); FT-IR (cm⁻¹, ATR): 3260 (N-H); 2917, 2875 (C-H); 1740 (C=O); 1657 (C=O amida I); 1530 (N-H amida II); 1210 (C-O éster); 1105 (C-O éteres) Mn: 1589 KDa Mw: 2702 KDa.

Referencias

- (1) Lutz, J. F. *J Polym Sci Pol Chem* 2008, 46, 3459-3470.
- (2) Neugebauer, D. *Polym. Int.* 2007, 56, 1469-1498.
- (3) Aoshima, S.; Oda, H.; Kobayashi, E. *J Polym Sci Pol Chem* 1992, 30, 2407-2413.
- (4) Aoshima, S.; Kobayashi, E.; Huthig & Wepf Verlag: 1995, p 91-102.
- (5) Hua, F. J.; Jiang, X. G.; Li, D. J.; Zhao, B. *J Polym Sci Pol Chem* 2006, 44, 2454-2467.
- (6) Wang, X. S.; Armes, S. P. *Macromolecules* 2000, 33, 6640-6647.
- (7) Ishizone, T.; Han, S.; Okuyama, S.; Nakahama, S. *Macromolecules* 2003, 36, 42-49.
- (8) Han, S.; Hagiwara, M.; Ishizone, T. *Macromolecules* 2003, 36, 8312-8319.
- (9) Oh, J. K.; Min, K.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* 2006, 39, 3161-3167.
- (10) Yamamoto, S.; Pietrasik, J.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* 2007, 40, 9348-9353.
- (11) Zhao, B.; Li, D. J.; Hua, F. J.; Green, D. R. *Macromolecules* 2005, 38, 9509-9517.
- (12) Hase, Y.; Mitsutsuji, Y.; Ishikawa, M.; Maeda, K.; Okoshi, K.; Yashima, E. *Chem.-Asian J.* 2007, 2, 755-763.
- (13) Kitto, H. J.; Schwartz, E.; Nijemeisland, M.; Koepf, M.; Cornelissen, J.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M. *J Mater Chem* 2008, 18, 5615-5624.
- (14) Roks, M. F. M.; Nolte, R. J. M. *Macromolecules* 1992, 25, 5398-5407.
- (15) Millich, F. *Macromolecular Reviews Part D-Journal of Polymer Science* 1980, 15, 207-253.
- (16) Nolte, R. J. M. *Chem. Soc. Rev.* 1994, 23, 11-19.
- (17) Suginome, M.; Ito, Y. In *Polymer Synthesis*; Springer-Verlag Berlin: Berlin, 2004; Vol. 171, p 77-136.
- (18) *Foldamers: Structure, Properties, and Applications*; Otten, M. B. J. M., G. A.; Cornelissen, J. J. L. M.; Rowan, A. E.; Nolte Roeland, J. M., Ed.; Wiley: Weinheim, 2007.
- (19) Kumaki, J.; Sakurai, S.; Yashima, E. *Chem. Soc. Rev.* 2009, 38, 737-746.
- (20) Cornelissen, J.; Donners, J.; de Gelder, R.; Graswinckel, W. S.; Metselaar, G. A.; Rowan, A. E.; Sommerdijk, N.; Nolte, R. J. M. *Science* 2001, 293, 676-680.
- (21) Okoshi, K.; Nagai, K.; Kajitani, T.; Sakurai, S. I.; Yashima, E. *Macromolecules* 2008, 41, 7752-7754.
- (22) de Witte, P. A. J.; Castriciano, M.; Cornelissen, J.; Scolaro, L. M.; Nolte, R. J. M.; Rowan, A. E. *Chem-Eur J* 2003, 9, 1775-1781.
- (23) Hernando, J.; de Witte, P. A. J.; van Dijk, E.; Kortkerik, J.; Nolte, R. J. M.; Rowan, A. E.; Garcia-Parajo, M. F.; van Hulst, N. F. *Angew Chem Int Edit* 2004, 43, 4045-4049.
- (24) Finlayson, C. E.; Friend, R. H.; Otten, M. B. J.; Schwartz, E.; Cornelissen, J.; Nolte, R. L. M.; Rowan, A. E.; Samori, P.; Palermo, V.; Liscio, A.; Peneva, K.; Mullen, K.; Trapani, S.; Beljonne, D. *Adv. Funct. Mater.* 2008, 18, 3947-3955.
- (25) Schwartz, E.; Palermo, V.; Finlayson, C. E.; Huang, Y. S.; Otten, M. B. L.; Liscio, A.; Trapani, S.; Gonzalez-Valls, I.; Brocorens, P.; Cornelissen, J.; Peneva, K.; Mullen, K.; Spano, F. C.; Yartsev, A.; Westenhoff, S.; Friend, R. H.; Beljonne, D.; Nolte, R. J. M.; Samori, P.; Rowan, A. E. *Chem-Eur J* 2009, 15, 2536-2547.
- (26) Lutz, J. F.; Hoth, A. *Macromolecules* 2006, 39, 893-896.
- (27) Millich, F. *Chem Rev* 1972, 72, 101-&.
- (28) Metselaar, G. A.; Cornelissen, J.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M. *Angew Chem Int Edit* 2005, 44, 1990-1993.
- (29) Nolte, R. J. M.; Drenth, W. *Redl Trav Chim Pays-Bas* 1973, 92, 788-800.
- (30) Kajitani, T.; Okoshi, K.; Sakurai, S. I.; Kumaki, J.; Yashima, E. *J Am Chem Soc* 2006, 128, 708-709.
- (31) Kajitani, T.; Okoshi, K.; Yashima, E. *Macromolecules* 2008, 41, 1601-1611.
- (32) Wezenberg, S. J.; Metselaar, G. A.; Rowan, A. E.; Cornelissen, J.; Seebach, D.; Nolte, R. J. M. *Chem-Eur J* 2006, 12, 2778-2786.
- (33) Schwartz, E.; Kitto, H. J.; de Gelder, R.; Nolte, R. J. M.; Rowan, A. E.; Cornelissen, J. *J Mater Chem* 2007, 17, 1876-1884.
- (34) *Thermoreversible Gelation of Polymers and Biopolymers*; Guenet, J. M., Ed.; Academic Press: New York, 1992.
- (35) Nowak, A. P.; Breedveld, V.; Pakstis, L.; Ozbas, B.; Pine, D. J.; Pochan, D.; Deming, T. J. *Nature* 2002, 417, 424-428.
- (36) Breedveld, V.; Nowak, A. P.; Sato, J.; Deming, T. J.; Pine, D. J. *Macromolecules* 2004, 37, 3943-3953.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento de preparación de isocianopéptido(s) de polioligo(alquilenglicol) que comprende las etapas de funcionalizar un isocianopéptido con cadenas laterales de oligo-(alquilenglicol), que tiene menos de 10 unidades de alquilenglicol, y posteriormente polimerizar los isocianopéptidos funcionalizados con oligo-alquilenglicol en un disolvente orgánico en presencia de un catalizador de níquel (II), por lo que los isocianopéptidos funcionalizados son isocianopéptidos sustituidos con alquilenglicol con un motivo peptídico sustituido en el terminal C con la cadena de oligo(alquilenglicol) obtenida mediante un proceso en el que un residuo de aminoácido se acopla a una cadena de (alquilen)glicol, seguido de un acoplamiento peptídico secuencial para introducir el número deseado de sustituyentes de aminoácidos, seguido luego por la formilación del terminal N del segmento peptídico y la posterior deshidratación para proporcionar dicho isocianopéptido funcionalizado con oligoalquilenglicol.
- 10
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el isocianopéptido es un isocianodipéptido.
- 15 3. Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que varios isocianopéptidos se funcionalizan con diferentes cadenas laterales de oligo(alquilenglicol) que tienen una longitud de cadena variable.
4. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, mediante el cual el alquilenglicol es etilenglicol, propilenglicol, butilenglicol o pentilenglicol.
- 20 5. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de la reivindicación 4, en el que el alquilenglicol es etilenglicol.
6. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, mediante el cual el isocianopéptido se funcionaliza con al menos 3 unidades de etilenglicol.
- 25 7. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, mediante el cual el monómero isocianopéptido comprende D-, L- y/o D,L-aminoácidos.
- 30 8. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la etapa de funcionalización y/o polimerización se realiza en un disolvente apolar.
9. Isocianopéptido(s) de polioligo(alquilenglicol) obtenibles por un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8.
- 35 10. Hidrogeles que comprenden los isocianopéptido(s) de polioligo(alquilenglicol) de acuerdo con la reivindicación 9.
11. Uso de los hidrogeles de acuerdo con la reivindicación 10 para modificación de tejidos o regeneración de neuronas.
- 40 12. Recubrimientos que comprenden el poliisocianopéptido funcionalizado con oligoalquilenol de acuerdo con la reivindicación 9.

Figura 1

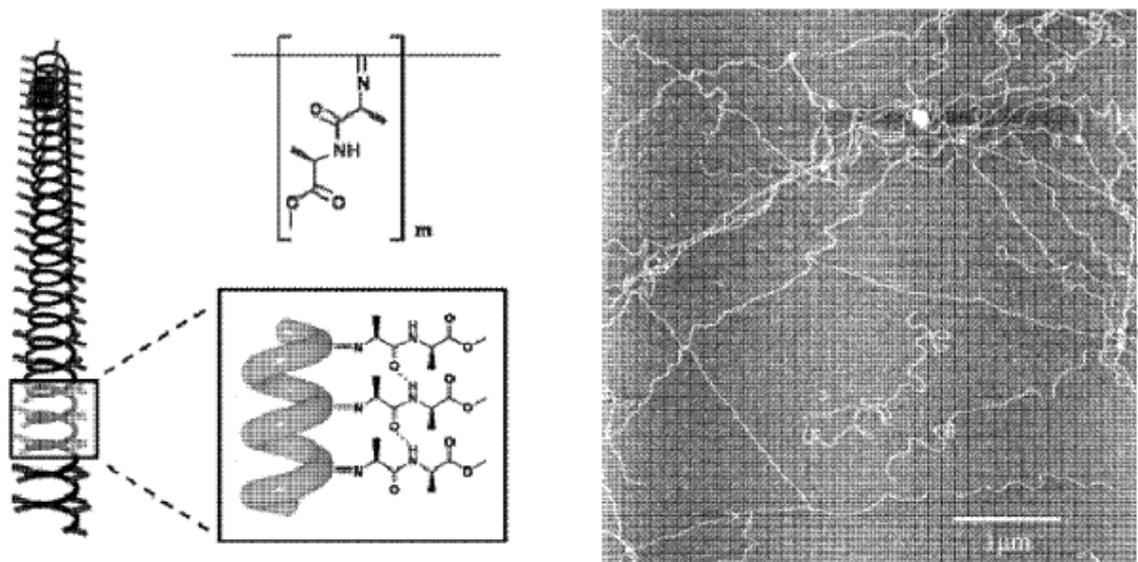


Figura 2

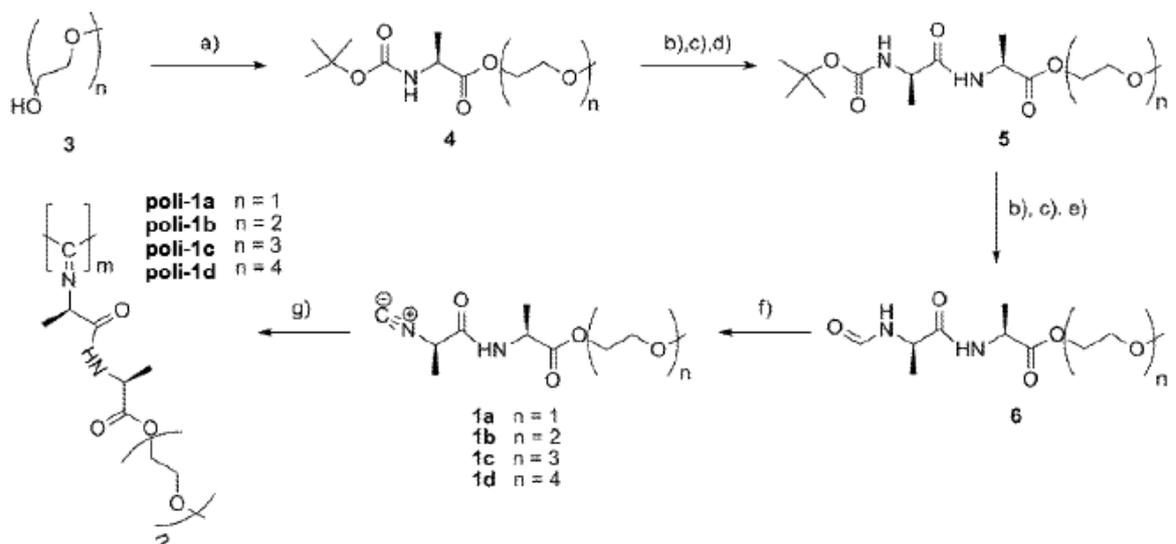


Figura 3

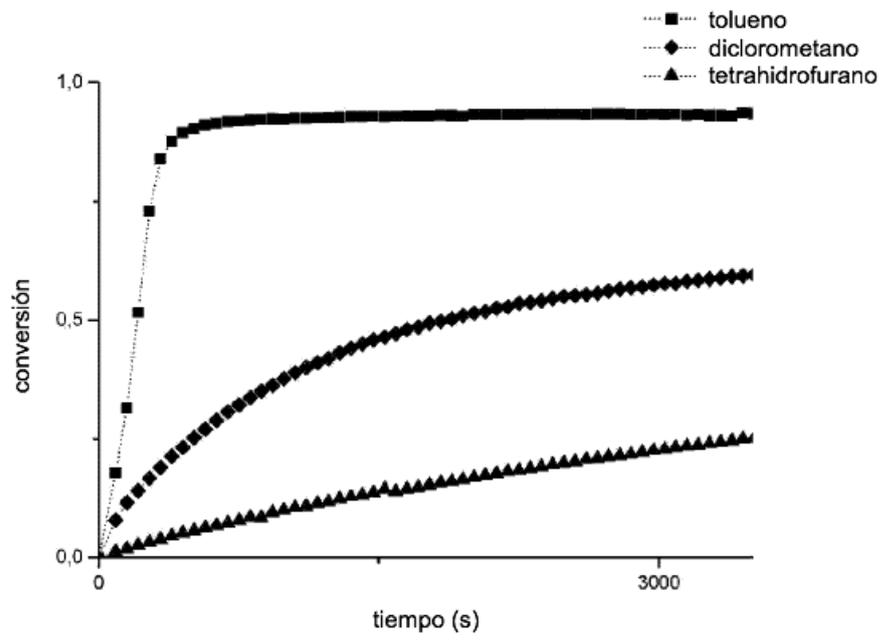


Figura 4

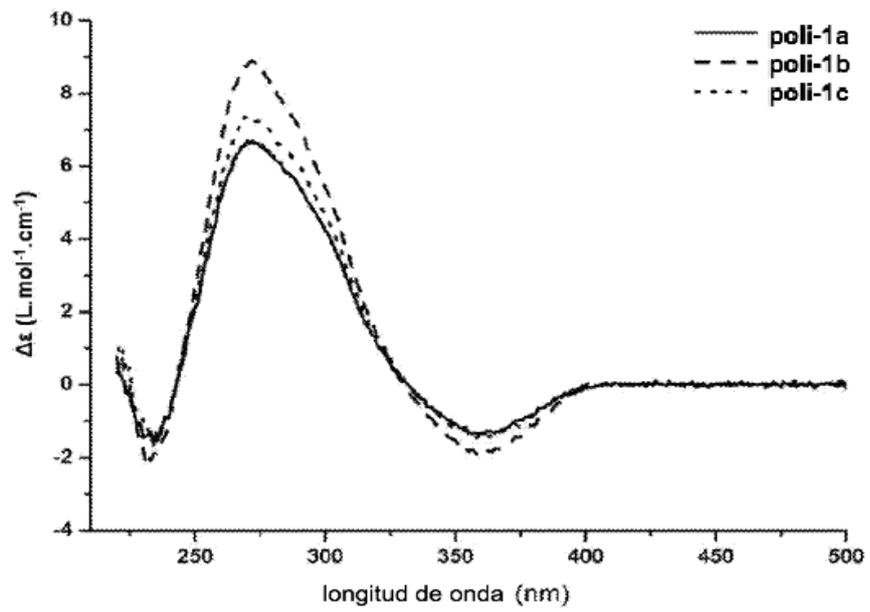


Figura 5

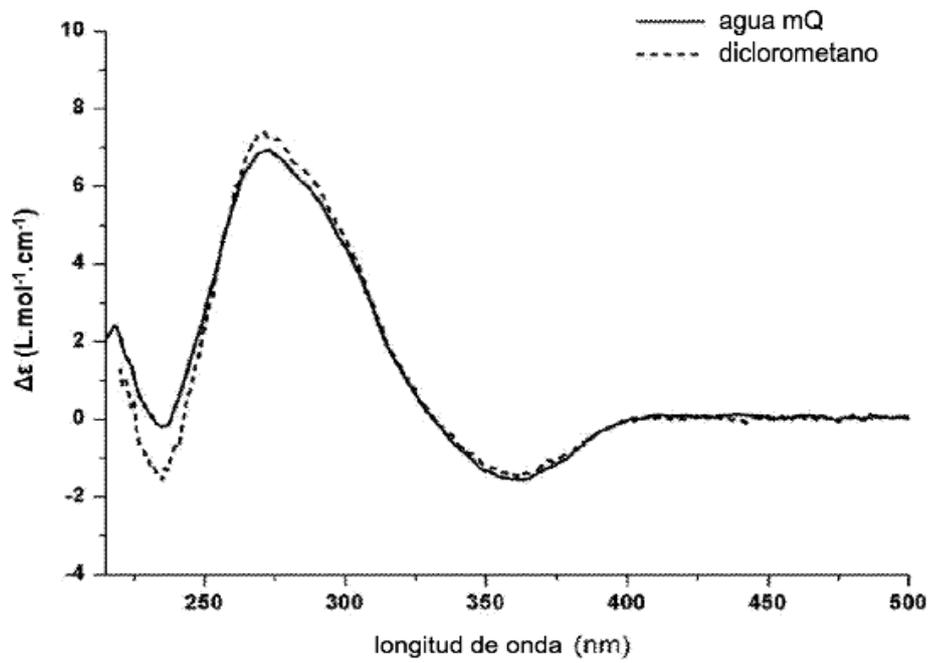
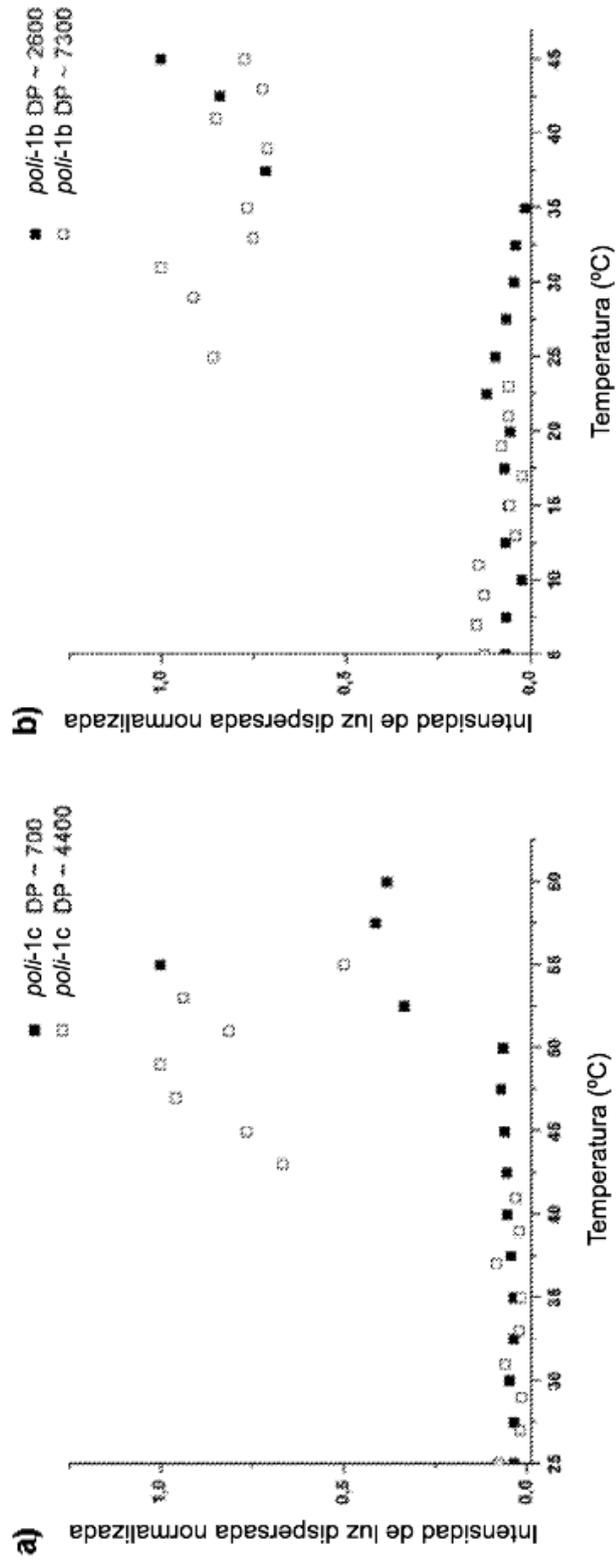
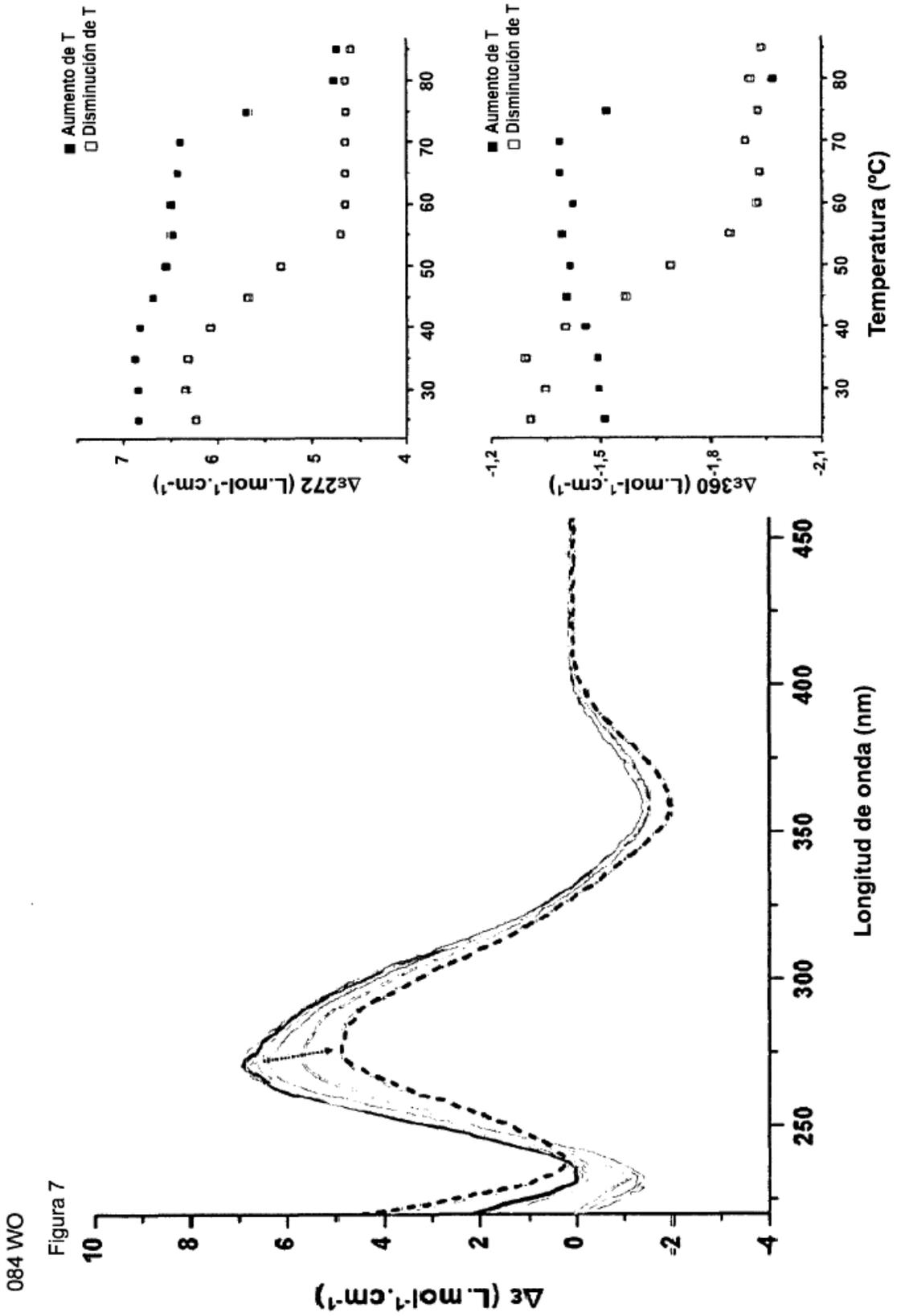


Figura 6





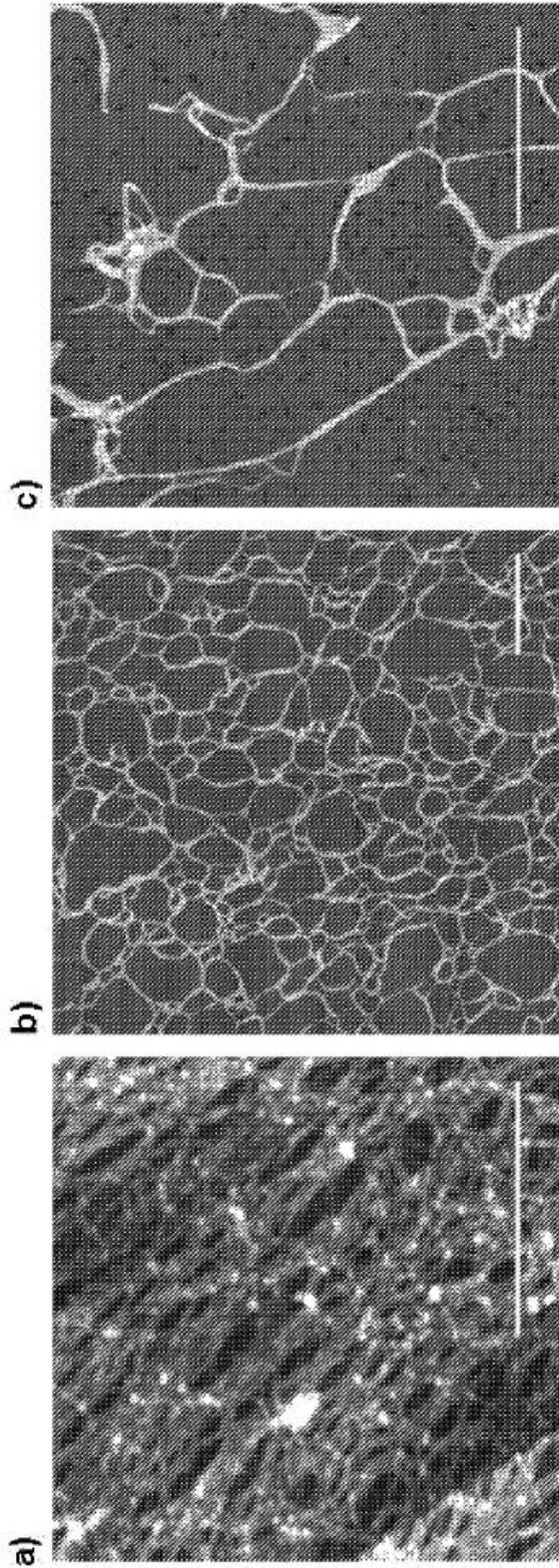


Figura 8

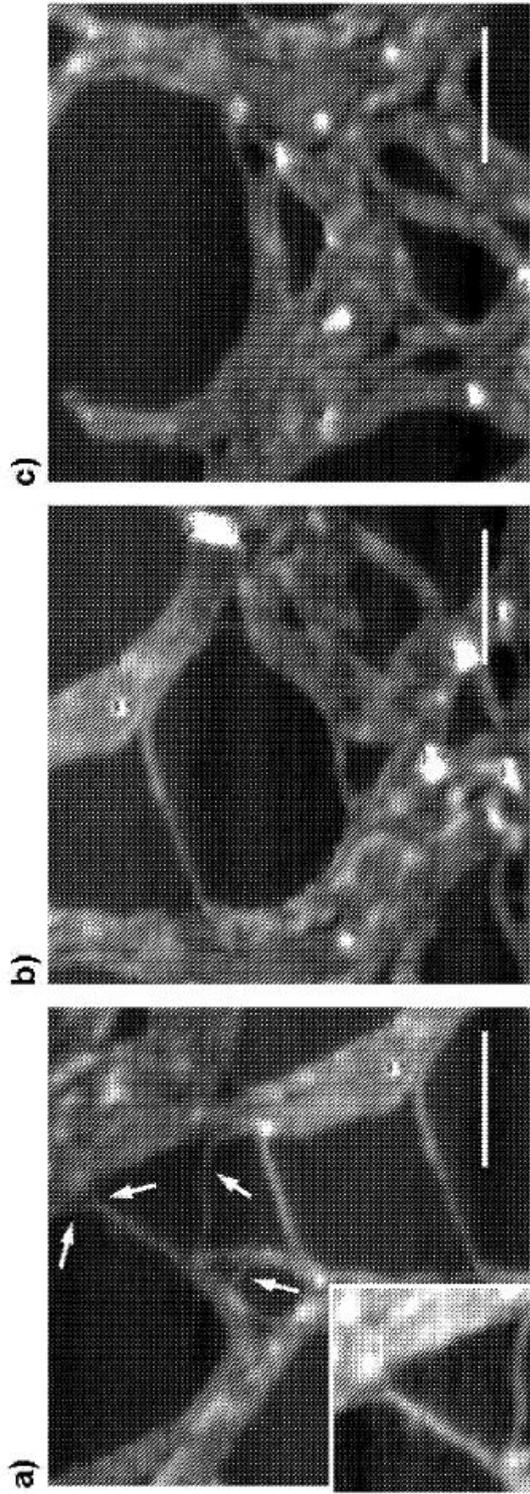


Figura 9

Figura 10

