



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 330 694**

51 Int. Cl.:

C08F 8/00 (2006.01)

A61F 2/00 (2006.01)

B32B 27/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **99921514 .8**

96 Fecha de presentación : **29.04.1999**

97 Número de publicación de la solicitud: **1086149**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.03.2001**

54 Título: **Tensioactivos que se mimetizan como glicocálix.**

30 Prioridad: **29.04.1998 US 83544 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.12.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.12.2009

73 Titular/es: **Roger E. Marchant**
2715 Fairmount Boulevard
Cleveland Heights, Ohio 44106, US
Tianhong Zhang,
Yongxing Qiu y
Mark A. Ruegsegger

72 Inventor/es: **Marchant, Roger E.;**
Zhang, Tianhong;
Qiu, Yongxing y
Ruegsegger, Mark A.

74 Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 330 694 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

Tensioactivos que se mimetizan como glicocálix.

La presente invención proporciona polímeros tensioactivos de tipo peine que son útiles para cambiar las propiedades superficiales de biomateriales sintéticos, particularmente biomateriales implantables.

La utilización de biomateriales sintéticos para sostener, aumentar o reemplazar completamente órganos humanos enfermos ha aumentado mucho en los últimos treinta años. Los biomateriales sintéticos se usan en implantes sintéticos tal como injertos vasculares, válvulas cardíacas, y dispositivos de ayuda ventricular que tienen aplicaciones cardiovasculares. Los biomateriales sintéticos también se usan en sistemas extracorpóreos y un amplio rango de sistemas de tratamiento invasivo y diagnóstico. Desafortunadamente, los materiales existentes sufren de problemas bien conocidos asociados con la trombosis inducida en superficie o la formación de coágulos, tal como oclusión trombótica y tromboembolia, e infección.

Han habido varios intentos de crear superficies no trombogénicas en implantes sintéticos, aumentando así la biocompatibilidad sanguínea de los implantes. Los primeros intentos incluían el recubrimiento previo de los implantes con proteínas no implicadas en la trombosis, tal como albúmina, para enmascarar la superficie trombogénica del implante. Sin embargo, estos implantes pierden sus propiedades no trombogénicas en un corto periodo de tiempo. Se han hecho intentos para enmascarar la superficie trombogénica mediante un recubrimiento de gelatina sobre implantes tales como dispositivos de ayuda ventricular. Aunque el recubrimiento de gelatina reduce la formación de trombos, no se adhería al implante y no evitaba la tromboembolia y la infección.

Se han realizado intentos para hacer los implantes no trombogénicos mediante el recubrimiento de la superficie del implante con óxido de polietileno para enmascarar la superficie trombogénica del implante. En momentos este tratamiento redujo la adsorción de proteínas y la trombogénesis. Sin embargo, el acoplamiento del óxido de polietileno con la superficie del implante implica procedimientos químicos de inmovilización complejos. Además, los implantes recubiertos no presentan de manera consistente resistencia a las proteínas debido a la falta de control sobre la densidad del óxido de polietileno inmovilizado.

Han habido muchos intentos de preparar superficies no trombogénicas fijando heparina a los biomateriales. Sin embargo, cada procedimiento requiere complejos procedimientos de inmovilización de manera que la superficie del implante se modifique primero mediante la fijación de una molécula de acoplamiento antes de que la heparina se pueda fijar. Por ejemplo, el agente de acoplamiento cargado de manera positiva cloruro de tridodecilmetilamonio (TDMAC) se recubre sobre un implante, que proporciona una superficie cargada de manera positiva y permite que la heparina, que tiene una alta densidad de carga negativa, se fije. Sin embargo, la heparina se disocia lentamente de la superficie, para exponer la superficie TDMAC carga positivamente, que es particularmente trombogénica. Así, el implante recubierto con heparina TDMAC es exitoso solamente para implantes a corto plazo, tales como catéteres.

A pesar de estos esfuerzos de investigación considerables, los biomateriales sintéticos y dispositivos médicos hechos de estos biomateriales todavía sufren de problemas bien conocidos asociados con la trombosis inducida superficial e infecciones. En consecuencia, es deseable tener nuevos materiales que se puedan usar para recubrir biomateriales y cambiar sus propiedades superficiales. Los materiales que son útiles para evitar adhesiones indeseables, tales como proteínas, o promover adhesiones deseables, tales como células endoteliales, son especialmente deseables.

Descripción de la invención

Según la presente invención, se proporcionan nuevos polímeros tensioactivos de tipo peine que son útiles para cambiar las propiedades superficiales de los biomateriales. Estos polímeros tensioactivos comprenden una columna polimérica de unidades monoméricas repetidas acopladas a cadenas laterales que son: (a) una pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas y (b) una pluralidad de cadenas laterales hidrofílicas. Las cadenas laterales hidrofóbicas comprenden un grupo alquilo ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n$) que comprende entre 2 y 18 grupos de metileno. Los grupos alquilo están enlazados con la columna polimérica a través de uno o más enlaces de éster, enlaces de amina secundaria, o preferiblemente enlaces de amida. La cadena lateral hidrofílica comprende un oligopéptido de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 30 residuos de aminoácidos, teniendo dicho oligopéptido una secuencia de aminoácidos que interactúa con receptores de proteínas sobre la superficie de las células. Puede haber una segunda pluralidad de cadenas laterales hidrofílicas seleccionadas entre oligosacáridos neutros que, preferiblemente, tienen un peso molecular promedio menor de 7000; y oligosacáridos cargados, preferiblemente cargados negativamente que tienen un peso molecular promedio menor de 10.000. Una secuencia de aminoácidos preferida que se conoce que interactúa con moléculas sobre la superficie de las células es arginina (R), glicina (G), y ácido aspártico (D). Las cadenas laterales hidrofílicas están enlazadas con la columna polimérica a través de uno o más enlaces de éster, enlaces de amina secundaria, o preferiblemente, enlaces de amida. Se ha mostrado que la modificación superficial efectiva de los biomateriales se puede realizar usando los polímeros tensioactivos de la presente invención sin ningún requerimiento para la química del acoplamiento superficial.

La presente invención también proporciona un procedimiento de promoción de la adhesión de células animales a una superficie de un biomaterial implantable fijando un polímero tensioactivo de tipo peine de la presente invención a una superficie hidrofóbica del mismo.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 es una representación esquemática de la ruta sintética a la poli(vinil amina) y la derivación de la poli(vinil amina) con (1) dextrano lactona y (2) (N-hexanoiloxi)succinimida.

La figura 2 muestra imágenes de contraste de fase que muestran la fijación y el crecimiento de células endoteliales de vena umbilical humana en superficies recubiertas con tensioactivo después de 72 horas.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona nuevos polímeros tensioactivos de tipo peine que imitan el glicocálix. El glicocálix es la región rica en oligosacáridos en la superficie de las células. El glicocálix sirve para evitar adhesiones biológicas indeseables, mientras que las proteínas integradas en el glicocálix de la membrana de la célula sirven para promover adhesiones específicas deseables.

Los polímeros tensioactivos de tipo peine de la presente invención comprenden una cadena polimérica (preferiblemente flexible) que está enlazada con una pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas y con una pluralidad de cadenas laterales hidrofílicas. La columna polimérica es preferiblemente de conformación flexible. Preferiblemente, la cadena polimérica está formada a partir de un homopolímero que contiene una pluralidad de grupos laterales funcionales tales como por ejemplo grupos OH, grupos COOH o grupos NH_2 . Aunque menos preferido, la columna polimérica se puede formar a partir de un copolímero que tiene una combinación de grupos laterales funcionales. Por ejemplo, el copolímero puede tener grupos laterales OH y grupos laterales NH_2 . Homopolímeros adecuados para formar el polímero tensioactivo de tipo peine son, a modo de ejemplo, polilisina, poli(vinil alcohol) o poli(vinil amina). Preferiblemente, la cadena polimérica está formada a partir de una poli(vinil amina).

Las cadenas laterales hidrofóbicas comprenden entre aproximadamente 2 y 18 grupos de metileno, preferiblemente entre aproximadamente 4 y 12 grupos de metileno, más preferiblemente entre aproximadamente 4 y 10 grupos de metileno, y están enlazados con la columna polimérica a través de un enlace de éster, un enlace de amina secundaria, o preferiblemente, un enlace de amida. Preferiblemente, las cadenas laterales hidrofóbicas están unidas a la cadena polimérica mediante la reacción de un alcanol ($\text{CH}_3(-\text{CH}_2-)_n\text{CO}-$) o un alcanal ($\text{CH}_3(\text{CH}_2-)_n\text{CHO}$) con el homopolímero de la cadena usando procedimientos convencionales. Por ejemplo, una pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas pueden estar enlazadas con poli(vinil amina) mediante procedimientos estándar que usan las correspondientes N-alcanoloxi succinimida y poli(vinil amina) como reactantes.

Las cadenas laterales hidrofílicas comprenden un oligopéptido de entre aproximadamente 3 y 30 residuos de aminoácidos, teniendo dicho oligopéptido una secuencia de aminoácido que interactúa con receptores de proteínas sobre la superficie de las células; y combinaciones de las mismas. Las cadenas laterales hidrofílicas están enlazadas con la columna polimérica a través de un enlace de éster, un enlace de amina secundaria, o preferiblemente un enlace de amida. También pueden incluir un oligosacárido neutro que tiene preferiblemente un peso molecular promedio menor de 7000; y/o un oligosacárido cargado que tiene un peso molecular promedio menor de 10.000. En una realización preferida, una pluralidad de oligopéptidos y una pluralidad de oligosacáridos están fijados a la columna polimérica.

Para formar un recubrimiento con bloques de adhesión de proteínas de plasma no específicas sobre la superficie del sustrato, el polímero tensioactivo incluye preferiblemente una pluralidad de cadenas laterales hidrofílicas formadas a partir de oligosacáridos. Estos polímeros tensioactivos pueden ser no iónicos o iónicos. Los oligosacáridos adecuados incluyen, pero no están limitados a, oligosacáridos neutros que tienen un peso molecular promedio menor de aproximadamente 7000. Ejemplos de estos oligosacáridos neutros incluyen dextrano, que está compuesto de residuos de glucosa enlazados $\alpha(1\rightarrow6)$, y una oligomaltosa, que está compuesta de unos residuos de glucosa enlazados $(1\rightarrow4)$. Estas cadenas laterales de oligosacáridos están fijadas a las aminas reactivas de la poli(vinil amina) mediante procedimientos estándar que utilizan el polímero y la forma de lactona correspondiente del oligosacárido como reactantes.

Las cadenas laterales hidrofílicas también pueden incluir unas formadas a partir de oligosacáridos cargados de manera que, por ejemplo, los oligosacáridos que se obtienen como, por ejemplo, los oligosacáridos que se obtienen de la heparina. Los oligosacáridos de heparina están hidratados y cargados negativamente, lo que proporciona una fuerza electrostática de repulsión adicional que también repele las proteínas de plasma y elementos celulares tales como las plaquetas. El oligosacárido de heparina contiene la única secuencia de pentasacárido que es esencial para la actividad anticoagulante de la heparina. El producto de la heparina de separación deaminativa de la heparina posee una unidad de 2,5 anhidromanosa terminal. En una realización preferida, el aldehído terminal de la 2,5 anhidromanosa reacciona con las aminas de la columna polimérica a través de aminación reductiva para formar una amina secundaria.

Otros oligosacáridos cargados adecuados para formar recubrimientos que son no adhesivos para las proteínas de plasma incluyen sulfato de dermatano, y sulfato de dextrano, que están hidratados y cargados negativamente y sirven para repulsar las proteínas y las plaquetas. Preferiblemente, estos oligosacáridos cargados están enlazados con la columna mediante un enlace de amida que se forma convirtiendo el extremo de reducción del oligosacárido en una lactona y a continuación reaccionando selectivamente la lactona con los grupos de amina funcionales en el homopolímero. Alternativamente, los oligosacáridos cargados están enlazados con la columna mediante aminación reductiva,

que implica una reacción entre un grupo amina en el polímero y un aldehído terminal en el oligosacárido. El enlace resultante es una amina secundaria.

La relación de cadenas laterales hidrofóbicas y las cadenas de oligosacáridos hidrofílicas en la columna del polímero está diseñada para conseguir un equilibrio hidrofílico e hidrofóbico que permita que el tensioactivo se adsorba sobre la superficie hidrofóbica del biomaterial y, preferiblemente, que permita que las cadenas laterales hidrofílicas se extiendan desde la superficie del biomaterial en un medio acuoso circundante. El equilibrio hidrofílico e hidrofóbico depende de la densidad de las cadenas laterales hidrofóbicas e hidrofílicas y de la longitud de las cadenas laterales hidrofóbicas y las cadenas laterales hidrofílicas. La adhesión del polímero de absorción sobre la superficie hidrofóbica del biomaterial se mejora mediante el aumento de la longitud, es decir, el número de grupos de metileno de la cadena lateral hidrofóbica, aumentando la densidad de las cadenas laterales hidrofóbicas respecto a las cadenas laterales hidrofílicas, y/o reduciendo la longitud de las cadenas laterales hidrofílicas. Así, para un polímero tensioactivo en el que las cadenas laterales hidrofílicas están formadas a partir de cadenas laterales de dextrano compuestas de 9 residuos de glucosa y a partir de cadenas laterales de alcanol hidrofóbico que comprende 4 grupos de metileno, la relación preferida de cadenas laterales hidrofílicas y cadenas laterales hidrofóbicas es entre aproximadamente 2:1 y 1:6, más preferiblemente entre aproximadamente 1: 1 y 1:5. Si las cadenas laterales hidrofóbicas comprenden 10 grupos de metileno y las cadenas laterales hidrofílicas son cadenas laterales de dextrano compuestas de 9 residuos de glucosa, la relación preferida de cadenas laterales hidrofílicas y cadenas laterales hidrofóbicas es de 3:1 a aproximadamente 1:5, más preferiblemente entre aproximadamente 2:1 y 1:3.

En aquellos casos donde la relación de las cadenas laterales de oligosacáridos y las cadenas laterales hidrofóbicas en el polímero tensioactivo es baja, es decir, aproximadamente 1:1, puede haber algunos grupos funcionales no reactivos, tales como por ejemplo grupos amina residuales, que están disponibles para unirse a proteínas de plasma. Preferiblemente, estos grupos funcionales no reactivos son bloqueados y tapados mediante la reacción adicional del polímero tensioactivo resultante con moléculas orgánicas que son pequeñas respecto a las cadenas laterales hidrofílicas antes de la aplicación del tensioactivo al biomaterial. Moléculas orgánicas pequeñas adecuadas son, a modo de ejemplo, glucosa, maltosa, y acetaldehído.

El polímero tensioactivo incluye una pluralidad de cadenas laterales de oligopéptidos hidrofílicos capaces de interactuar con receptores de proteínas específicos en la superficie de las células animales tales como, por ejemplo, células endoteliales. Las cadenas laterales de oligopéptidos actúan como ligandos para unir las células a la superficie del biomaterial. Las cadenas laterales de oligopéptidos comprenden entre aproximadamente 3 y 30 residuos de aminoácidos. Preferiblemente, el oligopéptido comprende la secuencia de aminoácido RGD, más preferiblemente TGDS, más preferiblemente RGDSP. Alternativamente, el oligopéptido comprende una de las siguientes secuencias de aminoácidos: (i) RRAR, (ii) RRRKRR, (iii) PRRRARVT, o (iv) PPREVVPRPRP. En una realización preferida, el oligopéptido comprende la secuencia GSSSGRGDSPX, donde X es alanina u otro residuo de aminoácido hidrofóbico. Los ligandos de oligopéptido están enlazados con la columna de homopolímero mediante un enlace de éster, un enlace de amina secundario, o un enlace de amida.

Los polímeros tensioactivos de tipo peine que comprenden cadenas laterales hidrofóbicas, cadenas laterales de oligopéptidos, y cadenas laterales de oligosacáridos que son útiles para el recubrimiento a modo de glicocálix sobre la superficie de un biomaterial. Estos recubrimientos a modo de glicocálix evitan la adhesión de las proteínas de plasma en la superficie recubierta del biomaterial comparado con la superficie hidrofóbica no recubierta del biomaterial. Estos recubrimientos promueven la adhesión de células seleccionadas, particularmente células endoteliales, a la superficie recubierta del biomaterial.

Los tensioactivos se usan para recubrir una o más superficies de un biomaterial hidrofóbico, incluyendo un material hidrofóbico flexible. Estos biomateriales se usan para hacer dispositivos médicos implantables tales como para válvulas cardíacas, endoprótesis, injertos vasculares y catéteres. Preferiblemente, el tensioactivo se usa para recubrir una superficie que estará en contacto con la sangre u otro fluido corporal del paciente después de la implantación del dispositivo en el paciente. El sustrato es cualquier material que demuestra biocompatibilidad y suficiente hidrofobia para unirse al tensioactivo, tal como, por ejemplo, grafito y polietileno. Otros biomateriales adecuados incluyen, por ejemplo: poliestireno, poliésteres, por ejemplo: Dacron®, carbono en carbono pirolítico; policarbonato; membranas de polímero, por ejemplo, acetato celulosa, poliacrilonitrilo; polímeros de fluorocarbono, por ejemplo Teflon®, Impra® y Gortex®; polisulfonas; cloruro de polivinilo; caucho de silicona por ejemplo, Silastic®; polímeros de silicona; polipropileno; y poliuretanos. Biomateriales adecuados también incluyen materiales no poliméricos, tales como, titanio, acero inoxidable, silicio, vidrio; y mezclas o compuestos de los mismos, que se han tratado de una manera que hace sus superficies hidrofóbicas. La selección del biomaterial depende de las propiedades mecánicas y funcionales requeridas para formar un dispositivo biomédico implantable.

Los polímeros tensioactivos de tipo peine de la presente invención, preferiblemente, son solubles en agua y se aplican fácilmente a la superficie del biomaterial. La aplicación se consigue sumergiendo el biomaterial en una solución, preferiblemente una solución acuosa, que comprende el polímero tensioactivo. El tensioactivo se fija espontáneamente a la superficie hidrofóbica del biomaterial polimérico para proporcionar una monocapa que altera las propiedades superficiales de la superficie hidrofóbica. La monocapa está unida al biomaterial a través de interacciones hidrofóbicas y puede soportar una tensión de cizalladura de 75 dinas/cm² tal como se determina usando un sistema de disco rotativo seguido por análisis superficial espectroscópico con infrarrojos. Después de la adsorción del tensioactivo en la superficie hidrofóbica, el tensioactivo se puede secar con aire y almacenarse en el estado seco.

Los siguientes ejemplos son para propósitos de ilustración solamente y no están pensados para limitar el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

5 Ejemplos comparativos

Los tensioactivos que comprenden una columna de poli(vinilo) enlazada mediante enlaces de amida con una pluralidad de cadenas laterales de oligosacáridos neutros y una pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas se prepararon como sigue:

Ejemplo comparativo 1

Poli(N-vinil dextrano aldonamida-co-N-vinil hexanoamida) (PNVDA-co-PNVH) (1:1.06)

A. Materiales y Procedimientos

Acetaldehído, formamida, ácido fórmico, ácido hexanoico, N-hidroxi succinimida y dicitlohexilcarbodiimida (DCCI) fueron adquiridos a Aldrich Chemical Co. y se usaron como se recibieron. Dimetil formamida (DMF) y dimetil sulfóxido (DMSO) fueron adquiridos a Aldrich Chemical Co. y se destilaron como nuevos antes de su uso. Resina de intercambio aniónica fuerte Amberlite IR-400 (Sigma Chemical Co.) se aclaró con agua destilada.

Se registraron espectros $^1\text{H-NMR}$ a temperatura ambiente, usando un espectrómetro 200 MHz Varian Gemini-200 o un 400 MHz Bruker MSL-400, en partes por millón a partir de tetrametilsilano (TMS) como estándar interno y DMSO- d_6 o D_2O como solvente. La transmisión de espectros IR en el rango de $400\text{--}0000\text{ cm}^{-1}$ se registró usando un espectrómetro Digilab FTIR. Los materiales se molieron con KBr y se prensaron en cuentas bajo una presión reducida. Para cada muestra, se recogieron 256 exploraciones con una resolución de 8 cm^{-1} . Se realizó cromatografía de permeación con gel (GPC) usando una columna HEMA-BIO100 GPC equipada con un sistema de suministro de solvente Rainin HPXL y un detector del índice de refracción DYNAMAX. La columna se calibró con dextranos con una distribución de peso molecular estrecha. El índice de flujo fue de $1,0\text{ mL/min.}$ con agua destilada como eluyente.

B. Síntesis del Polímero

Para obtener una poli(vinil amina) (PVAm), bien definida y libre de defectos, se utilizó como precursor poli(N-vinil formamida). Tal como se muestra en el esquema de la figura 1, la síntesis de PVAm implicó las siguientes cuatro etapas: (i) síntesis de etilideno bisformamida; (ii) pirólisis de etilideno bisformamida a N-vinil formamida y formamida; (iii) polimerización de N-vinil formamida a poli(N-vinil formamida) y (iv) hidrólisis de poli(N-vinil formamida) a PVAm, que se precipita como una sal PVAm-HCl y a continuación se desala mediante cromatografía de intercambio de iones. La ruta sintética a derivados de poli(N-vinil dextrano aldonamida-co-N-vinil hexanoamida) (PNVDA-co-PNVH), también se muestra en la Figura 1. El producto de cada etapa se confirmó mediante análisis espectroscópico para asegurar un producto final de PVAm bien definido.

En la primera etapa, se condensó acetaldehído con formamida bajo condiciones ácidas para generar etilideno bisformamida, que se purificó mediante recristalización. En la segunda etapa, etilideno bisformamida se pirolizó a N-vinil formamida y formamida. Estos dos compuestos son los dos líquidos a temperatura ambiente, con puntos de ebullición muy similares, pero la separación no es necesaria. Así, sin ninguna purificación adicional, la N-vinil formamida en la mezcla se polimerizó en solución isopropanol utilizando AIBN como iniciador. La poli(N-vinil formamida) es soluble en agua con un peso molecular promedio de ~ 10.000 tal como se determinó mediante GPC utilizando dextranos como estándares. En la última etapa, se hidrolizó poli(N-vinil formamida) a PVAm bajo condiciones básicas, y a continuación se precipitó en solución concentrada de HCl como PVAm-HCl. La hidrólisis se realizó bajo condiciones básicas, más que ácidas, para conseguir la conversión completa. Bajo condiciones ácidas, se formaron cargas positivas a lo largo de la cadena del polímero durante la hidrólisis, que continuación limitan análisis adicional de la formamida restante. Bajo condiciones básicas, no se crearon cargas durante la hidrólisis, y se puede realizar una conversión completa. No se observaron picos de amida en el espectro IR del PVAm-HCl, en su lugar, se produjeron picos muy fuertes de $-\text{NH}_3^+$, indicando una conversión completa de la poli(N-vinil formamida) a PVAm-HCl. Los detalles de la síntesis fueron como sigue:

i.) *Etilideno Bisformamida.* A una solución de 45 g (1,0 mol) de formamida y 50 g de ácido fórmico calentada a 40°C con un baño aceite, se añadió contra la gota acetaldehído (8,8 g, 0,2 mol). La mezcla de reacción se agitó a 85°C durante cuatro horas. El exceso de formamida y ácido fórmico se evaporó mediante destilación en vacío con la temperatura del baño por debajo de 120°C . El residuo amarillo-marrón se volvió a fluir en acetona (300 mL) y a continuación se enfrió a -70°C para precipita cristales blancos. Los cristales se filtraron y secaron bajo vacío a 70°C para dar 15,0 g (65%) de etilideno bisformamida, que también se purificó mediante recristalización a partir de una mezcla de isopropanol y hexano. IR (KBr): 3211 cm^{-1} ($\nu(\text{N-H})$), 2900 cm^{-1} , 3042 cm^{-1} ($\nu(\text{C-H})$ de CH_3 y CH), 1689 cm^{-1} (amida I), 1545 cm^{-1} (amida II). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , ppm): 1,24-1,31 (3H, $-\text{CH}_3$), 5,56-5,59 (1H, $\text{CH}_3\text{-CH-}$), 7,92-8,15 (2H, a partir de dos $-\text{CHO}$), 8,40-8,64 (2H, a partir de los $-\text{CONH-}$).

ii.) *N-Vinil Formamida*. Una mezcla de 6,96 g (60 mmol) de etilideno bisformamida y 2,0 g de carbonato de calcio se calentó a 210°C bajo vacío con un baño de nitrito de sodio. El producto pirolizado se destinó bajo vacío para proporcionar 5,80 g (91%) de un líquido ligeramente amarillo que consistía en una relación molar 1:1 de N-vinil formamida y formamida. ¹H-NMR (DMSO-D₆, ppm): 4,19-4,76 (2H, CH₂=CH-), 6,60-6,94 (1H, CH₂=CH-), 7,23-7,47 (2H, -NH₂), 7,84-8,09 (2H, HCO-), 10,02 (1H, -CONH-).

iii.) *Poli(N-vinil formamida)*. A 2,32 g de la mezcla de relación molar 1:1 de N-vinil formamida (20 mmol) y formamida (20 mmol), se añadieron 5 mL de isopropanol. La mezcla de reacción se purgó con argón y se congeló-descongeló tres veces utilizando nitrógeno líquido para eliminar el oxígeno. Se añadió a la solución de reacción 2, 2'-Azobisisobutironitrilo (AIBN, 32 mg, 0,12 mmol), que se volvió a fluir durante cuatro horas bajo argón. El isopropanol se retiró mediante evaporación en vacío rotativa. Los residuos se disolvieron en una pequeña cantidad de agua que se precipitó en acetona. El precipitado se filtró y se secó bajo vacío a 70°C de un día al otro para proporcionar 1,3 g (89%) de poli(N-vinil formamida). La medición GPC mostró que el peso molecular promedio era de ~10.000. IR (KBr): 1677 cm⁻¹ (amida I), 1538 cm⁻¹ (amida II). ¹H-NMR (D₂O, ppm): 1,57 (2H, -CH₂-), 3,79 (1H, -CH-), 7,90 (1H, HCO-).

iv.) *Poli(vinil amina)-hidrocloruro (PVAm-HCl)*. A una solución acuosa de 4 mL de 0,85 g (12 mmol) de poli(N-vinil formamida), se añadió una solución acuosa de 4 mL de NaOH (0,72 g, 18 mmol). La mezcla se agitó a 80°C durante seis horas bajo nitrógeno. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la solución se hizo ácida con HCl concentrado, para precipitar la sal PVAm-HCl. El precipitado se lavó con metanol a un pH neutro, y se secó bajo vacío para proporcionar 0,62 g (65%) PVAm-HCl. IR (KBr) -3420 cm⁻¹ (ν(N-H) de NH₂), ~3000 cm⁻¹ (pico de solapado ancho y fuerte de ν(N-H) de -NH₃⁺ y ν(C-H) de CH₂ y CH), 1606 y 1512 cm⁻¹ ((δ_{as}(N-H) y δ_s(N-H) de -NH₃⁺). No se observaron picos de amida. ¹H-NMR (D₂O, ppm): 2,16 (2H, -CH₂-), 3,74 (1H, -CH-).

Poli(vinil amina) (PVAm). Se obtuvo PVAm mediante el paso de la solución acuosa de PVAm-HCl a través de una fuerte columna de intercambio aniónica (Amberlite IR-400), seguida por la liofilización del eluato. IR (KBr): ~3300 cm⁻¹ (ν(N-H) de -NH₂), 2870 y 2930 cm⁻¹ (ν(C-H) de CH₂ y CH), 1591 cm⁻¹ (δ(N-H) de -NH₂). ¹H-NMR (D₂O, ppm): 1,22 (2H, -CH₂-), 2,85 (1H, -CH-). ¹H-NMR (DMSO-D₆, ppm): 1,18 (-CH₂-), 2,92(-CH-), 2,6 (-NH₂) (una pequeña cantidad de PVAm se puede disolver en DMSO-D₆ a 60°C), ¹H-NMR (DMSO-D₆ con una gota de D₂O, ppm): 1,20 (2H, -CH₂-), 2,88(1H, -CH-).

La PVAm es fácilmente soluble en agua y metanol. A partir del ¹H-NMR de PVAm en D₂O, la integración pico de -CH₂- y -CH- se ajustó con la estructura molecular predicha. El pico de resonancia de protones de -NH₂ no se observó para PVAm en D₂O, debido al rápido intercambio de protones entre -NH₂ y cualquier H₂O en D₂O. el pico de resonancia de protones de -NH₂ (2,6 ppm) se salvó cuando se utilizó el DMSO-D₆ secado de manera vigorosa como solvente. Sin embargo, después de añadir una gota de D₂O en la solución PVAm-DMSO-D₆, el pico desapareció. Los picos de protones de -CH₂- and -CH- son habituales debido a la pobre solubilidad de la PVAm en DMSO. Además, el pico de protones de la traza H₂O se cambia, probablemente debido a interacción entre el H₂O y DMSO.

C. Síntesis de N-Hexanoiloxi Succinimida

A una solución de 4,64 g (0,04 mol) de ácido hexanoico y 5,75 g (0,05 mol) de N-hidroxi succinimida en 100 mL de DMF destilado, se añadieron 10,3 g (0,05 mol) de DCCl. La mezcla se enfrió con un baño de hielo-agua y se agitó durante cinco horas. El precipitado de dicitohexil urea (DCU) se retiró mediante filtración, y el solvente DMF se retiró mediante evaporación rotativa en vacío. El residuo de aceite amarillo se lavó con agua y hexano para producir un sólido blanco, que se secó en vacío a 78°C para proporcionar 6,34 g (74%) de N-hexanoiloxi succinimida. IR (KBr): 1816 cm⁻¹ (ν(C=O) de éster), 1745-1786 cm⁻¹ (ν(C=O) de imida). ¹H-NMR (DMSO-d₆, ppm): 0,86 (3 H, -CH₃), 1,31 (4H, -(CH₂)₂CH₃), 1,62 (2H, -CH₂CH₂COO-), 2,64 (2H, -CH₂COO-), 2,80 (4H, -COCH₂CH₂CO-).

D. Síntesis de Dextrano Lactona

Se preparó dextrano lactona (M_w = 1600, M_w/M_n = 1.16, DP = 9) tal como se describe en Zhang, T.; Marchant, R. E. *Macromolecules* 1994, 27(25), 7302-7308, que se incorpora aquí específicamente por referencia.

E. Síntesis del polímero tensioactivo

Se preparó (PNVDA-co-PNVH) (1:1,06) mediante la reacción de grupos amino de PVAm con dextrano lactona y N-hexanoiloxi succinimida simultáneamente con una relación de alimentación molar de dextrano lactona al N-hexanoiloxi succinimida de 1:1. Específicamente, se añadieron 0,54 g (0,4 mmol) de dextrano lactona en 6 mL DMSO a una solución de 2 mL de metanol que contenía 34,2 mg de PVAm (0,8 mmol grupos amino) y 85,2 mg (0,4 mmol) de N-hexanoil succinimida. Después de citar durante cuatro horas a temperatura ambiente, la solución se calentó a 70°C con un baño de aceite y se agitó durante dos días. La solución del producto se concentró mediante destilación en vacío y se precipitó mediante la adición de acetona. El precipitado se filtró y se secó bajo vacío a 78°C de un día para el otro para proporcionar 0,53 g (producción del 81%) del producto en crudo. Éste se purificó mediante diálisis extensiva contra agua tal como se ha descrito previamente.

Ejemplo comparativo 2

Poli(N-vinil dextrano aldonamida-co-N-vinil hexanoamida) (PNVDA-co-PNVH) (1:3,7)

- 5 Se preparó tal como se ha descrito anteriormente en el ejemplo comparativo 1, excepto que la relación de alimentación molar de dextrano lactona a N-hexanoiloxi succinimida era de 1:2.

Ejemplo comparativo 3

10

Poli(N-vinil dextran aldonamida-co-N-vinil hexanoamida) (PNVDA-co-PNVH) (1:5)

- 15 Se preparó (PNVDA-co-PNVH) (1:5) tal como se describe anteriormente en el ejemplo comparativo 1, excepto que la relación de alimentación molar de dextrano lactona a N-hexanoiloxi succinimida era de 1:4.

Ejemplo comparativo 4

20

Poli(N-vinil dextrano aldonamida-co-N-vinil dodecanoamida) (PNVDA-co-PNVL) (1:1,5)

- 25 Se preparó (PNVDA-co-PNVL) (1:1,5) tal como se ha descrito anteriormente en el ejemplo comparativo 1, excepto que la PVAm reaccionó simultáneamente con dextrano lactona y N-lauroiloxi succinimida. La relación de alimentación molar de dextrano lactona a N-lauroiloxi succinimida y la de 1:2.

Ejemplo comparativo 5

30

Poli(N-vinil dextrano aldonamida-co-N-vinil dodecanoamida) (PNVDA-co-PNVL) (1:1,06)

- 35 Se preparó (PNVDA-co-PNVL) (1:1,06) tal como se describe anteriormente en el ejemplo comparativo 1, excepto que la PVAm reaccionó simultáneamente con dextrano lactona y N-lauroil succinimida. La relación de alimentación molar de dextrano lactona a N-lauroil succinimida era de 1:1.

Caracterización de los Polímeros Tensioactivos de los ejemplos comparativos 1-5

35

A. Espectroscopias FITR y ¹H-NMR

- 40 Los polímeros tensioactivos de los ejemplos comparativos 1-3 se caracterizaron por espectroscopias de transformada de Fourier infrarroja (FTIR) y ¹H-NMR y análisis fundamental para confirmar la pureza y la estructura. Los resultados fueron los siguientes:

- 45 IR: 3310 cm⁻¹ (ν (O-H)), 2930-2874 cm⁻¹ (ν (C-H) de CH₂ y CH), 1643 cm⁻¹ (amida I), 1547 cm⁻¹ (amida II), 1149-1032 cm⁻¹ (ν (C-O)). ¹H-NMR (DMSO-D₆, ppm): 0,85 (-CH₃ de grupos hexanoilo, CH₃(CH₂)₃CH₂CO-), 1,1-1,6 ((CH₂)₃ de CH₃(CH₂)₃CH₂CO- y -CH₂- de la columna de PVAm), 2,1 (CH₂ de CH₃(CH₂)₃CH₂CO-), 3,0-4,1 (-CH- de la columna de PVAm y todos los CH y CH₂ de dextrano excepto los de los enlaces glicosídicos), 4,1-5,3 (todos los OH y CH de dextrano en los enlaces glicosídicos), 7-8 (-NH- de enlaces de amida).

- 50 Los resultados IR demostraron cualitativamente la estructura de tipo peine de PNVDA-co-PNVH. El espectro ¹H-NMR de los tensioactivos purificados mostró picos de protones derivados de los grupos de PVAm, dextrano y hexanoilo, confirmando la composición esperada para los tensioactivos.

- 55 Las composiciones de los PNVDA-co-PNVHs preparados a partir de las tres relaciones de alimentación molar diferentes se estimaron, basadas en la integración de los protones de los espectros ¹H-NMR. Las composiciones medidas son, tal como se esperaba, interiores en los valores teóricos extremos calculados mediante asunción sindiotáctica. Los tensioactivos de polímero con equilibrios variados hidrofílicos/hidrofóbicos se designaron como PNVDA-co-PNVH (1:1), PNVDA-co-PNVH (1:3,7), y PNVDA-co-PNVH (1:5). PNVDA-co-PNVH (1:1) y PNVDA-co-PNVH (1:3,7) son solubles en agua, DMF y DMSO, mientras que PNVDA-co-PNVH (1:5) no es fácilmente soluble en agua, pero es soluble en DMSO. Sin embargo, el PNVDA-co-PNVH (1:5) se vuelve parcialmente soluble en agua con sonicación vigorosa (1,5 h). Se puede preparar una solución opaca con baja concentración (~1 mg/ml).

- 60 Se prepararon tensioactivos que comprenden una columna de poli(vinilo) unida por uniones de amina secundarias a una pluralidad de cadenas laterales de péptido y una pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas mediante la reacción simultánea de PVAm con diferentes relaciones molares de alquil aldehídos y con péptidos unidos a una molécula espaciadora que tiene un aldehído reactivo en el extremo libre de la misma. Una molécula espaciadora adecuada es una molécula dialdehído glutárico que reacciona con el extremo una de amina libre del péptido y el grupo amino del polímero. Otras moléculas separadoras adecuadas incluyen espaciador poli(etileno óxido) (PEO) dialdehído u otra molécula bifuncional similar. El propio péptido se sintetiza para tener un grupo extremo carboxil libre o un extremo que está completo.

ES 2 330 694 T3

La síntesis del polímero tensioactivo poli(vinil amina) (PVAm) requiere dos etapas: (1) modificar el péptido para crear un grupo aldehído terminal; y (2) simultáneamente acoplar el péptido modificado y un alquil aldehído a la columna del polímero usando una reacción de base Schiff estándar con reducción a una amina secundaria. En una realización preferida, el polímero tensioactivo comprende dos tipos diferentes de cadenas laterales hidrofílicas, siendo uno un péptido y siendo el otro un oligosacárido. Para dichos polímeros tensioactivos, la cantidad molar de péptido y sacárido puede ser variada, pero la cantidad molar total de grupos hidrofílicos debe resultar en una relación 1:0,5 a 1:2 con hexanal, por razones de solubilidad.

10 Ejemplo 1

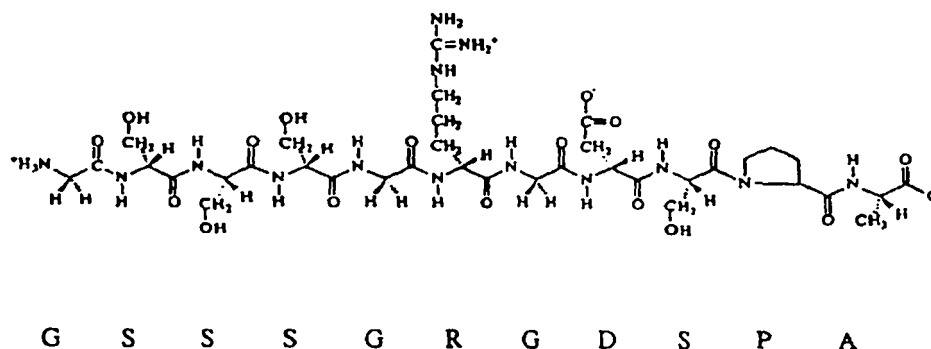
Poli(N-vinil-5-peptidil-pentilamina-co-N-vinil hexil amina (PVAm(Pep:Hex) (1:1,75)

15 A. Materiales

Todos los solventes (grado de síntesis N,N-dimetil formamida (DMF), diclorometano, 20% piperidina/DMF, y DIPEA), resinas, y activador fueron comprados en Perseptive Biosystems. Los aminoácidos Fmoc protegidos se obtuvieron de AnaSpec. Los fagocitos (fenol, 1,2-etaneditiol, triisopropilsilano), cianoborohidruro de sodio (NaCNBH₃) y hexanal (Aldrich) se utilizaron como se recibieron. Se suministró agua ultrapura de un sistema Millipore-RO, con contenido de hidrocarburos < 5ppb. Se preparó poli(vinil amina) como se describió en el ejemplo comparativo 1. Todos los otros reactivos se utilizaron como se recibieron a menos que se estipulara de otra forma.

25 B. Síntesis del Péptido

El péptido inicial se sintetizó con un sintetizador de péptido de fase sólida (SPPS), utilizando solventes comunes, resinas de empaquetado y aminoácidos cubiertos. Este péptido es una molécula de once aminoácidos que tiene la siguiente secuencia:



El péptido se purificó entonces mediante cromatografía líquida de alto rendimiento de escala preparatoria (HPLC) y se caracterizó para la composición mediante espectroscopia de masa y HPLC. Un rendimiento promedio por lote es aproximadamente de 60-80 mg de producto puro (>98%). El producto se almacenó entonces en un congelador a -20°C para minimizar la absorción de humedad.

50 C. Modificación del Péptido

En un matraz de fondo pequeño, 25,6 mg (0,256 mmol) glutaraldehído y 3,2 mg (0,0512 mmol) NaCNBH₃ se disolvieron en 3 mL de agua ultrapura. Una solución de 50 mg (0,0512 mmol) de péptido puro en 1 mL agua ultrapura se añadió en forma de gotas. El pH de la solución se ajustó a 6 usando HCl, y el matraz se selló y se dejó agitar a temperatura ambiente durante 4 horas. El péptido se purificó del exceso de glutaraldehído mediante diálisis extensiva contra agua pura utilizando membrana de celulosa regenerada Spectra Pro 3 con 500 de corte de peso molecular.

55 D. Síntesis del Polímero Tensioactivo

Para preparar PVAm(PEP:HEX)(1:1,75), 25,4 mg (0,024 mmol) de péptido modificado se disolvieron en 0,20 mL agua ultrapura. (El agua debe ser menos del 10% del volumen de solución final para precipitar la muestra en acetona). Para esta mezcla, se añadieron 3,6 mg (0,036 mmol) de hexanal y 3,75 mg (0,06 mmol) de NaCNBH₃ en 2,0 mL etanol. Finalmente, se añadieron 2,565 mg (0,06 mmol) de PVAm en 2 mL etanol al matraz de reacción en forma de gotas. El pH de la solución se ajustó a 6 usando HCl, y la solución se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. La solución se precipitó en 100 mL de acetona y se secó a temperatura ambiente bajo vacío durante la noche. El producto en crudo se purificó adicionalmente mediante diálisis contra agua ultrapura utilizando membranas de celulosa regenerada Spectra Pro 3 con 3500 de peso molecular de corte. La muestra purificada se liofilizó entonces para obtener el producto tensioactivo final. En general, polímeros tensioactivos péptidos con relaciones de péptido a hexanal entre (1:0,5) y (1:2) serían el rango deseable.

Ejemplo 2

Poli(N-vinil-5-peptidil-pentilamina-co-N-vinildextranaldonamina-co-N-vinil hexil amina (PVAm(Pep:Dex:Hex))

- 5 Un polímero tensioactivo comprende una pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas, una pluralidad de cadenas laterales de oligosacárido, y una pluralidad de cadenas de péptido se prepararon mediante la reacción del péptido modificado y, dextrano lactona, y hexanal simultáneamente con el PVAm como se describió anteriormente en el ejemplo 1. Las relaciones molares del péptido, dextrano lactona, y hexanal fueron 1:1:3.

10

Ejemplo 3

Poli(N-vinil-5-peptidil-pentilamina-co-N-vinildextranaldonamina-co-N-vinil hexil amina (PVAm(Pep:Dex:Hex))

- 15 Un polímero tensioactivo que comprende cadenas laterales hidrofóbicas, cadenas laterales de péptido, y cadenas laterales de oligosacárido se preparó mediante la reacción del péptido modificado, maltolactona, y hexanal simultáneamente con el PVAm como se describió anteriormente en el ejemplo 1.

20

Las relaciones de alimentación molares del péptido, dextrano lactona, y hexanal fueron 3:1:6.

Caracterización de los polímeros tensioactivos de los Ejemplos 1-3

A. Espectroscopias FITR y ¹H-NMR

25

La pureza de los polímeros tensioactivos péptidos después de la diálisis se verificó utilizando espectroscopia IR, que mostró que no había ningún pico de aldehído residual (a 1740 cm⁻¹) presente en el espectro. La relación final péptido-a-hexanal se determinó utilizando espectroscopia ¹H-NMR. Esto se realizó tomando las integrales de los picos de protones que corresponden a cada ligando y calculando el valor final.

30

B. Alteración de las Propiedades de la Superficie de los Materiales Revestidos con los polímeros tensioactivos de los Ejemplos 1-3

- 35 Los polímeros tensioactivos se mostraron activos en superficie sobre materiales hidrofóbicos, tales como vidrio derivado de octadeciltriclorosilano (OTS). El tensioactivo se disolvió primero en una mezcla de agua/acetonitrilo, luego el vidrio OTS se sumergió en la solución para una absorción de 24 horas. La muestra se extrajo, se secó durante la noche y se tomaron mediciones de los ángulos de contacto con el agua. Típicamente, el ángulo de contacto con el agua cayó desde 110 grados a 20-30 grados, indicando la absorción exitosa del tensioactivo a la superficie. El OTS revestido de tensioactivo se colocó entonces en una cámara de flujo bajo donde el agua está fluyendo constantemente sobre la muestra durante 24 horas. Este procedimiento prueba la estabilidad de la adhesión del tensioactivo sobre la superficie OTS hidrofóbica. Después de secar la muestra se tomaron otra vez las mediciones del ángulo de contacto. Típicamente, el ángulo de contacto del agua aumenta solamente unos 10 grados, a aproximadamente 30-40 grados, indicando que el tensioactivo permanece firmemente unido a la superficie hidrofóbica.

45

- Las superficies con tensioactivos de polímeros de péptido adsorbidos se muestran que promueven el crecimiento y la proliferación de células endoteliales. Las células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) en tampón HEPES se añadieron a contenedores que tienen muestras de OTS recubiertas con el polímero tensioactivo de los ejemplos 1-3. Se tomaron imágenes de contraste de fase y microscópicas fluorescentes después de 3, 24 y 72 horas de tiempo de incubación. Los resultados en 72 horas para las imágenes de contraste de fase se muestran en la figura 2. Indicar que la OTS recubierta de fibronectina sirve como control positivo para crecimiento y proliferación de HUVEC. No se observó ningún crecimiento celular sobre las superficies recubiertas con el polímero tensioactivo del ejemplo comparativo 2 o tensioactivos lineales de maltosa, tal como se muestra mediante el microscopio de contraste de fase. Este resultado sirve como una demostración que el polímero tensioactivo preparado como los ejemplos comparativos, con una columna de poli(vinilo) enlazada mediante enlaces de amida a una pluralidad de cadenas laterales oligosacáridos neutros y una pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas, evitan la adhesión de proteínas y células. Sin embargo, para las superficies recubiertas del péptido tensioactivo, el crecimiento celular era similar al de la fibronectina. El crecimiento celular también se cuantificó usando tinte fluorescente para las fibras de actina y puntos de adhesión focal en la superficie. Tal como se muestra en la figura 2, con los polímeros tensioactivos de péptido crecieron células sanas con largas fibras de tensión de actina y muchos puntos de adhesión focal. Como la relación entre péptido y dextrano disminuyó, la viabilidad celular también disminuyó. Estos resultados indican que los polímeros tensioactivos de péptido tienen una estructura bien definida, que se adsorben de manera estable en las superficies hidrofóbicas, y promueven el crecimiento y la proliferación celular.

65

Referencias citadas en la descripción

Esta lista de referencias citadas por el solicitante está prevista únicamente para ayudar al lector y no forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha puesto el máximo cuidado en su realización, no se pueden excluir errores u omisiones y la OEP declina cualquier responsabilidad en este respecto.

Documentos no procedentes de patentes citados en la descripción

- **Zhang, T.; Marchant, R. E.** *Macromolecules*, 1994, vol. 27 (25), 7302-7308 [0032]

REIVINDICACIONES

1. Polímero tensioactivo de tipo peine, que comprende:

a) una columna polimérica de unidades monoméricas repetidas;

b) una pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas que comprenden entre 2 y 18 grupos de metileno, estando dicha pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas enlazadas con dicha columna polimérica mediante enlaces de éster, enlaces de amina secundarios, enlaces de amida, o combinaciones de los mismos; y

c) una pluralidad de cadenas laterales hidrofílicas enlazadas con dicha columna polimérica mediante enlaces de éster, enlaces de amina secundarios, enlaces de amida, o combinaciones de los mismos, comprendiendo dichas cadenas laterales hidrofílicas un oligopéptido de entre 3 y 30 residuos de aminoácidos, teniendo dicho oligopéptido una secuencia de aminoácido que interactúa con receptores de proteínas en la superficie de las células.

2. Polímero tensioactivo según la reivindicación 1, en el que dicha columna polimérica es una poli (vinil amina) derivatizada, o un poli (vinil alcohol) derivatizado o una polilisina derivatizada.

3. Polímero tensioactivo según la reivindicación 1, en el que dicha columna polimérica está enlazada con dicha pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas mediante enlaces de amida;

y en el que dicha columna polimérica está enlazada con dicha pluralidad de cadenas laterales hidrofílicas mediante enlaces de amida.

4. Polímero tensioactivo según la reivindicación 1, en el que dicha columna polimérica está enlazada con dicha pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas mediante enlaces de amina secundarios; y

en el que dicha columna polimérica está enlazada con una pluralidad de dichas cadenas laterales de oligopéptidos mediante enlaces de amina secundarios.

5. Polímero tensioactivo según la reivindicación 1, que también comprende una segunda pluralidad de cadenas laterales hidrofílicas seleccionadas entre cadenas laterales de oligosacáridos neutros que tienen un peso molecular promedio menor de 7.000, cadenas de oligosacáridos cargadas que tienen un peso molecular promedio menor de 10.000, y combinaciones de las mismas.

6. Polímero tensioactivo según la reivindicación 1, en el que dichas cadenas laterales de oligopéptidos comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: RGD, RRAR, RRRKRR, PRRARVT, y PPREVVPRPRP.

7. Polímero tensioactivo según la reivindicación 1, en el que la relación entre las cadenas laterales hidrofílicas y las cadenas laterales hidrofóbicas es entre 3:1 y 1:6.

8. Procedimiento para promover la adhesión de células animales a una superficie de biomaterial hidrofóbico que comprende proporcionar un polímero según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y fijarlo a la superficie de dicho material.

9. Procedimiento según la reivindicación 8, que es para hacer dicho material hidrofóbico más susceptible a la fijación de células endoteliales, en el que en dicho polímero tensioactivo de tipo peine,

(a) dicha pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas están enlazadas con dicha columna polimérica mediante enlaces de amina secundarios, enlaces de amida; o combinaciones de los mismos; y

(b) dicha pluralidad de cadenas laterales hidrofílicas están enlazadas con dicha columna polimérica mediante enlaces de amina secundarios, y dicho oligopéptido tiene una secuencia de aminoácidos que interactúa con receptores de proteínas sobre la superficie de las células endoteliales.

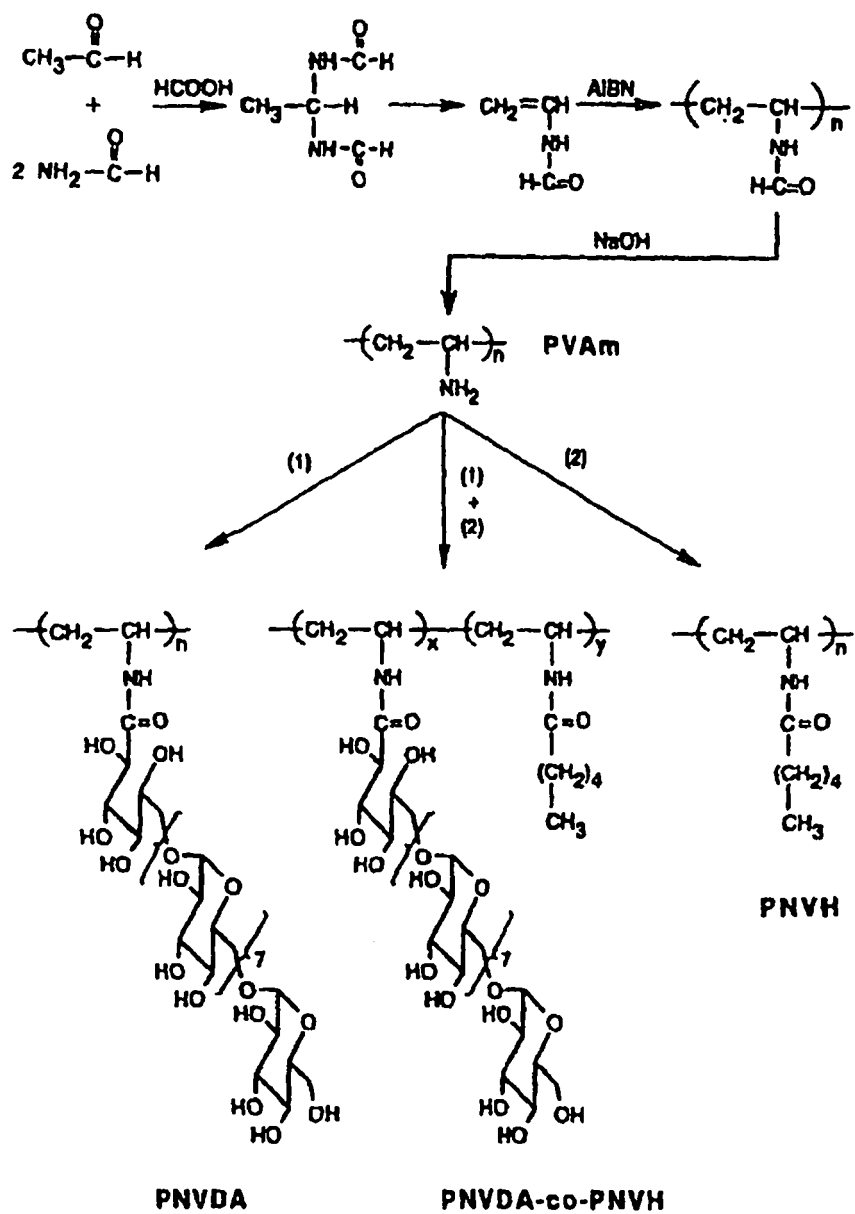


Fig. 1

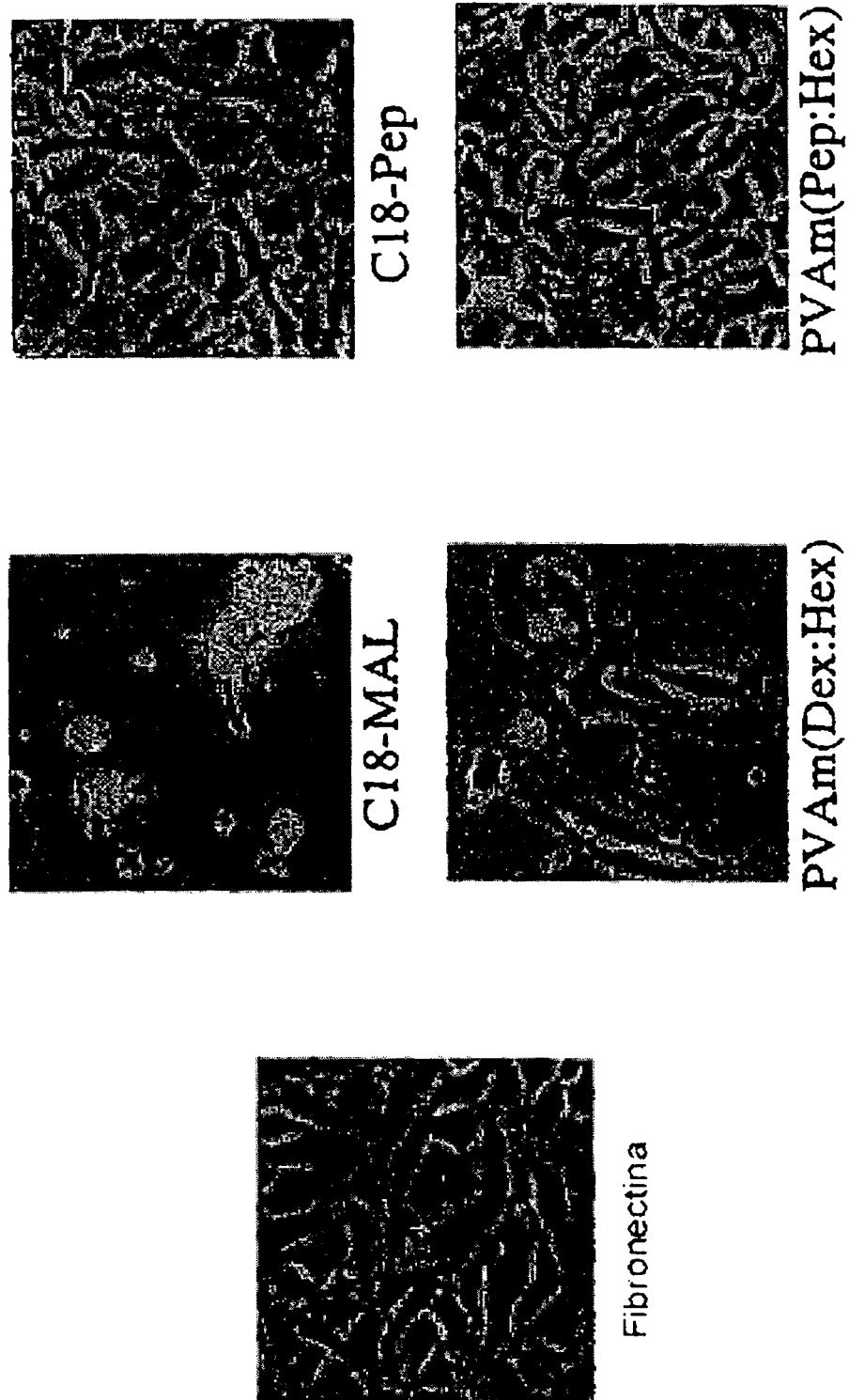


Fig. 2